

AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW ANTYOKSYDACYJNYCH ORAZ POZIOM GSH I MDA W OSOCZU, WĄTROBIE I NERKACH KURCZĄT BROJLERÓW UTRZYMYWANYCH W RÓŻNYCH SYSTEMACH ODCHOWU W LETNIM CYKLU PRODUKCYJNYM W WARUNKACH PODWYŻSZONEJ TEMPERATURY OTOCZENIA

Renata Muchacka¹, Edyta Kapusta¹, Iwona Skomorucha²,
Ewa Sosnówka-Czajka²

¹Uniwersytet Pedagogiczny, Instytut Biologii, Zakład Fizjologii Zwierząt i Toksykologii,
ul. Podchorążych 2, 30-084 Kraków

²Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, Dział Technologii, Ekologii i Ekonomiki Produkcji
Zwierzęcej, 32-083 Balice k. Krakowa

Celem doświadczenia było zbadanie potencjalnych skutków stresu oksydacyjnego w osoczu, wątrobie i nerkach kurcząt brojlerów Ross 308 utrzymywanych w dwóch systemach odchowu w okresie wysokich temperatur powietrza. Kurczęta przydzielono do dwóch grup: I – ptaki utrzymywane w systemie ściółkowym bez możliwości korzystania z wybiegów, II – kurczęta utrzymywane w systemie ściółkowym z możliwością korzystania z wybiegów. Ptaki żywiono ad libitum standardowymi paszami sporządzonymi na bazie koncentratów. Ptaki przez cały okres doświadczenia miały swobodny dostęp do poidel z wodą. Obie grupy były utrzymywane w jednakowych warunkach środowiskowych (wilgotność, temperatura, program świetlny) oraz żywieniowych. W 6. tygodniu odchowu ptaki były narażone na działanie podwyższonej temperatury powietrza (w ciągu dnia) przez 7 dni. Dzień przed oraz w trakcie działania podwyższonej temperatury pobrano krew, wątrobę i nerki w celu zbadania aktywności enzymów antyoksydacyjnych (SOD, CAT, GPx) oraz poziomu GSH i MDA. Wyniki wskazują, iż wysokie temperatury mogą indukować u 6-tygodniowych kurcząt brojlerów stres oksydacyjny niezależnie od system utrzymania. Wysokie temperatury powietrza inicjują peroksydację lipidów, a system antyoksydacyjny nie radzi sobie z usuwaniem nadmiaru RFT.

Słowa kluczowe: system utrzymania, podwyższona temperatura powietrza, stres oksydacyjny, kurczęta brojlery

Równowaga między procesami prooksydacyjno-antyoksydacyjnymi stanowi jeden z elementów prawidłowego przebiegu procesów fizjologicznych koniecznych do zachowania homeostazy organizmu (Sies, 2013). Zaburzenie tej równowagi, tj. przezwaga procesów utleniania i produkcji nadmiernych ilości reaktywnych form tlenu

(RFT) wywołuje stres oksydacyjny, będący zagrożeniem dla organizmu. Reaktywne formy tlenu mogą powodować utlenienie tłuszczów, białek, DNA i w konsekwencji mogą przyczynić się do uszkodzenia tkanek, co powiązane jest z etiopatogenezą oraz przebiegiem wielu schorzeń zarówno u ludzi jak i zwierząt (Durackova, 2010; Lu i in., 2010; Sies, 2013). Toksyczne produkty reakcji utleniania działają cytostatycznie na komórkę, uszkadzając błony komórkowe oraz prowadząc komórkę do śmierci na drodze apoptozy lub nekrozy (Kulbacka i in., 2009; Sies, 2013). Stan równowagi komórek utrzymuje się dzięki systemowi antyoksydacyjnemu, czyli enzymom antyoksydacyjnym, takim jak: dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza glutationowa, transferaza S-glutationowa oraz innym substancjom, jak np. glutation czy witaminy A, C, D i E. Związki te umożliwiają usuwanie nadmiaru m.in. RFT z komórek organizmu (Sies, 2013).

