

UTICAJ VISOKIH NIVOVA ORGANSKI VEZANOG SELENA U HRANI NA AKTIVNOST GLUTATION-PEROKSIDAZE (GSH-P_x) U KRVNOJ PLAZMI BROJLERA*
EFFECT OF HIGH LEVELS OF ORGANIC SELENIUM ON GLUTATION-PEROXIDASE (GSH-P_x) ACTIVITY IN BLOOD PLASMA OF BROILERS

Mirjana Joksimović-Todorović, Ž. Jokić, Z. Sinovec**

Ogled je izveden na 125 hibro brojlera podeljenih u pet grupa. Ogled je trajao 42 dana. Sve smeše za ishranu brojlera u ogledu sadržavale su 0,15 mg Se/kg, u formi natrijum selenita. Brojleri kontrolne grupe hranjeni su smešama bez dodatog organskog selena, a brojleri oglednih grupa dobijale su smeše u koje je selen, u obliku selenizovanog kvasca, dodat u količini od 2, 5, 10 ili 15 mg/kg. Selenizovani kvasac (ICN – Galenika) dobijen je od pivskog kvasca i sadržao je 1,51, odnosno 1,45 mg/g ukupnog, odnosno organski vezanog selena.

Na početku tova, aktivnost GSH-P_x u plazmi brojlera K-grupe kretala se oko 16,55 μ kat/L, dok je aktivnost GSH-P_x u plazmi brojlera oglednih grupa bila statistički značajno viša, ali bez većih razlika između pojedinih grupa (prosečno 25,53 μ kat/L).

U krvnoj plazmi K-grupe aktivnost GSH-P_x pada već u drugoj nedelji života i održava se relativno konstantnom (oko 10 μ kat/L) do kraja ogleda. U oglednim grupama zapaža se isti fenomen, ali je trend smanjivanja aktivnosti GSH-P_x u krvnoj plazmi izrazitiji, pri čemu je, za razliku od kontrolne grupe, izražen i u kasnijim fazama ogleda. U trećoj nedelji tova aktivnost GSH-P_x u krvnoj plazmi brojlera kontrolne i oglednih grupa je relativno jednaka, a zatim je aktivnost GSH-P_x u plazmi brojlera oglednih grupa bila niža bez većih razlika između pojedinih grupa.

Ključne reči: brojleri, organski selen, glutation-peroksidaza

* Rad primljen za štampu 18. 5. 2005. godine

** Dr Mirjana Joksimović-Todorović, vanredni profesor, dr Živan Jokić, vanredni profesor, Poljoprivredni fakultet, Zemun; dr Zlatan Sinovec, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

Uvod / Introduction

Selen je metabolički i nutritivno esencijalan mikroelement za sve vrste životinja. Svoju biološku ulogu u organizmu obavlja preko enzima glutathion-peroksidaze (GSH-Px) u čijem se aktivnom mestu nalazi ovaj element [17]. Selen zavisna glutathion-peroksidaza, zajedno sa katalazom, superoksid-dizmutazom i vitaminom E, učestvuje u mehanizmu odbrane ćelijskih membrana od peroksidativnih oštećenja prouzrokovanih delovanjem kiseonika. Aktivnost GSH-Px zavisi od nivoa dodatog selena [14, 23], a različita je u pojedinim organima, telesnim tečnostima, ćelijama i subćelijskim frakcijama [5].

Biološka raspoloživost predstavlja kvantitativni izraz biološke iskoristivosti, a zavisi od sadržaja i oblika selena u hrani [24, 25]. Ispitivanjima biološke raspoloživosti selena iz različitih izvora, ustanovljeno je da selenocistein ima nešto veću, a selenometionin tri do četiri puta veću biološku iskoristivost nego natrijum selenit. Takođe, organski selen je znatno manje toksičan [26], brže se deponuje i duže zadržava u tkivima [12].

Najveći broj podataka iz literature odnose se na ispitivanje korelacije između aktivnosti GSH-Px i optimalnih i/ili suboptimalnih sadržaja selena u hrani. Dobijeni rezultati su potvrdili činjenicu da povećanja sadržaja selena do granica optimalnih količina uzrokuju linearno povećanje aktivnosti GSH-Px [13, 16, 18]. Zbog toga je cilj izvedenih istraživanja bio da se utvrdi efekat povećanih količina nivoa organski vezanog selena dodatog u hranu na aktivnost GSH-Px u krvnoj plazmi brojlera.

