

UTICAJ VISOKIH NIVOA NEORGANSKOG SELENA NA AKTIVNOST GLUTATION-PEROKSIDAZE (GSH-Px) U KRVNOJ PLAZMI BROJLERA¹

Mirjana Joksimović-Todorović, Ž. Jokić²

Sadržaj: Ispitivan je uticaj visokih nivoa neorganskog selena (natrijum-selenita) na aktivnost glutacion-peroksidaze (GSH-Px) u krvnoj plazmi brojlera. Za ogled je korišćeno 140 pilića (Hybro provenijence), podeljenih u 7 grupa. Pilići su hranjeni smešama u koje je dodato 0, 2, 5, 10, 15, 20 ili 30mg Se/kg hrane.

Kod svih oglednih grupa, osim prve, najviši nivoi ovog enzima ustanovljeni su na početku tova (11. dana). Kod pilića hranjenih sa 2, 5, 10 i 15mg Se/kg hrane (grupe II, III, IV i V) aktivnost enzima je bila značajno viša ($P < 0,05$), nego kod pilića hranjenih smešom bez dodatka selena (grupa I). Kod pilića VI i VII grupe ustanovljena je značajno ($P < 0,05$) niža vrednost u odnosu na I. Već u drugoj nedelji tova zapažen je značajan pad ($P < 0,05$) aktivnosti enzima kod svih grupa. Aktivnost seleno-enzima kod ispitivanih grupa se srazmerno smanjivala sa dužinom ekspozicije.

Ključne reči: neorganski selen, glutacion-peroksidaza, brojleri

Uvod

Selen obavlja svoju biološku ulogu u organizmu preko enzima glutacion peroksidaze (GSH-Px) u čijem se aktivnom mestu nalazi ovaj element. Ključni sastojci hrane koji imaju funkciju oksidativne zaštite su Se i vitamin E. Vitamin E deluje unutar lipidne membrane i neutrališe slobodne radikale i one proizvedene lipidnom peroksidacijom. On predstavlja prvu liniju odbrane ćelije od slobodnih radikala, jer deluje u ćelijskoj membrani i veoma dobro »prepoznaje« put očuvanja ćelijskog integriteta. Aktivnost enzima GSH-Px se povećava u plazmi povećanjem nivoa selena u hrani, što se može koristiti kao pouzdan kriterijum za procenu biološki usvojivog selena. Pri povećanju nivoa selena iznad

¹ Originalni naučni rad – Original scientific paper

² Mirjana Joksimović-Todorović, Ž. Jokić, Poljoprivredni fakultet, Zemun

potrebnih, aktivnost – GSH-Px pokazuje efekat platoa, tako da viši sadržaji selena ne dovode do daljeg povećanja aktivnosti.

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj visokih nivoa neorganskog selena dodatog u hrani na aktivnost seleno-enzima GSH-Px u krvnoj plazmi brojlera.

Materijal i metod rada

Za ogled je korišćeno 140 pilića provenijence Hybro. Sva ogledna grla pre useljavanja u kaveze bila su obeležena krilnim markicama, radi individualnog kontrolisanja ispitivanih parametara. Pilići su bili smešteni u 7 kaveza sa po 20 grla u svakom. Tov je trajao 42 dana i bio je podeljen u dva perioda. U prvom periodu (0-21. dana) pilići su hranjeni potpunom smešom sa 22% sirovih proteina, a u drugom (22-42. dana) smešom sa 19% sirovih proteina. Hrana i voda su bili dostupni pilićima po volji. Smeše za ishranu pilića pripremane u fabrici stočne hrane sadržavale su 0,15mg Se/kg hrane.

Prva grupa hranjena je smešom bez dodatka selena. Ostale grupe (II, III, IV, V, VI i VII) hranjene su hranom u koju je dodavano 2, 5, 10, 15, 20 ili 30mg Se/kg Na_2SeO_3 , tokom celog perioda tova. Korišćen je natrijum selnit (Merck), koji je sadržavao 45% selena.

Uzorci heparinizirane krvi uzimani su iz krilne vene, svakih 7 dana, od po 5 grla iz svake grupe. Svi uzorci su potom centrifugovani 15 min. na 2500 rpm, radi izdvajanja krvne plazme. U krvnoj plazmi je potom određivana aktivnost glutation peroksidaze medodom po *Gunzleru i sar. (1974)*.

Statistička obrada dobijenih podataka obavljena je standardnim postupkom po *Snedecoru i Cochranu (1971)*. Ocena značajnosti aritmetičkih sredina tretmana izvršena je t-testom.

