

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 7

Issue 4

Különszám

Gödöllő
2011



C-VITAMIN, VALAMINT E-VITAMIN ÉS SZELÉN ADAGOLÁSÁNAK HATÁSA LUDAK GLUTATION REDOX RENDSZERÉRE ÉS LIPIDPEROXIDÁCIÓS FOLYAMATAIRA

Balogh Krisztián^{1,3}, Weber Mária², Molnár Anikó, Mézes Miklós³

¹MTA-Kaposvári Egyetem Állattenyésztési és Állathigiéniái Kutatócsoport

²Szent István Egyetem, Állattenyésztés-tudományi Intézet, Állatnemesítési, Sertés-, Baromfi- és
Hobbyállattenyésztési Tanszék

³Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Állattudományi Alapok Intézet,
Takarmányozástani Tanszék

¹7400 Kaposvár, Guba Sándor u. 40.

^{2,3}2103 Gödöllő, Páter Károly út 1.

Balogh.Krisztian@mkk.szie.hu

Összefoglalás

Kísérletünk során C-vitamin, valamint E-vitamin és szelén külön, illetve együttes adagolásának hatását vizsgáltuk ludakban. Célunk annak felmérése volt, hogy 2 hetes antioxidáns kiegészítés a tolltépést, mint stresszort követően miként befolyásolja az állatok lipidperoxidációs folyamatait és a glutation redox rendszer állapotát. A kísérletbe 56 Anabest G hibrid ludat állítottunk be a 70. életnapon, amelyeket 4 csoportban helyeztünk el. A kontroll csoport nem részesült antioxidáns kiegészítésben. Az I. kísérleti csoport C-vitamint kapott az ivóvízben feloldva 0,5 mg/állat/nap dózisban, a II. kísérleti csoport E-vitamin (10 mg/állat/nap) + szelén (0,1 mg/állat/nap) kiegészítésben részesült (Vitasol E[®]) az állatok ivóvizébe adagolva. A III. kísérleti csoport az I. és II. kísérleti csoportnál alkalmazott kiegészítésben részesült. A kísérlet során 3 tépésre került sor; a tépések után két héttel, az antioxidáns-adagolás befejeztével vérmintát vettünk csoportonként véletlenszerűen kiválasztott 5-5 állatból. A kísérlet befejeztével, a vágás alkalmával minden csoportból véletlenszerűen kiválasztott 5-5 állat került vizsgálatra, melyekből vér, illetve *post mortem* májmintát vettünk. A biokémiai analízisek során meghatároztuk a malondialdehyd- (MDA), redukált glutation- (GSH), fehérje- és aszkorbinsav koncentrációt, valamint a glutation-peroxidáz (GSHPx) aktivitását. Az eredmények alapján megállapítható, hogy az alkalmazott antioxidáns vegyületek ivóvízben történő adagolása kedvezően befolyásolta a ludak antioxidáns védelmi rendszerét, amelynek következtében a szervezetükben zajló



lipidperoxidációs folyamatok intenzitása is változott. Legjelentősebb változások a vörösvérsejt hemolizátumban jelentkeztek, ahol az E-vitamin + szelén adagolása növelte a GSH koncentrációt és a GSHPx aktivitását a kontrollhoz képest. Mindezek a változások azt eredményezték, hogy a kezelések hatására a vörösvérsejt hemolizátumban a lipidperoxidációs folyamatok intenzitását jelző MDA koncentráció kedvezőbb (szignifikánsan alacsonyabb) értéket mutatott, mint a kontroll.

Kulcsszavak: antioxidáns kiegészítés, lúd, glutation redox rendszer, lipidperoxidáció

Effect of ascorbic acid, and vitamin E and selenium supplementation on the glutathion redox system and the lipidperoxidation processes of geese