Charakterystyczne cechy metabolizmu ptaków, takie jak wysoka temperatura ciała, wysoki poziom glukozy we krwi oraz szybkie przemiany energetyczne powodują, iż ptaki są interesującym modelem w badaniach nad stresem oksydacyjnym (Barja, 2002; Simoyi i in., 2002). Ponadto, ciągła selekcja kurcząt brojlerów w kierunku szybkiego wzrostu i większej masy ciała spowodowała uwrażliwienie tych ptaków na warunki termiczne (Cahaner i in., 1995; Berrong and Washburn, 1998). Uszkodzenia oksydacyjne wywołane przez wysokie temperatury otoczenia u kurcząt brojlerów wykazano w licznych badaniach (Mujahid i in., 2007; Lin i in., 2006, 2008; Rashidi i in., 2010; Ali i in., 2010).

Stres cieplny (heat stress – HS) jest jednym z głównych problemów w produkcji drobiarskiej, szczególnie w krajach o gorącym klimacie. Nadmierny wzrost temperatury w kurnikach może wywołać u drobiu hipertermię, której konsekwencją jest m.in. wzrost śmiertelności, immunosupresja, obniżenie masy ciała i nieśności oraz pogorszenie jakości mięsa i jaj (El-Habbak i in., 2011; Zhang i in., 2012; Lara i Rostagno, 2013). Rozmiar strat w stadach drobiu zależy od wielu czynników, m.in. wieku ptaków, różnic w wahaniami temperatury, czasu ekspozycji na podwyższoną temperaturę czy wilgotności powietrza w otoczeniu (El-Habbak i in., 2011; Zhang i in., 2012; Lara i Rostagno, 2013).

Celem doświadczenia było zbadanie aktywności enzymów antyoksydacyjnych (CAT, SOD, GPx) oraz poziomu glutationu zredukowanego (GSH) i dialdehydu malonowego (MDA) w osoczu, wątrobie i nerkach kurcząt brojlerów odchowywanych w dwóch różnych systemach utrzymania w okresie wysokich temperatur powietrza.

Material i metody

Doświadczenie zostało przeprowadzone w letnim cyklu produkcyjnym (czerwiec/lipiec). Materiał doświadczalny stanowiło 400 sztuk jednodniowych kurcząt brojlerów linii towarowej Ross 308 pochodzących z Zakładu Wylęgu Drobiu w Łęczkowicach w Polsce. W pierwszym dniu życia pisklęta po zważeniu i oznakowaniu znaczkami pisklęcymi przydzielono do dwóch grup. Każda grupa składała się z pięciu podgrup. W grupie I kurczęta brojlery utrzymywano na ściółce bez możliwości korzystania z zielonych wybiegów, w grupie II ptaki odchowywano na ściółce z do-

stępowo do wybiegów obsianych trawą. Obsada kurcząt w obydwu grupach wynosiła 13 szt./m², co nie przekraczało 33 kg/m² zgodnie z Rozporządzeniem MRiRW, Dz. U. 2010.56.344. Powierzchnia wybiegu przypadająca na jednego ptaka wynosiła 1 m². Wybiegi wyposażone były w poidła i zadaszenia chroniące kurczęta przed słońcem. Ptaki korzystały z wybiegów od pierwszego dnia odchowu w godzinach od 7⁰⁰ do 20⁰⁰. Kurczęta żywiono bez ograniczeń mieszankami typu: starter do 3. tygodnia (EM 12,5MJ; BO 22%), od 4. do 5. grower (EM 13MJ; BO 20,5%), a w 6. tygodniu życia finisz (EM 13MJ; BO 20,5%), przygotowanymi na bazie koncentratów. Przez cały okres odchowu kurczęta brojlery miały swobodny dostęp do paszy i poidel z wodą.

Podczas doświadczenia zbierano dane dotyczące temperatury i wilgotności powietrza na zewnątrz oraz wewnątrz brojlerni. Pomiary makroklimatyczne wykonywano przy pomocy stacji klimatycznej Technoline Ltd model: WS-3650-IT, która rejestrowała dane co 1 godzinę przez cały okres doświadczenia. Wewnątrz brojlerni temperatura i wilgotność rejestrowane były na „komputerze drobiowym” PL-9000 firmy STIENEN BE. Czujniki mikroklimatu umieszczone zostały w strefie przebywania kurcząt brojlerów. Dodatkowo o godzinie 8⁰⁰ i 13⁰⁰ wykonywano pomiar temperatury i wilgotności powietrza aparatem Testo 435 w 3 punktach po przekątnej każdego przedziału (podgrupy) oraz w 3 punktach po przekątnej wybiegu na wysokości przebywania ptaków. Dane mikroklimatyczne umieszczone w tabelach 1 i 2 są średnią wyliczoną z danych odczytanych z wszystkich urządzeń pomiarowych.