Rezultati istraživanja i diskusija

Rezultati o uticaju unosa visokih nivoa selena na aktivnost GSH-Px u krvnoj plazmi pilića u tovu prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Aktivnost GSH-Px (μ kat/L)
Table 1. Activity of GSH-Px (μ kat/L)

Grupa/ Group	Dodato Se (mg/kg hrane)/ Added Se (mg/kg feed)	11. dan/ 11. day	2. nedelja/ 2. week	3. nedelja/ 3. week	4. nedelja/ 4. week	5. nedelja/ 5. week	6. nedelja/ 6. week
I	0	16,55±0,2	9,1±1,8 P<0,05	13,0±3,1 P>0,05	10,2±2,5 P<0,05	10,6±3,15 P<0,05	9,7±1,65 P<0,05
II	2	36,75±1,2 t*=21,5	15,2±4,8 t=6,3 t*=2,38	11,7±1,85 t=15,2 t*=0,81	17,05±4,0 t=8,1 t*=3,3	11,6±2,6 t=13,9 t*=0,55	12,3±1,8 t=7,4 t*=2,39
III	5	20,35±0,15 t*=21,1	14,4±6,3 t=1,98 t*=1,83	16,7±3,3 t=2,23 t*=1,83	12,8±2,7 t=4,19 t*=1,58	13,9±2,3 t=3,8 t*=2,07	10,9±1,8 t=5,06 t*=1,1
IV	10	25,8±0,52 t*=34,2	27,4±4,8 t=0,75 t*=7,15	11,5±2,3 t=4,46 t*=0,87	11,8±1,5 t=5,5 t*=1,23	11,4±2,3 t=3,78 t*=0,5	7,0±1,2 t=7,0 t*=2,79
V	15	19,2±0,5 t*=4,49	10,6±0,35 t=5,37 t*=1,63	9,6±3,1 t=5,16 t*=1,73	11,6±1,05 t=10,27 t*=1,16	7,9±2,7 t=6,27 t*=1,46	5,15±1,1 t=18,9 t*=5,14
VI	20	11,4±2,0 t*=4,47	-	7,85±0,25 t=2,62 t*=2,22	10,1±2,8 t=0,06 t*=0,05	5,05±0,5 t=3,5 t*=2,34	3,8±0,8 t=5,4 t*=4,65
VII	30	9,35±1,75 t*=5,78	-	7,6	13,6	9,1	4,55

t – Ocena značajnosti u odnosu na početnu vrednost

t – Estimation of signficancy in relation to initial value

t* - Ocena značajnosti u odnosu na I grupu

t* - Estimation of signficancy in relation to I group

Kod prve grupe pilića aktivnost GSH-Px dostiže najvišu vrednost 11. dana uzrasta. U kasnijim periodima tova aktivnost ovog enzima je bila značajno niža nego na početku, osim na kraju 3. nedelje. Pilići hranjeni smešom sa 2mg Se/kg imali su 11. dana dvostruko veću aktivnost GSH-Px (36,75 μ kat/L) u odnosu na I grupu (16,55 μ kat/L). Kasnije (2-6. nedelje) nije bilo značajnih razlika u poređenju sa I grupom, osim na kraju 4. nedelje kada je aktivnost enzima bila viša nego kod I grupe. Već krajem druge nedelje aktivnos seleno-enzima je pala na polovinu početne vrednosti i na tom nivou se održavala do kraja tova. Pilići III grupe imali su 11. dana značajno višu aktivnost GSH-Px nego I. U daljem toku oglada nije bilo značajnih razlika u aktivnosti enzima između ove dve grupe (III i I). Aktivnost GSH-Px u plazmi pilića IV grupe bila je 11. dana i na kraju 2. nedelje značajno viša u odnosu na I grupu, ali na kraju 3, 4, 5 i 6. nedelje razlike nisu bile značajne. Visoka aktivnost enzima ustanovljena 11. dana i posle 2. nedelje pada na polovinu početne vrednosti na kraju 3. nedelje. Na ovom nivou se

održava do kraja 5. nedelje, da bi na kraju oglada pala na polovinu početne vrednosti. Aktivnost seleno-enzima kod pilića V grupe bila je približno ista, kao kod pilića III grupe. Aktivnost pada na polovinu već na kraju 2. nedelje. Na tom nivou se zadržava do kraja 4. nedelje, a zatim značajno pada do kraja tova. U poređenju sa I grupom, aktivnost se nije značajno razlikovala do kraja 5. nedelje. Međutim, na kraju 6. nedelje aktivnost enzima je bila značajno niža. Za razliku od prethodnih grupa (II-V), pilići VI i VII grupe su 11. dana imali značajno nižu aktivnost GSH-Px u odnosu na I. Nižu aktivnost u odnosu na I grupu oni su imali do kraja oglada, ali je značajna razlika bila samo na kraju 6. nedelje. Aktivnost ustanovljena 11. dana održavala se na približno istom nivou do kraja 4. nedelje, da bi u poslednjoj nedelji pala na polovinu, ili na samo 1/3 prvobitne vrednosti.