Materijal i metode rada / Materials and methods

Za ispitivanja efekata dodavanja različitih količina organski vezanog selena u ishrani brojlera organizovan je ogled po grupno-kontrolnom sistemu, a za ogled su korišćena jednodnevna pilad „Hybro” provinijencije, oba pola, individualno obeležena krilnim markicama. Prilikom formiranja ogleda obavljen je pojedinačan klinički pregled, a sve odabrane jedinke bile su zdrave, vitalne i u dobroj kondiciji.

Postupak sa brojlerima tokom ogleda u pogledu primene preventivnih mera, smeštaja, nege i načina hranjenja i pojenja bio je prilagođen kaveznom načinu uzgoja. Hranjenje i napajanje je bilo po volji (*ad libitum*). U toku ogleda zoohigijenski i mikroklimatski uslovi su u potpunosti odgovarali tehnološkim normativima za ovu provenijenciju.

Ogled je izveden na 125 brojlera podeljenih u pet jednakih grupa, po 25 jedinki u svakoj grupi. Ogled je trajao 42 dana, a podeljen je u dve faze po 22 dana. Tokom ogleda, uzimani su uzorci krvi iz krilne vene od po pet jedinki iz svake grupe. Uzorci krvi su centrifugovani 15 minuta na 2500 rpm, radi izdvajanja

krvne plazme u kojoj je određivana aktivnost glutathion-peroksidaze, standardnom metodom [4].

Brojleri su hranjeni sa dve vrste potpunih smeša za ishranu pilića u tovu standardnog sirovinskog i hemijskog sastava koje su u potpunosti zadovoljavale potrebe brojlera u različitim fazama tova. Potpuna smeša za početni tov pilića korišćena je od 1 do 21. dana, a potpuna smeša za završni tov od 21 do 42. dana ogleđa. Sve smeše za ishranu brojlera u ogledu sadržavale su 0,15 mg Se/kg, u formi natrijum selenita.

Osnovni cilj ispitivanja bio je da se utvrdi uticaj ishrane brojlera smešama sa različitim količinama dodatog organski vezanog selena. Brojleri kontrolne grupe hranjeni su smešama bez dodatog organski vezanog selena, a ogledne grupe smešama u koje je selen, u obliku selenizovanog kvasca, dodat u količini od 2, 5, 10 ili 15 mg/kg. Selenizovani kvasac (ICN – Galenika) dobijen je od pivskog kvasca i sadržao je 1,51, odnosno 1,45 mg/g ukupnog, odnosno organski vezanog selena.

Dobijeni rezultati ogleda grupisani su u odgovarajuće statističke serije i obrađeni uz primenu nekoliko matematičko-statističkih metoda korišćenjem programa SPSS 8.0 i MS Excel 97, kako bi bilo omogućeno objektivnije i egzaktnije zaključivanje [21]. Ocena statističkih razlika između pojedinih grupa dobijena je t-testom na nivou rizika od 5%

Rezultati i diskusija / Results and discussion

Rezultati o uticaju korišćenja hrane sa visokim sadržajem organski vezanog selena (selenizovanog kvasca) na aktivnost GSH-Px u krvnoj plazmi brojlera prikazani su u tabeli 1. Na početku ogleda (7. dana), aktivnost GSH-Px u plazmi brojlera K-grupe bila je oko 16,55 $\mu\text{kat/L}$, dok je aktivnost GSH-Px u plazmi brojlera oglednih grupa bila statistički značajno viša, ali bez značajnih razlika između pojedinih grupa (prosečno 25,53 $\mu\text{kat/L}$).

Posmatrajući K-grupu (grafikon 1), uočava se da već u drugoj nedelji života aktivnost GSH-Px u krvnoj plazmi pada ($y = 27,04 - 3,71x$; $r_{xy} = 0,714$) i da se održava relativno konstantnom (oko 10 $\mu\text{kat/L}$) do kraja ogleda. U oglednim grupama zapaža se isti fenomen, ali je trend opadanja aktivnosti GSH-Px u krvnoj plazmi izrazitiji ($y = 24,15 + 9,02\text{Ln}(x)$; $r_{xy} = 0,946$), pri čemu je, za razliku od kontrolne grupe, izražen i u kasnijim fazama ogleda. U trećoj nedelji ogleda aktivnost GSH-Px u krvnoj plazmi brojlera kontrolne i oglednih grupa je relativno jednaka, a zatim je aktivnost GSH-Px u plazmi brojlera oglednih grupa bila niža, bez većih razlika između pojedinih grupa.