Tabela 1. Temperatura powietrza (°C) wewnątrz brojlerni i na wybiegach od 28. do 42. dnia odchowu
Table 1. The outdoor and the indoor air temperature (°C) from 28 to 42 days of rearing

Dzień odchowu Day of rearing	Temperatura wewnątrz brojlerni Indoor air temperature				Temperatura na wybiegach Outdoor air temperature	
	grupa I group I		grupa II group II		8 ⁰⁰	13 ⁰⁰
	8 ⁰⁰	13 ⁰⁰	8 ⁰⁰	13 ⁰⁰		
28	20,5	22,5	21,4	22,7	21,15	21,7
29	21,0	22,1	20,9	21,9	16,9	21,4
30	21,6	22,4	21,9	21,7	20,7	24,0
31	20,3	21,8	18,4	20,7	15,7	23,1
32	20,7	24,3	21,3	23,2	19,8	25,9
33	20,3	23,3	21,3	23,3	25,1	27,9
34	21,4	24,5	20,9	22,8	19,0	26,3
Średnia Mean	20,8	23,0	20,9	22,3	19,8	24,3
35	21,4	21,9	20,9	23,3	19,1	26,3
36	22,5	24,6	22,8	23,6	27,6	34,0
37	22,6	24,5	23,0	23,6	27,8	32,6
38	22,8	24,0	21,9	23,4	19,3	27,1
39	21,4	27,7	21,4	25,8	24,8	34,1
40	23,5	27,4	23,5	24,7	30,8	35,4
41	23,4	28,0	22,1	26,3	22,6	32,2
42	24,1	27,2	24,5	26,6	25,6	33,2
Średnia Mean	22,7	25,7	22,5	24,7	24,7	31,9

Tabela 2. Wilgotność (%) wewnątrz i na zewnątrz brojlerni od 28. do 42. dnia odchowu kurcząt brojlerów

Table 2. The outdoor and the indoor air humidity (%) from 28 to 42 days of rearing

Dzień odchowu Day of rearing	Wilgotność wewnątrz brojlerni Indoor air humidity				Wilgotność na wybiegach Outdoor air humidity	
	grupa I group I		grupa II group II		8 ⁰⁰	13 ⁰⁰
	8 ⁰⁰	13 ⁰⁰	8 ⁰⁰	13 ⁰⁰		
28	71	71	66	66	86	73
29	71	70	77	70	90	76
30	70	67	69	68	82	87
31	69	65	69	62	93	55
32	68	56	61	52	87	75
33	69	59	62	53	84	40
34	69	69	65	56	80	36
Średnia Mean	69,6	65,3	67,0	61,0	86,0	63,1
35	68	66	66	60	77	76
36	73	71	71	74	85	78
37	73	70	70	77	89	80
38	73	75	71	76	88	56
39	75	62	71	62	87	35
40	70	63	60	61	78	38
41	65	63	61	62	73	41
42	65	66	52	62	67	38
Średnia Mean	70,3	67,0	65,3	66,8	80,5	55,3

W drugim okresie odchowu, podczas wysokich temperatur zewnętrznych, które wystąpiły w 6. tygodniu doświadczenia (tab. 1), pobrano w 39. i 42. dniu doświadczenia od 6 ptaków z każdej grupy krew oraz próbki tkanek wątroby i nerek w celu oznaczenia aktywności enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy glutationowej (GPx) oraz poziomu glutationu zredukowanego (GSH) i dialdehydu malonowego (MDA). Dodatkowo, próbki krwi i tkanek zostały pobrane w 35. dniu doświadczenia, tj. przed wystąpieniem wysokich temperatur zewnętrznych w okresie letnim. Krew i próbki pobierano między godziną 13⁰⁰ a 15⁰⁰.

Krew pobrano z żyły skrzydłowej do próbek z antykoagulantem (EDTA). Próbki wirowano przez 5 minut w temperaturze +4°C, przy obrotach 200 g. Oddzielone osocze przechowywano do momentu analiz w temperaturze -20°C. Pozostałe tkanki (wątroba, nerki) płukano w soli fizjologicznej w celu usunięcia krwi, a następnie homogenizowano.