Aktivnost GSH-Px u krvnoj plazmi je pouzdan indikator statusa selena kod životinja, ali samo pri suboptimalnim i optimalnim nivoima selena. Međutim, visoki nivoi selena ne dovode i do srazmernog povećanja seleno-enzima (*Meyer i sar., 1981; Sankari, 1985; Raisbeck, 2000*). Pri povećanju nivoa selena iznad potrebnih, aktivnost GSH-Px pokazuje efekat platoa, tako da viši sadržaji ne dovode do daljeg povećanja aktivnosti. Zavisnost aktivnosti GSH-Px od nivoa suplementarnog selena ustanovljena je u brojnim izučavanjima kod mnogi vrsta životinja. Aktivnost ovog enzima znatno varira zavisno od vrsta tkiva, ćelija i subćelijskih frakcija. Nivo aktivnosti enzima znatno varira u zavisnosti od vrste i statusa selena životinje (*Burk, 1983*). Podaci iz literature koji se odnose na aktivnost GSH-Px dobijeni su korišćenjem različitih analitičkih metoda i izražavani u različitim jedinicama, što pravi prilične teškoće u poređenju rezultata. Ispitivanja na pilićima (*Noguchi i sar., 1973, Surai, 2002*), ćurkama (*Cantor i Tarino, 1982*) pokazala su da je aktivnost GSH-Px u plazmi u visokoj korelaciji sa unosom selena.

Dodavanje visokih nivoa neorganskog selena u hranu za piliće nije dovelo do linearnog povećanja aktivnosti seleno-enzima. Kod svih oglednih grupa najviši nivoi ustanovljeni su na početku tova (11. dana). Pri tome, kod II, III, IV i V grupe aktivnost je bila značajno viša nego kod I, a posebno je bio visok porast kod pilića II grupe (dvostruko). Kod VI i VII grupe aktivnost enzima je značajno niža nego kod I grupe. Već u 2. nedelji tova zapažen je značajan pad aktivnosti enzima kod svih grupa. Na kraju 5 i 6. nedelje kod pilića VI i VII grupe ustanovljene su najniže aktivnosti enzima (3,8, odnosno 4,55 μ kat/L).

Verovatno visoke doze selena u početku dovode do povećanja aktivnosti GSH-Px, ali već od 11. dana ćelije koje sintetišu ovaj enzim bivaju toliko oštećene, da je sinteza enzima znatno smanjena ili prekinuta. Tako se može objasniti pad aktivnosti GSH-Px ustanovljen na kraju tova, kod grupa pilića koje su unosile najviše doze selena.

Slično našim rezultatima *Jensen i sar. (1977)* su ustanovili da visoki nivoi selena ne dovode i do povećanja aktivnosti GSH-Px. Autori iznose da je pri sadržaju selena u hrani od 0,64mg Se/kg, aktivnost seleno-enzima bila viša nego pri 20mg Se/kg hrane.

Goehring i sar. (1984a) slično našim rezultatima ustanovili su da se pri sadržaju selena od 2,53mg Se/kg hrane (u obliku natrijum selenita) postiže plato aktivnosti enzima u krvnoj plazmi prasadi, tako da viši sadržaji selena 5,69, odnosno 8,33mg Se/kg ne izazivaju povećanje aktivnosti. Isti autori *(1984b)* u drugom eksperimentu izvedenom takođe na prasadima tretiranim visokim nivoima Na_2SeO_3 (4, 8, 12, 16 ili 20mg Se/kg hrane) ustanovili su povećanje aktivnosti enzima srazmerno povećanju nivoa u hrani. Autori navode da dobijeni rezultati ukazuju da su visoki nivoi selena izazvali linearno povećanje aktivnosti enzima i da su utvrđeni nivoi kod tretiranih grla značajno viši nego što su fiziološke potrebe životinja za ovim enzimom. Takođe, suprotno našim rezultatima *Stanley i Tappel (1974)* su ustanovili linearno povećanje aktivnosti GSH-Px u krvnoj plazmi živine sa povećanjem sadržaja selena u hrani. Autori navode da pri dodavanju 1,4, odnosno 4,6mg Se/kg aktivnost enzima je bila približno ista. Ali, dodavanje 14mg Se/kg hrane izazvalo je povećanje aktivnosti enzima za 100%.