Aktivnost GSH-Px u organizmu nije konstantna već se menja zavisno od vrste tkiva, ćelija i subćelijskih frakcija [5]. Pored toga, aktivnost ovog enzima znatno varira što zavisi od vrste životinja i statusa selena u organizmu [1]. Veoma je teško, a ponekada i nije moguće da se pored rezultati aktivnosti GSH-Px navedeni u literaturi, jer je aktivnost određivana različitim metodama i izražavana u

Tabela 1. Aktivnost GSH-Px ($\mu\text{kat/L}$) /
Table 1. Activity of GSH-Px ($\mu\text{kat/L}$)

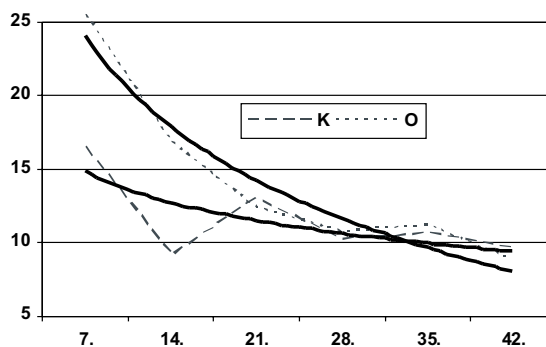
Grupa/ Group	Se mg/kg	Dan ogleđa / Day of experiment					
		7.	14.	21.	28.	35.	42.
K	0	16.55±0.20	a 9.10±1.80	a 13.00±3.10	a 10.20±2.50	a 10.6±3.15	a 9.70±1.65
I	2	A 36.75±1.20	a A 15.20±4.80	a 11.70±1.85	a A 17.05±4.00	a 11.60±2.60	a A 12.30±1.80
II	5	A 20.35±0.15	a 14.40±6.30	a 16.70±3.30	a 12.8±02.70	a 13.90±2.30	a 10.40±1.80
III	10	A 25.80±0.52	A 27.40±4.80	a 11.50±2.30	a 11.80±1.30	a 11.40±2.30	a 7.00±1.20
IV	15	A 19.20±0.50	a 10.60±0.35	a 9.60±3.10	a 11.60±1.05	a 7.90±2.70	a A 5.15±1.10
I-IV		A 25.53±8.02	a A 16.90±7.28	a 12.38±1.52	a 10.81±6.45	a 11.20±2.48	a 8.84±3.33

A – značajnost u odnosu na K grupu / significance toward K group

a – značajnost u odnosu na početnu vrednost / significance toward begin value

različitim jedinicama, a ponekada detaljni podaci o metodama potpuno nedostaju.

Smatra se da je određivanje koncentracije selena i aktivnosti selenoenzima GSH-Px u krvi, ali i u tkivima, najpouzdanije merilo statusa selena kod životinja. Pored toga, za navedena ispitivanja najčešće se koriste uzorci krvi ili krvne plazme koji su lako dostupni, pa je ova metoda široko prihvaćena. Međutim, ograničavajući faktor je činjenica da se rezultati ispitivanja aktivnosti GSH-Px u krvi mogu da prihvate kao odgovarajući samo kod suboptimalnih i optimalnih sadržaja selena u hrani [2, 15, 17, 20]. Povećana količina selena u hrani (2 mg/kg hrane) ne dovodi do srazmernog povećanja aktivnosti GSH-Px, već aktivnost ovog enzima pri visokim nivoima pokazuje efekat platoa [13, 16, 18]. Drugim rečima, odnos povećanja aktivnosti enzima GSH-Px u krvi sa povećanjem količine selena u hrani opisan je logaritamskom regresionom krivom [11].



Grafikon 1. Aktivnost GSH-Px ($\mu\text{kat/L}$) /
Graph 1. Activity of GSH-Px ($\mu\text{kat/L}$)

Rezultati, slični dobijenim u izvedenom ogledu, opisani su u literaturi. Aktivnost GSH-Px u krvi životinja hranjenih hranom sa visokim sadržajem selena u dužem vremenskom periodu bila je niža u odnosu na životinje kojima se selen nije dodavao u hranu [7]. Takođe, sadržaj selena u hrani od 0,64 mg Se/kg uzrokuje veću aktivnost enzima GSH-Px nego 2,0 mg Se/kg [8]. Sa druge strane, dodavanje selena u količini od 1,4, odnosno 4,6 mg/kg hrane ne utiče na aktivnost GSH-Px, odnosno aktivnost je relativno jednaka. Međutim, povećanje količine selena od 14 mg/kg hrane izaziva značajno (dvostruko) povećanje aktivnosti enzima [22].