Aktywność SOD oznaczono metodą spektrofotometryczną Rice-Evans i in. (1991). Sposób ten jest oparty na pomiarze hamowania redukcji cytochromu C przez SOD.

Aktywność CAT oceniono, mierząc rozkład H_2O_2 zgodnie z metodą Aebi (1984). Aktywność GPx oszacowano stosując metodę Lück (1962). Aktywność SOD, CAT i GPx w osoczu i tkankach wyrażono odpowiednio w U/ml i U/mg białka. Stężenia GSH mierzone za pomocą metody opisanej przez Ellmana (1959) i wyrażono w $\mu\text{mol/ml}$ dla osocza i $\mu\text{mol/g}$ białka dla pozostałych tkanek. Peroksydację lipidów oceniano przez pomiar stężenia dialdehydu malonowego (MDA), przy użyciu kwasu tiobarbiturowego (TBA) (Ohkawa i in., 1979). Stężenie MDA w osoczu i tkankach wyrażono w nmol/ml i nmol/mg białka dla tkanek. Całkowite stężenie białka w supernatantach wątroby i nerek oznaczano zgodnie z metodą Bradford (1976), stosując albuminę surowicy bydłej jako standard.

Wyniki zostały opracowane statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji, szacując istotności różnic testem Duncana. Do obliczeń statystycznych użyto programu Statistica wersja 10.0 PL (StatSoft Inc., 2011, USA).

Wyniki

Wraz ze wzrostem temperatury odnotowano wzrost aktywności SOD i GPx oraz wzrost poziomu MDA w osoczu krwi w obu grupach (tab. 3). Jednak statystycznie istotne różnice w przypadku SOD odnotowano jedynie w grupie I pomiędzy 35. a 42. (P \leq 0,01) oraz 39. a 42. dniem odchowu (P \leq 0,05), a w przypadku GPx w grupie I pomiędzy dniem 35. a 42. (P \leq 0,05) oraz w grupie II pomiędzy dniami 35. i 39. a 42. (P \leq 0,05). Dodatkowo, w 42. dniu doświadczenia odnotowano statystycznie istotne różnice (P \leq 0,05) w aktywności SOD i GPx pomiędzy badanymi grupami. Statystycznie istotny wzrost poziomu MDA obserwowano w obu grupach w dniach 39. (P \leq 0,05) i 42. (P \leq 0,01) w porównaniu z dniem 35 (tab. 4).

Tabela 3. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych w osoczu
Table 3. Antioxidant enzymes activity in plasma

Dzień odchowu Day of rearing	SOD (U/ml)			CAT (U/ml)			GPx (U/ml)		
	grupa group		SEM	grupa group		SEM	grupa group		SEM
	I	II		I	II		I	II	
35	0,831 A	0,618	0,261	55,57	81,19	14,68	36,60 a	46,80 a	5,34
39	1,152 a	0,743	0,292	63,90	94,52	15,87	41,44	50,35 a	5,76
42	2,015 Bb*	1,123*	0,345	57,56	66,71	13,43	54,79 b *	67,99 b *	4,22

*Wartości w wierszach różnią się statystycznie istotnie (P \leq 0,05).

*Values in rows differ significantly (P \leq 0.05).

a, b – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie (P \leq 0,05).

a, b – values in columns with different letters differ significantly (P \leq 0.05).

A, B – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie wysoko istotnie (P \leq 0,01).

A, B – values in columns with different letters differ highly significantly (P \leq 0.01).

W tabeli 5 przedstawiono wyniki aktywności SOD, CAT i GPx a w tabeli 6 poziom GSH i MDA w wątrobie kurcząt brojlerów. Zarówno w grupie I jak i w II odnotowano wzrost aktywności SOD w 39. i 42. dniu (odpowiednio przy P \leq 0,05 i P \leq 0,01).

W 35. oraz w 39. dniu obserwowano także statystyczne różnice ($P \leq 0,05$) w aktywności SOD pomiędzy badanymi grupami. Statystycznie istotne różnice w aktywności CAT odnotowano w grupie I we wszystkich badanych dniach. Różnice w aktywności CAT pomiędzy grupami ($P \leq 0,05$) odnotowano jedynie w 42. dniu doświadczenia. W 39. dniu odnotowano wzrost, a następnie w 42. spadek aktywności GPx w obu grupach, ale statystycznie istotne różnice obserwowano tylko w grupie I w dniach 35. i 39. ($P \leq 0,05$).