Zaključak

Na osnovu rezultata ispitivanja visokih nivoa neorganskog selena na aktivnost glutacion peroksidaze u krvnoj plazmi brojlera možemo dati sledeći zaključak.

Aktivnost GSH-Px je bila značajno viša 11. dana u pilića koji su dobijali do 15mg Se/kg hrane (II, III, IV i V grupa), a kod pilića VI i VII grupe aktivnost ovog enzima je bila niža nego kod pilića I grupe. U drugoj nedelji aktivnost enzima kod I, II, III i V grupe bila je značajno niža u odnosu na 11. dan tova. U daljem periodu tova aktivnost enzima je imala tendenciju pada, posebno kod VI i VII grupe koje su hranjene najvišim nivoima selena.

INFLUENCE OF HIGH LEVELS OF INORGANIC SELENIUM
ON ACTIVITY OF GLUTATHIONE-PEROXIDASE (GSH-Px) IN
BLOOD PLASMA OF CHICKENS

Mirjana Joksimović-Todorović, Ž. Jokić

Summary

The effect of high levels of inorganic selenium (Na_2SeO_3) was investigated on activity GSH-Px in blood plasma of chickens. For experiment, 140 chickens were used which were divided in 7 groups. The experiment lasted 42 days. The chickens of I group were not fed supplemental selenium. The chickens of II, III, IV, V, VI and VII group were fed 2, 5, 10, 15, 20 and 30mg Se/kg of diet in form of Na_2SO_3 . For determination of activity of GSH-Px spectrographic method was used.

The highest activity of GSH-Px was found at the beginning of the experiment in all examined chickens (the eleventh day). The chickens of II, III, IV and V group had significantly higher activity and chickens of VI and VII group had lower activity then I group.

Key words: inorganic selenium, glutathione-peroxidasa, chickens

Literatura

1. BURK, R.F., LANE, J.M. (1983): Modiffication of chemical toxicity by selenium deficiency. *Fund. Appl. Toxicol* 3: 431-436.
2. CANTOR, A.H., TARINO, J.Z. (1982): Comparative effects of inorganic and organic dietary sources of selenium on selenium levels and selenium dependent glutathione peroxidase activity in blood of young turkeys. *J. Nutr.* 112: 2187-2196.
3. GOEHRING, T.B., PALMER, I.S., OLSON, O.E., LIBIAL, G.W., WAHLSTROM, R.C. (1984a): Effects of seleniferous grains and inorganic selenium on tissue and blood composition and growt performance of rats and swine. *J. Anim. Sci.* 59: 725-732.
4. GOEHRING, T.B., PALMER, I.S., OLSON, O.E., LIBIAL, G.W., WAHLSTROM, R.C. (1984b): Toxic effect of selenium on growing swine fed corn soybean meal diets. *J. Anim. Sci.* 59: 733-737.

5. JENSEN, L.S., WERHO, B.D., LEYDEN, D.E. (1977): Selenosis, Hepatic Selenium Accumulation, and Plasma Glutathione Peroxidase Activity in Chicks as Affected by a Factor in Linseed Meal. *J. Nutr.* 107: 391-396.
6. MEYER, W.R., MAHAN, D.C., MOXON, A.L. (1981): Value of dietary selenium and vitamin E for weanling swine as measured by performance and tissue selenium and glutathion peroxidase activities. *J. Anim. Sci.* 52: 302.
7. NOGUCHI, I., CANTOR, A.H., SCOTT, M.L. (1973): Mode of action of selenium of vitamin E in prevention of exudative diathesis in chicks. *J. Nutr.* 103: 1502-1511.
8. RAISBECK, M.F. (2000): Selenosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 16: 465-470.
9. SANKARI, S. (1985): Plasma glutathione peroxidase and tissue selenium response to selenium supplementation in swine. *Acta Vet. Scand.* 81:1-127.
10. SNEDECOR, W.G., COCHRAN, G.W. (1971): *The Yowa state university press ames, Yowa, U.S.A.*
11. STANLEY, T., OMAYE, TAPPEL, A.S. (1974): Effect of dietary selenium on glutathione peroxidase in chick. *J. Nutr.* 104: 747-753.
12. SURAI, P.F. (2002): Selenium in poultry nutrition. 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. *World's Poultry Sci.* Vol. 58: 333-347.