Dobijeni rezultati, posebno nakon prve nedelje, ukazuju da je svarljivost, a time i biološka raspoloživost organski vezanog selena veća, odnosno da je kao izvor selena superiorniji u odnosu na neorganske oblike [10]. Sa druge strane, pretpostavlja se da je pad aktivnosti enzima GSH-Px u krvi u daljem toku ogleda vezan za jake i specifične homeostatske mehanizme. Naime, pri po-

većanju koncentracije hranljivih materija u krvi većih od fizioloških granica povećano je i deponovanje hranljivih sastojaka u tkiva, što je, kako su potvrdili rezultati oglada, izraženije u slučajevima viših koncentracija. Pored toga, selen vezan za amino-kiseline, pre svega metionin, lako se ugrađuje u tkivne proteine [19], dok je iskorišćavanje neorganskih formi, preko sinteze Se-cisteina, znatno slabije. Zato je logično da se pretpostavi da se ispitivanje statusa selena, pored ispitivanja aktivnosti GSH-Px u krvi životinja, mora da zasniva na istovremenom određivanju sadržaja selena u tkivima [3]. U principu, sadržaj selena u tkivima je mnogo pouzdaniji podatak za procenu statusa selena u organizmu, a posebno kada se razmatra biološka raspoloživost pojedinih izvora selena. Za razliku od ispitivanja aktivnosti enzima GSH-Px u krvi, korišćenjem povećanih količina organski vezanog selena uočava se izrazita prednost organskih nad neorganskim izvorima [9]. Pri količini od 0,30 mg Se/kg hrane u neorganskoj, odnosno organskoj formi utvrđen je sadržaj selena u muskulaturi grudi brojlera od 0,37, odnosno 0,16 mg/kg [6].

Zaključak / Conclusion

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja može da se zaključi da se određivanje aktivnosti enzima GSH-Px u krvi može da prihvati kao odgovarajuće merilo statusa selena kod životinja samo kod niskog sadržaja selena u hrani. Zato se ispitivanje statusa selena, pored ispitivanja aktivnosti GSH-Px u krvi, mora da zasniva na istovremenom određivanju sadržaja selena u tkivima životinja.

Literatura / References

1. Burk R. F., Lane J. M.: *Fund. Appl. Toxicol* 3: 431-436, 1983. - 2. Cantor A. H., Tarino J. Z.: *J. Nutr.* 112, 2187-2196, 1982. - 3. Eschevaria M., Henry R., Ammerman B., Roa V., Miles D.: *Poult. Sci.*, 67, 1295-1301, 1988. - 4. Gunzler W. A., Steffens G. J., Kim M. A., Otting F., Wendel A., Flohe L.: *Physiol. Chem.*, 365, 195-200, 1984. - 5. Hassan S.: *Swedish University of Agricultural science*, 1-65, 1987. - 6. Jacques A., Kanyon S.: *Proceedings of Alltechs 19th International Feed Industry Symposium*, 203, 2002. - 7. Jacobs M., Forst C.: *J. Toxicol. Environ. Health*, 8, 575, 1981. - 8. Jensen L. S., Werho B. D., Leyden D. E.: *J. Nutr.* 107, 391-396, 1977. - 9. Kuricova S., Boldizarova K., Gresakova L., Bobcek R., Lektvut M., Leng L.: *Acta Vet. Brno*, 72, 339-346, 2003. - 10. Mahan D. C.: *Biotechnology in the Feed Industry*, 523-536, 1999. - 11. Mahan D. C., Paret N. A.: *J. Anim. Sci.* 74, 2967-2974, 1996. - 12. Mahan D.: *Biotechnology in the Feed Industry*, 131-140, 2004. - 13. Meyer W. R., Mahan D. C., Moxon A. L.: *J. Anim. Sci.* 52, 302, 1981. - 14. Mihailović M., Todorović Mirjana, Ilić V.: *Acta Vet.*, 23, 75-80, 1991. - 15. Paton N. D., Cantor A. H., Pescatore A. J., Ford M. J., Smith C. A.: *Poult. Sci.* 79 (Suppl. 1), 40. - 16. Raisbeck M. F.: *Food Animal Practice* 16, 465-470, 2000. - 17. Rotruck J. T., Pope A. L., Ganther H. E., Swanson A. B., Hafeman D. G., Hoekstra W. G.: *Science*, 1979: 588-590, 1973. - 18. Sankari S.: *Acta Vet. Scand.* 81:1-127, 1985. - 19. Schrauzer N.: *J. Nutr.*, 130, 1653-1656, 2000. - 20. Siddons R. C., Mills C. F.: *Br. J. Nutr.* 46: 345-355, 1981. - 21. Snedecor W. G., Cochran G. W.: *Statistical methods*. USA, 1971. - 22. Stanley T., Omaye, Tappel A. S.: *J. Nutr.* 104, 747-753, 1974. - 23. Todorović Mirjana: Uticaj deficita selena na aktivnost glutathion peroksidaze, alkalne fosfataze i prirast ćurica u tovu.