Tabela 4. Poziom GSH i MDA w osoczu
Table 4. The level of GSH and MDA in plasma

Dzień odchovu Day of rearing	GSH ($\mu\text{mol/ml}$)			MDA (nmol/ml)		
	grupa group		SEM	grupa group		SEM
	I	II		I	II	
35	0,284	0,283	0,017	1,345 Aa	1,327 Aa	0,132
39	0,240	0,270	0,018	1,567 b	1,534 b	0,147
42	0,240	0,268	0,016	1,602 B	1,625 B	0,176

a, b – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$).

a, b – values in columns with different letters differ significantly ($P \leq 0,05$).

A, B – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie wysoko istotnie ($P \leq 0,01$).

A, B – values in columns with different letters differ highly significantly ($P \leq 0,01$).

Tabela 5. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych w wątrobie
Table 5. Antioxidant enzymes activity in liver

Dzień odchovu Day of rearing	SOD (U/ml)			CAT (U/ml)			GPx (U/ml)		
	grupa group		SEM	grupa group		SEM	grupa group		SEM
	I	II		I	II		I	II	
35	4,388 a*	3,917 Aa*	0,133	99,85 Aa	105,48	13,64	96,09 a	154,96	25,29
39	4,905 b*	4,477 Bb*	0,144	152,36 b	140,94	15,64	194,40 b	205,53	23,89
42	4,826 b	4,883 Bc	0,167	181,25 Bc*	129,41*	14,67	157,46	167,11	23,67

*Wartości w wierszach różnią się statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$).

*Values in rows differ significantly ($P \leq 0,05$).

a, b – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$).

a, b – values in columns with different letters differ significantly ($P \leq 0,05$).

A, B – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie wysoko istotnie ($P \leq 0,01$).

A, B – values in columns with different letters differ highly significantly ($P \leq 0,01$).

Poziom GSH w 39. dniu w obu grupach był niższy niż w pozostałych dniach ($P \leq 0,01$). Poziom MDA wzrastał w kolejnych dniach pomiaru, osiągając najwyższe wartości w 42. dniu doświadczenia. Statystycznie istotne różnice obserwowano w grupach I i II pomiędzy dniami 35. i 39. a 42. dniem doświadczenia ($P \leq 0,01$). W grupie II odnotowano różnice statystycznie istotne ($P \leq 0,05$) także pomiędzy 35. a 42. dniem badań. W 42. dniu doświadczenia wystąpiły statystyczne różnice ($P \leq 0,01$) w poziomie MDA pomiędzy grupami.

Tabela 6. Poziom GSH i MDA w wątrobie
Table 6. The level of GSH and MDA in liver

Dzień odchowu Day of rearing	GSH ($\mu\text{mol/ml}$)			MDA (nmol/ml)		
	grupa group		SEM	grupa group		SEM
	I	II		I	II	
35	29,88 B	25,59 B	1,98	4,100 A	5,167 A	0,589
39	13,13 A	15,67 A	1,54	5,083 A	6,667 Aa	0,621
42	28,84 B	24,59 B	2,04	8,167 B**	10,417 Bb**	0,670

**Wartości w wierszach różnią się statystycznie wysoce istotnie ($P \leq 0,01$).

**Values in rows differ highly significantly ($P \leq 0,01$).

a, b – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$).

a, b – values in columns with different letters differ significantly ($P \leq 0,05$).

A, B – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie wysoce istotnie ($P \leq 0,01$).

A, B – values in columns with different letters differ highly significantly ($P \leq 0,01$).

Tabela 7. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych w nerkach
Table 7. Antioxidant enzymes activity in kidney

Dzień odchowu Day of rearing	SOD (U/ml)			CAT (U/ml)			GPx [U/ml]		
	grupa group		SEM	grupa group		SEM	grupa group		SEM
	I	II		I	II		I	II	
35	4,412	4,651	0,323	98,67	104,15 a	12,73	57,94	90,10 a	15,98
39	5,194	5,646	0,289	116,65	152,83 b	16,46	85,34*	139,87 Bb*	15,86
42	4,502	5,064	0,351	100,97*	141,12 b*	14,73	72,01	61,55 A	13,64

*Wartości w wierszach różnią się statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$).