Abstract

In our experiment the effect of ascorbic acid and vitamin E + selenium supplementation was investigated in geese. The aim of this study was to evaluate the effect of two-weeks antioxidant supplementation after plucking, as a stressor on the lipidperoxidation processes and on the glutathione redox status. A total of 56 Anabest G hybrid geese were set on the experiment at 70 days of age, and were divided into 4 groups. The control did not receive antioxidant supplementation. Experimental group I. received vitamin C supplementation dissolved in the drinking water in 0.5 mg/animal/day dose. Experimental group II. received vitamin E (10 mg/animal/day) + selenium (0.1 mg/animal/day) supplementation (Vitasol E[®]) dissolved in the drinking water. Experimental group III. received antioxidant supplementation in the drinking water at the same dose as mentioned above. During the experiment 3 pluckings were done. Two weeks after each plucking, and at the end of the antioxidant supplementation blood samples were taken from randomly selected 5-5 animals/groups. At the end of the experiment, randomly selected 5-5 animals/groups were slaughtered, from which blood and *post mortem* liver samples were taken. During the biochemical analysis malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), total protein and ascorbic acid concentration, and glutathione-peroxidase (GSHPx) activity were determined. According to the results it can be stated, that the supplementation of the applied antioxidants in the drinking water had desirable effect on the antioxidant defence system of geese, which caused alterations in the lipidperoxidation processes in their bodies. The most considerable changes were found in red blood cell haemolysates, where the vitamin E + selenium supplementation increased the GSH concentration and the GSHPx activity as compared to the control. All these changes resulted that due to the treatments in red blood cell haemolysates the malondialdehyde concentration, which shows the intensity of lipidperoxidation processes, showed preferable (significantly lower) value than the control.

Key words: antioxidant supplementation, goose, glutathione redox system, lipidperoxidation



Irodalmi áttekintés

A kis molekulatömegű antioxidáns vegyületek (így a vízoldékony C- és a lipofil karakterű E-vitamin) igen jelentős szerepet töltenek be a szervezet biológiai antioxidáns védelmi rendszerében, miután több igen reaktív szabad gyök eliminálása (pl. hidroxil- vagy alkil-peroxil gyök) enzimatis úton – azok igen rövid biológiai felezési- és reakcióideje ($<10^{-9}$ sec) következtében – nem megoldható (Mézes et al., 2003). A C- és E-vitamin gyökfogó (scavenger) volta régóta ismert (Brown és Jones, 1996), valamint az a tény, hogy a C-vitamin szinergista kölcsönhatást mutat az E-vitaminnal, azáltal, hogy regenerálja (redukálja) a tokoferil-gyököt (Davies et al., 1988). A szelénfüggő glutation-peroxidázok aktív centrumát alkotó szelén (Rotruck et al., 1973) és az E-vitamin szinergista kölcsönhatásáról Schwarz és Foltz (1957) számoltak be, akik sikeresen alkalmazták ezt az esszenciális mikroelemet E-vitamin hiányos patkányok májnekrozisának megszüntetésére.

Ismert továbbá, hogy több stressztényező, így pl. a hőstressz (Kutlu és Forbes, 1993), különböző betegségek, számos nehézfém és mikotoxin fokozza a szervezetben a szabad gyökök képződésével járó folyamatok intenzitását, melyek megfelelő antioxidáns védelem hiányában a lipidek oxidációját eredményezik.

Kísérletünk során C-vitamin, valamint E-vitamin és szelén külön, illetve együttes adagolásának hatását vizsgáltuk ludakban. Célunk annak felmérése volt, hogy 2 hetes antioxidáns kiegészítés a tolltépést, mint stresszort követően miként befolyásolja az állatok lipidperoxidációs folyamatait és a glutation redox rendszer állapotát.

Anyag és módszer

A kísérletbe 56 Anabest G hibrid ludat állítottunk be a 70. életnapon, amelyeket 4 csoportban helyeztünk el. A kontroll csoport nem részesült antioxidáns kiegészítésben. Az I. kísérleti csoport (C) C-vitamint kapott az ivóvízben feloldva 0,5 mg/állat/nap dózisban, a II. kísérleti csoport (E) E-vitamin (10 mg/állat/nap) + szelén (0,1 mg/állat/nap) kiegészítésben részesült (Vitasol E[®]) az állatok ivóvizébe adagolva. A III. kísérleti csoport (EC) az I. és II. kísérleti csoportnál alkalmazott kiegészítésben részesült. A kísérlet során 3 tépésre került sor; a tépések után két héttel, az antioxidáns-adagolás befejeztével vérmintát vettünk csoportonként véletlenszerűen kiválasztott 5-5 állatból. A kísérlet befejeztével, a vágás alkalmával minden csoportból véletlenszerűen kiválasztott 5-5 állat került vizsgálatra, melyekből vér, illetve *post mortem* májmintát vettünk.



A biokémiai analízisek során a vér- és májminták esetében a korábban leírtak szerint (Weber et al., 2006) meghatároztuk a malondialdehid- (MDA), redukált glutation- (GSH), fehérje- és aszkorbinsav koncentrációt, valamint a glutation-peroxidáz (GSHPx) aktivitását.