Vet. glasnik 59 (3-4) 383 - 390 (2005) Mirjana Joksimović-Todorović i sar: Uticaj visokih nivoa organski vezanog selena u hrani na aktivnost glutation-peroksidaze (GSH-Px) u ...

Magistarski rad, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1990. - 24. Todorović Mirjana: Toksičnost selena kod pilića u tovu. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1997. - 25. Todorović Mirjana, Mihailović M., Hristov S.: Acta Vet., 49, 313-320, 1999. - 26. Todorović Mirjana, Jovanović M., Jokić Ž., Davidović Vesna: Acta Vet., 54, 191-200, 2004.

ENGLISH

EFFECT OF HIGH LEVELS OF ORGANIC SELENIUM ON GLUTATION-PEROXIDASE (GSH-Px) ACTIVITY IN BLOOD PLASMA OF BROILERS

Mirjana Joksimović-Todorović, Ž. Jokić, Z. Sinovec

An experiment lasting 45 days was performed on 125 Hybro broilers divided into five groups. All compounds for broiler feed mixes used in the experiment contained 0.15 mg Se/kg, in the form of sodium selenite. The control group (K-group) of broilers was fed mixes without added organic selenium, and the experimental groups with mixes to which selenium, in the form of selenized yeast, was added in quantities of 2, 5, 10, or 15 mg/kg. Selenized yeast (ICN – Galenika) was obtained from beer yeast and contained 1.5l, or 1.45 mg/g total, or organically bound selenium.

At the beginning of the fattening period, GSH-Px plasma activity in broilers of the K-group ranged around 16.55 μ kat/L, while GSH-Px plasma activity in broilers of experimental groups was statistically significantly higher, but without any major differences among the individual groups (on the average 25.53 μ kat/L).

In the blood plasma of K-group, GSH-Px activity dropped already in the second week of life and was maintained at a relatively constant level (about 10 μ kat/L) until the end of the experiment. The same phenomenon was observed in the experimental groups, but the trend of declining GSH-Px activity in blood plasma was more expressed, and, contrary to the control group, was expressed also in the later phases of the experiment. In the 3rd week of the fattening period, GSH-Px plasma activity in broilers of the control and experimental groups was relatively equal, and then the plasma activity of GSH-Px in broilers of the experimental groups decreased, but there were no major differences among the individual groups.

Key words: broilers, organic selenium, glutation-peroxidase

РУССКИЙ

ВЛИЯНИЕ ВЫСОКИХ УРОВНЕЙ ОРГАНИЧЕСКОГО СЕЛЕНА В КОРМЕ НА АКТИВНОСТЬ ГЛЮТАТИОН-ПЕРОКСИДАЗЫ В КРОВЯНОЙ ПЛАЗМЕ БРОЙЛЕРОВ

Миряна Йоксимович, Ж. Йокич, З. Синовец

Селен метаболически и питательно эсенциальный микроэлемент для всех видов животных. Свою биологическую роль в организме выполняет через энзима glutation пероксидазы (ГСХПх) в чьем активном месте находится этот эле-

мент (17). Селен зависимая ГСХПх, вместе с каталазой, суперокись-дизмутазой и витамином Е, участвует в механизме охраны клеточных мембран от пероксидативных повреждений, причинённых воздействием кислорода. Активность ГСХПх зависит от уровня дополнительного селена (14,23), а различная в некоторых органах, телесных жидкостях, клетках и подклеточных фракциях (5).

Биологическое наличие представляет собой количественное выражение биологической использованности, а зависит от содержания и формы селена в корме (24,25). Испытаниями биологического наличия селена из различных источников, установлено, что селеноцистеин имеет немного большую, а селенометионин 3-4 раза большую использованность, чем селенит натрия. Также, органический селен значительно меньше токсический (26), быстрее депонируется и более долго задерживается в тканях.

Наибольшее число литературных данных относятся к испытанию корреляции между активностью ГСХ-Пх и оптимальных содержаний селена в корме. Полученные результаты подтвердили факт, что увеличения содержания селена до границ оптимальных количеств приводят до линейного увеличения активности ГСХ-Пх (13, 16, 18). Вследствие этого цель выведенных исследований была утвердить эффект увеличенных количеств уровня органического селена дополнительного в корм на активность ГСХ-Пх в кровяной плазме бройлеров.

Ключевые слова: бройлеры, органический селен, глутатион-пероксидаз