*Values in rows differ significantly ($P \leq 0,05$).

a, b – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$).

a, b – values in columns with different letters differ significantly ($P \leq 0,05$).

A, B – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie wysoce istotnie ($P \leq 0,01$).

A, B – values in columns with different letters differ highly significantly ($P \leq 0,01$).

Tabela 8. Poziom GSH i MDA w nerkach
Table 8. The level of GSH and MDA in kidney

Dzień odchowu Day of rearing	GSH ($\mu\text{mol/ml}$)			MDA (nmol/ml)		
	grupa group		SEM	grupa group		SEM
	I	II		I	II	
35	21,33 b	18,56	2,53	2,767 A	4,150 A	0,872
39	11,42 a	12,49	1,78	3,083 A	4,667 A	0,742
42	19,49	17,38	2,13	8,583 B	10,500 B	0,947

a, b – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$).

a, b – values in columns with different letters differ significantly ($P \leq 0,05$).

A, B – wartości w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie wysoce istotnie ($P \leq 0,01$).

A, B – values in columns with different letters differ highly significantly ($P \leq 0,01$).

Aktywność enzymów antyoksydacyjnych oraz poziom GSH i MDA w nerkach kurcząt brojlerów przedstawiono odpowiednio w tabeli 7 i 8. Aktywność SOD wzrosła w obu grupach podczas działania podwyższonej temperatury, jednak przy braku statystycznie istotnych różnic. W 39. oraz 42. dniu doświadczenia odnotowano statystycznie istotny wzrost aktywności CAT w grupie II ($P \leq 0,05$) w porównaniu do dnia 35. Dodatkowo w 42. dniu stwierdzono statystyczne różnice ($P \leq 0,05$) w aktywności CAT pomiędzy grupami. Wyższą aktywności GPx odnotowano w 39. dniu w grupie II w stosunku do wartości z dnia 35. ($P \leq 0,05$) i 42. ($P \leq 0,01$). W 39. dniu obserwowano także różnice ($P \leq 0,05$) w aktywności GPx pomiędzy grupami.

Spadek poziomu GSH w 39. dniu w stosunku do dnia 35. odnotowano w grupie I ($P \leq 0,05$) i II ($P > 0,05$). Najwyższy poziom MDA odnotowano w obu grupach w 42. dniu doświadczenia ($P \leq 0,01$).

Omówienie wyników

Status antyoksydacyjny organizmu jest aktywowany w odpowiedzi na stres oksydacyjny wywołany wysoką temperaturą (Rashidi i in., 2010; Ali i in., 2010). Systemy antyoksydacyjne enzymatyczne i nieenzymatyczne ciała są odpowiedzialne za wychwytywanie i eliminację RFT. Glutation, selen, witamina C i E są głównymi nieenzymatycznymi antyoksydantami, natomiast GPx, CAT i SOD to antyoksydanty enzymatyczne (Sies, 2013). W badaniach własnych, pod wpływem podwyższonej temperatury powietrza, odnotowano wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych w obu grupach. W grupie pierwszej więcej zmian obserwowano w osoczu i wątrobie, natomiast w grupie II – w nerkach. W grupie ptaków utrzymywanych bez wybiegów odnotowano statystycznie istotny wzrost aktywności SOD i GPx w osoczu oraz wzrost aktywności SOD, GPx i CAT w wątrobie. Z kolei w grupie drugiej podwyższona temperatura powietrza spowodowała wzrost aktywności GPx w osoczu, SOD w wątrobie oraz CAT i GPx w nerkach. W wątrobie i nerkach kurcząt z grupy I oraz w wątrobach ptaków z grupy II w warunkach podwyższonej temperatury powietrza odnotowano także spadek poziomu GSH. Badania *in vivo* i *in vitro* wykazały, że stres cieplny może zaburzać równowagę pomiędzy produkcją RFT i systemem antyoksydacyjnym i może również stymulować tworzenie RFT (Mahmud i Edens, 2003; Lin i in., 2006, 2008; Feng i in., 2008). RFT wytworzone w czasie stresu oksydacyjnego wywołanego wysoką temperaturą mogą spowodować uszkodzenia ciała, takie jak peroksydacja lipidów i uszkodzenia oksydacyjne białek i DNA (Halliwell, 1994; Mujahid i in., 2007; Lu i in., 2010).