Eredmények és értékelés

A vérplazma GSH koncentrációjában sem az első, sem pedig a 3. tétést követő mintavétel alkalmával nyert mintákban nem mutatkozott statisztikailag igazolható különbség. A 2. tétést követő mintavételi időpontban azonban a különböző vitaminadagolásban részesült csoportok vérplazmájának GSH koncentrációja (C: $3,58 \pm 0,71$; E: $3,46 \pm 0,46$; EC: $3,58 \pm 0,36$ $\mu\text{mol/g}$ feh.) szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) elmaradt a kontroll csoportban mért értéktől ($5,98 \pm 3,29$ $\mu\text{mol/g}$ feh.).

A kezelések hatására a vérplazma GSHPx aktivitása egyik mintavételi időpontban sem mutatkozott statisztikailag igazolható eltérés.

A vérplazma MDA koncentrációjában – hasonlóan a GSH koncentráció esetén tapasztaltakhoz – sem az első, sem pedig a 3. tétést követő mintavétel alkalmával nyert mintákban nem mutatkozott statisztikailag igazolható különbség. A 2. tétést követő mintavételi időpontban azonban a II. kísérleti csoport (E) csoport vérplazmájának MDA koncentrációja ($12,43 \pm 7,32$ nmol/ml) szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) meghaladta mind a kontroll ($6,89 \pm 1,44$ nmol/ml), mind pedig az I. kísérleti csoport (C) értékeit ($6,18 \pm 1,70$ nmol/ml).

A vérplazma C-vitamin koncentrációját vizsgálva az egyes csoportok között csak a 2. tétést követő mintavétel alkalmával vett minták esetében jelentkezett statisztikailag is igazolható ($p < 0,05$) különbség a II. kísérleti csoport (E) ($8,08 \pm 0,65$ $\mu\text{g/ml}$) és a III. kísérleti csoport (EC) ($11,78 \pm 2,65$ $\mu\text{g/ml}$) között.

A vörösvérsejt hemolizátum GSH koncentrációjában az első tétést követő mintavétel alkalmával tapasztaltunk statisztikailag igazolható eltérést, amikor a III. kísérleti csoport (EC) ($7,07 \pm 0,36$ $\mu\text{mol/g}$ feh.) szignifikáns mértékben ($p < 0,01$) meghaladta a kontroll csoportban mért értéket ($5,59 \pm 0,71$ $\mu\text{mol/g}$ feh.), valamint a másik két kísérleti csoport értékeit (C: $5,91 \pm 0,72$ $\mu\text{mol/g}$ feh.; E: $5,89 \pm 0,94$ $\mu\text{mol/g}$ feh.; $p < 0,05$). A 2. és 3. tétést követő mintavétel során nem mutatkozott szignifikáns eltérés a csoportok között.

A vörösvérsejt hemolizátum GSHPx aktivitásában az első és 2. tétést követő mintavételi időpontokban vett minták között nem volt statisztikailag igazolható eltérés. A 3. tétést követő mintavételi időpontban ugyanakkor a II. kísérleti csoportban (E) mért enzimaktivitás szignifikáns mértékben ($p < 0,001$) meghaladta mind a kontroll, mind pedig a másik két kísérleti csoport értékeit (1. táblázat).

Az egyes csoportok vörösvérsejt hemolizátumának MDA koncentrációja között az első és 2. tétést követő mintavétel során vett minták esetében nem mutatkozott statisztikailag igazolható különbség, ugyanakkor a 3. tétést követő mintavételi időpontban a lipidperoxidációs folyamatok intenzitását jelző MDA koncentráció a II. kísérleti csoport (E) esetében szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) elmaradt a kontroll csoportban mért értéktől (1. táblázat).

1. táblázat: Az ivóvízben adagolt antioxidáns kiegészítések hatása ludak vérének és májának redukált glutation (GSH) és malondialdehid (MDA) koncentrációjára, valamint glutation-peroxidáz (GSHPx) aktivitására a 3. tétést követő mintavétel alkalmával

	Kontroll (1)	I. kísérleti csoport (C) (2)	II. kísérleti csoport (E) (3)	III. kísérleti csoport (EC)(4)
Vérplazma (5)				
GSH (umol/g feh.)	3,50±0,50	3,62±0,53	3,63±0,51	3,36±0,59
GSHPx (E/g feh.)	4,90±1,63	5,26±0,81	5,56±0,68	4,93±0,74
MDA (nmol/g)	6,82±2,25	5,61±0,89	6,20±1,41	6,68±1,80
Vörösvérsejt hemolizátum (6)				
GSH (umol/g feh.)	6,66b±0,29	7,17ab±2,35	9,32a±3,00	8,09ab±1,00
GSHPx (E/g feh.)	8,60b±3,20	7,96b±0,27	14,03a±,0,86	8,26b±1,55
MDA (nmol/g)	8,01a±1,33	7,88ab±0,81	6,74b±0,96	7,42ab ±0,42
Máj homogenizátum (7)				
GSH (umol/g feh.)	2,83a±0,83	2,24ab±0,49	1,40c±0,26	1,79b±0,65
GSHPx (E/g feh.)	3,28a±0,83	2,76a±0,56	1,58b±0,56	1,72b±0,55
MDA (nmol/g)	23,54a±12,50	23,46a±6,74	18,67ab±5,22	10,72b±3,33