Peroksydacja lipidów jest jednym z ważniejszych procesów biologicznych związanych z działaniem RFT (Yagi, 1992). Jest to lawinowy, wolnorodnikowy proces utleniania obecnych w lipidach nienasyconych kwasów tłuszczowych, w którym powstają nadtlenki tychże związków. Jednym z wielu związków wytwarzanych w procesie peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych jest dialdehyd malonowy. Poziom MDA w osoczu i tkankach został użyty jako biomarker peroksydacji lipidów. Poziom MDA jest wprost proporcjonalny do stopnia peroksydacji lipidów (Ismail i in., 2013). W badaniach własnych ekspozycja na podwyższoną

temperaturę w czasie odchowu zwiększyła peroksydację lipidów w osoczu, wątrobie i nerkach, wskutek zwiększenia wytwarzania RFT, jak wykazano za pomocą stężenia MDA. Ponadto, kaskadowy proces utleniania obecnych w lipidach nienasyconych kwasów tłuszczowych, w którym powstają nadtlenki tych związków, zapewnia ciągłą dostawę wolnych rodników, inicjujących kolejne reakcje peroksydacji (Yagi, 1992; Deaton i Marlin, 2003).

Podsumowując, obserwowane zmiany w aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz stężeniu glutationu i dialdehydu malonowego w osoczu, wątrobie i nerkach kurcząt brojlerów dowodzą, że pod wpływem podwyższonej temperatury w czasie odchowu zachodzi gwałtowny proces wytwarzania wolnych rodników tlenu, niezależnie od systemu utrzymania. Podwyższona temperatura inicjuje peroksydację lipidów, a system antyoksydacyjny nie radzi sobie z usuwaniem nadmiaru RFT. Jednak temperatura powietrza wewnątrz kurników wyposażonych w wybiegi jest niższa niż w kurnikach bez wybiegów, jak stwierdzono w badaniach własnych, co może poprawiać dobrostan i behavior ptaków i powodować, że ptaki mogą być w mniejszym stopniu narażone na negatywny wpływ podwyższonych temperatur powietrza w okresie letnich upałów.

Piśmiennictwo

- Aebi H.E. (1984). Catalase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*, Bergmeyer H.U. (Ed.), Wiley, New York, vol. 3, pp. 273–286.
- Ali M.N., Qota E.M.A., Hassan R.A. (2010). Recovery from adverse effects of heat stress on slow-growing chicks using natural antioxidants without or with sulphate. *Int. J. Poultry Sci.*, 9 (2): 109–117.
- Barja G. (2002). Rate of generation of oxidative stress-related damage and animal longevity. *Free Radic. Biol. Med.*, 33: 1167–1172.
- Berrong S.L., Washburn K.W. (1998). Effects of genetic variation on total plasma protein, body weight gains, and body temperature responses to heat stress. *Poultry Sci.*, 77: 379–385.
- Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Cahaner A., Pinchasov Y., Nir I., Nitsan Z. (1995). Effects of dietary protein under high ambient temperature on body weight, breast meat yield, and abdominal fat deposition of broiler stocks differing in growth rate and fatness. *Poultry Sci.*, 74: 968–975.
- Deaton C.M., Marlin D.J. (2003). Exercise-associated oxidative stress. *Clin. Tech. Equine Pract.*, 2: 278–291.
- Durackova Z. (2010). Some current insights into oxidative stress. *Physiol. Res.*, 59 (4), p. 459.
- El-Habbak M.M., El-Ghamry A.A., El-Mallah G.M., Younis H.H., El-Komy E.M. (2011). Influence of dietary vitamin E and C supplementation on performance and some metabolic response of broiler chicks subjected to heat stress. *World J. Agric. Sci.*, 7: 258–269.
- Ellman G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archiv. Biochem. Biophys.*, 82: 70–77.
- Feng J., Zhang M.H., Zheng S.S., Xie P., Ma A. (2008). Effects of high temperature on multiple parameters of broilers in vitro and in vivo. *Poultry Sci.*, 87: 2133–2139.
- Halliwel B. (1994). Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence. *Lancet*, 344: 721–724.
- Ismail I.B., Al-Busadah K.A., El-Bahr S.M. (2013). Oxidative stress biomarkers and biochemical profile in broilers chicken fed zinc bacitracin and ascorbic acid under hot climate. *Am. J. Biochem. Mol. Biol.*, 3: 202–214.
- Kulbacka J., Sączko J., Chwiłkowska A. (2009). Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Pol. Merk. Lek.* XXVII, 157: 44–47.
- Lara L.J., Rostagno M.H. (2013). Impact of heat stress on poultry production. *Animals*, 3 (2): 356–369.