Table 1. Effect of antioxidant supplementation dissolved in drinking water on reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) concentration and glutathione-peroxidase activity (GSHPx) of blood and liver of geese after the 3rd plucking

(1)control, (2)Experimental group I. (C), (3)Experimental group II. (E), (4)Experimental group III. (EC), (5)blood plasma, (6)red blood cell haemolysate, (7)liver homogenate

A kísérlet végén, a 3. tétést követő mintavételi időpontban a II. és III. kísérleti csoport (E és CE) májának GSH koncentrációja és GSHPx aktivitása statisztikailag is igazolható mértékben elmaradtak a kontroll, valamint – a GSHPx aktivitás esetében – az I. kísérleti csoportban (C) mért értéktől (1. táblázat). A lipidperoxidációs folyamatok intenzitását jelző MDA koncentráció a májban a III. kísérleti



csoport (EC) esetében mutatkozott a legkedvezőbbnek, mely szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) elmarad a kontroll és az I. kísérleti csoportban mért értékektől (1. táblázat).

Következtetések és javaslatok

A kísérlet eredményei alapján megállapítható, hogy az alkalmazott antioxidáns vegyületek ivóvízben történő adagolása kedvezően befolyásolta a ludak antioxidáns védelmi rendszerét, amelynek következtében a szervezetükben zajló lipidperoxidációs folyamatok intenzitása is változott. Legjelentősebb változások a vörösvérsejt hemolizátumban jelentkeztek, ahol az E-vitamin + szelén adagolása növelte a GSH koncentrációt és a GSHPx aktivitását a kontrollhoz képest. Mindezek a változások azt eredményezték, hogy a kezelések hatására a vörösvérsejt hemolizátumban a lipidperoxidációs folyamatok intenzitását jelző MDA koncentráció kedvezőbb (szignifikánsan alacsonyabb) értéket mutatott, mint a kontroll.

A májszövet esetében is az E-vitamin + szelén kiegészítés hatására – különösen, ha az még C-vitamin adagolásával is társult – tapasztaltunk a kontroll csoporttól jelentős mértékben alacsonyabb értéket a malondialdehid koncentrációban.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a kísérlet során a madarak ivóvizében oldott aszkorbinsav az alkalmazott dózisban nem idézett elő a korábban Brown és Jones (1996) által is leírt prooxidáns hatást, – illetve az esetleges ilyen irányú hatást a biológiai antioxidáns védelmi rendszer hatékonyan gátolta – melyre mindhárom vizsgált szövet esetében a kontroll csoport értékét nem meghaladó malondialdehid koncentráció utal.

Irodalomjegyzék

- Brown, L.A.S., Jones, D.P. (1996): The biology of ascorbic acid. In: Cadenas, E., Packer, L. (eds.): Handbook of antioxidants. Marcel Dekker, New York, pp. 117-156.
- Davies, M.J., Forni, L.G., Willson, R.L. (1988): Vitamine E analogue Trolox C. ESR and pulse radiolysis studies of free radical reactions. Biochem. J. 255: 513.
- Kutlu, H.R., Forbes, J.M. (1993): Changes in growth and blood parameters in heat-stressed broiler chicks in response to dietary ascorbic-acid. Livestock Prod. Sci. 36: 335-350.
- Mézes, M., Erdélyi, M., Shaaban, G., Virág, Gy., Balogh, K., Weber, M. (2003): Genetics of glutathione peroxidase. Acta Biol. Szegediensis 47: 135-138.
- Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G., Hoekstra, W.G. (1973): Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. Science 179: 588-590.



Schwarz, K., Foltz, C.M. (1957): Selenium as an integral part of factor 3 against dietary liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 3292-3293.

Weber, M., Balogh, K., Erdélyi, M., Mézes, M. (2006): Effect of T-2 toxin in combination with Vitamin E, selenium and mycotoxin binder on lipid peroxide status and glutathione redox system in broiler chicken. *J. Poultry Sci.* 43: 222-227.