- Lin H., Decuyper E., Buyse J. (2006). Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 144: 11–17.
- Lin H., De Vos D., Decuyper E., Buyse J. (2008). Dynamic changes in parameters of redox balance after mild heat stress in aged laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 147: 30–35.
- Lu T., Piao X.L., Zhang Q., Wang D., Piao X.S., Kim S.W. (2010). Protective effects of *Forsythia suspensa* extract against oxidative stress induced by diquat in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 48 (2): 764–770.
- Lück H. (1962). Peroxidase. In: *Methoden der Enzymatischen Analyse*. Verlag Chemie, GMBH Weinheim, pp. 895–897.
- Mahmoud K.Z., Edens F.W. (2003). Influence of selenium sources on age-related and mild heat stress-related changes of blood and liver glutathione redox cycle in broiler chickens (*Gallus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 136: 921–934.
- Mujahid A., Pumford N.R., Bottje W., Nakagawa K., Miyazawa T., Akiba Y., Toyomizu M. (2007). Mitochondrial oxidative damage in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. *Jpn. Poultry Sci.*, 44: 439–445.
- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.*, 95: 351–358.
- Rashidi A.A., Ivari Y.G., Khatibjoo A., Vakili R. (2010). Effects of dietary fat, vitamin E and zinc on immune response and blood parameters of broiler reared under heat stress. *Res. J. Poultry Sci.*, 3 (2): 32–38.
- Rice-Evans C.A., Diplock A.T., Symons M.C.R. (1991). Techniques in free radicals research. In: *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology*, Burdon R.H., van Knippenberg P.H. (Eds), Elsevier, Amsterdam, London, New York, Tokyo.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 15 lutego 2010 r. w sprawie wymagań i sposobu postępowania przy utrzymywaniu gatunków zwierząt gospodarskich, dla których normy ochrony zostały określone w przepisach Unii Europejskiej, Dz.U. 2010 nr 56 poz. 344.
- Sies H. (Ed.) (2013). *Oxidative stress*. Elsevier.
- Simoyi M.F., Van Dyke K., Klandorf H. (2002). Manipulation of plasma uric acid in broiler chicks and its effect on leukocyte oxidative activity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 282: 791–796.
- Yagi K. (1992). Lipid peroxides and exercise. *Med. Sci. Sport Sci.*, 21: 37–40.
- Zhang Z.Y., Jia G.Q., Zuo J.J., Zhang Y., Lei J., Ren L., Feng D.Y. (2012). Effects of constant and cyclic heat stress on muscle metabolism and meat quality of broiler breast fillet and thigh meat. *Poultry Sci.*, 91(11): 2931–2937.

Zatwierdzono do druku 7 XII 2016

RENATA MUCHACKA, EDYTA KAPUSTA, IWONA SKOMORUCHA,
EWA SOSNÓWKA-CZAJKA

Antioxidant enzymes activity and levels of GSH and MDA in plasma, liver and kidney of broiler chickens reared in different systems during the summer production cycle and exposed to high ambient temperature

SUMMARY

The possible oxidative damage in plasma, liver and kidneys was investigated in Ross 308 broiler chickens reared in two housing systems and exposed to high environmental temperature. Chickens were assigned to two groups: I – birds were kept on litter in an indoor system, II – birds were kept on litter with outdoor access. Broilers were fed *ad libitum* standard diets based on concentrates. Birds had free access to

water throughout the experiment. Both groups were managed under uniform environmental (air humidity and temperature, lighting program) and feeding conditions. At the 6th week of rearing birds were exposed to elevated air temperature (during the day) for 7 days. Antioxidant enzyme activities (CAT, SOD, GPx) and GSH and MDA concentrations in plasma, liver and kidney tissues were investigated and were measured 1 d before and during heat exposure. The results showed that oxidative stress could be induced in 6-week-old broiler chickens by high ambient temperature regardless of housing system. Higher ambient temperature initiates lipid peroxidation and antioxidant system cannot cope with the removal of excess ROS.

Key words: rearing system, elevated ambient temperature, oxidative stress, broiler chickens