

ENERGIAHIÁNYOS TAKARMÁNYOZÁS HATÁSA A TENYÉSZBIKÁK ANYAGCSERÉJÉRE

2. Közlemény: A MÁJENZIMEK, A PAJZSMIRIGYHORMONOK, VALAMINT A VÖRÖSVÉRSEJTEK LIPIDPEROXID STÁTUSZÁNAK VÁLTOZÁSA

MÉZES MIKLÓS—GÁBOR GYÖRGY—JANBAZ JANAN—BOZÓ SÁNDOR—
GAÁL TIBOR—RIBICZEINÉ SZABÓ PIROSKA—BÁRÁNY IMRE

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők vizsgálataikat olyan tenyészbika állományban végezték, melyet egyhetes átmenet után energiahiányosan (szükségleti érték 13,36%-a) takarmányoztak négy héten át. Öt héten át, hetente azonos időpontban, vérmintát vettek az állatoktól és meghatározták a vérplazma pajzsmirigyhormon (trijódtironin, T₃, ill. tiroxin, T₄) tartalmát és egyes májenzimek (AST, ALT, gamma-GT és LDH) aktivitását, valamint két alkalommal a vörösvérsejt hemolizátumok malondialdehid-tartalmát és glutation-peroxidáz aktivitását.

A T₃ és T₄ tartalom szabályszerűen változott az energiahiányos és azt követően a szükségletnek megfelelő takarmányozás hatására. A vörösvérsejt hemolizátum malondialdehid-tartalma az energiahiányos takarmányozás hatására nem szignifikánsan, míg a glutation-peroxidáz aktivitás igen jelentősen és statisztikailag is bizonyíthatóan csökkent.

A májenzimek aktivitása az energiahiányos takarmányozás hatására eltérően változott a kísérlet alatt. A gamma-GT és az ALT aktivitása az energiahiány csúcspontjáig mérsékelten ugyan, de emelkedett, majd a szükségleti szintnek megfelelő takarmányozás hatására újra csökkent. Az AST aktivitás értéke folyamatosan csökkent, míg az LDH értékek kezdeti emelkedés után folyamatos csökkenést mutattak.

Vizsgálataikból azt a következtetést vonták le, hogy a pajzsmirigy-hormonok és a lipidperoxid státusz változása nem kötődik egyedi érzékenységhez, míg a májenzimek változása igen. Ennek alapján az a véleményük, hogy a metabolikus státusz megítélésére főként az utóbbiak jöhetnek számításba.

SUMMARY

Mézes, M.-Gábor, Gy.-Janbaz, J.-Bozó, S.-Gaál, T.-Ribiczei, Szabó P.Ms.-Bárány, I.: EFFECT OF ENERGY RESTRICTED FEEDING ON THE METABOLISM OF BREEDING BULLS. 2nd Paper: CHANGES OF THE LIVER ENZYMES, THYROID HORMONES AND THE LIPID PEROXIDE STATUS OF RED BLOOD CELLS

The experiment was carried out with breeding bulls which got energy deficient (13.36 % as requirement) diet four weeks long followed a week adjustment period. Blood samples were taken weekly for five weeks to examine the plasma level of triiodothyronine (T₃) and thyroxine (T₄), activities of liver enzymes (AST, ALT, gamma-GT and LDH) of blood sera and two times for the determination the content of malondialdehyde and activity of glutathione-peroxidase in red blood cell haemolysates.

Changing of T_3 and T_4 were regular during the whole period of investigation. Malondialdehyde content decreased not significantly but the decrease of the activity of glutathione-peroxidase in RBC haemolysates was marked and statistically significant. Activities of liver enzymes have changed differently during the experiment.

Activities of gamma-GT and ALT increased until the top of energy deficient state and decreased after refeeding. Activity of AST decreased continuously but the activity of LDH followed a transitional increase has showed a continuous decrease.

The authors concluded that not the changes of thyroid hormones and lipid peroxide status of plasma and red blood cell but with individual sensitivity, but the changes of activities of liver enzymes. According to the above mentioned findings the activities of liver enzymes might be useful markers for characterisation of breeding bulls based on their metabolic status.

* * *

BEVEZETÉS

Az állattenyésztési gyakorlatban alkalmazott genetikai szelekciós módszerek között elterjedőben vannak a fiziológiai genetikai eljárások. Ezek között több emlős faj esetében (pl. sertés, szarvasmarha) felhívják a figyelmet az állatok különböző okok által előidézett stressz iránti érzékenységére is, amelyek kihathatnak a termékelőállítás hatékonyságára. Német kutatók korábban leírt eredményei alapján ezen stresszorok közé sorolható az energiahányos takarmányozás. Erre kísérleti modellt is kifejlesztettek. A módszert egyúttal genetikai szelekciós eljárásként is javasolták a szarvasmarha-tenyésztés gyakorlatában (*Kalm*, 1991). Korábban (*Gábor és mtsai.*, 1993.) beszámoltunk az energiahányos takarmányozásnak a tenyész bikák szénhidrát-, fehérje- és zsírsanyagcseréjére gyakorolt hatásáról. A felsorolt tényezők mellett a pajzsmirigyhormonok perifériás metabolizmusa stresszhatásra — a korábbi vizsgálatok szerint — igen jelentősen megváltozik, amelyet más hatások mellett a csökkent T_3 és az emelkedett T_4 tartalom jelzett a vérplazmában (*Oberkotter és Rasmussen*, 1992). Ennek okát részben a csökkent monodejodináz aktivitásban (*Van der Hayden és mtsai.*, 1986, *Bartha és mtsai.*, 1989), illetve a csökkent gastrointestinalis jódotszorpcióban látják (*Ingenbleeh és Bechens*, 1973). Ez utóbbi feltételezés a jódots igen jó vízoldhatósága mellett azonban kevésbé valószínű. Az éheztetés, illetve ezen belül az energiahányos takarmányozás hatásait az állati szervezet antioxidáns védőrendszerének működésére, illetve lipidperoxid státuszára eddig főképpen patkányokon vizsgálták (*Wohaieb és Godin*, 1987; *Godin és Wohaieb*, 1988). Kérdő állatokra vonatkozóan kevés adat áll rendelkezésre. Energiahányosan takarmányozott tejelő tehének esetében a szervezetben zajló lipidperoxidációt jelző paraméterek közül egy korábbi vizsgálatban kisebb glutation-peroxidáz aktivitást, de lényegesen magasabb malondialdehyd szintet mértek (*Gaál és mtsai.*, 1993). Juhokban rövid időtartamú éheztetés alatt emelkedett a vérplazma malondialdehyd tartalma, de jelentősen csökkent glutation-peroxidáz aktivitása (*Gaál és mtsai.*, 1993).

A májenzimek diagnosztikai szerepe elsősorban a tejlő tehének anyagforgalmi megbetegedéseiben kiemelkedő (Noro *et al.*, 1990). Tenyészbikák esetében Dhami és Kodagali (1990) vizsgálta az ondóplazma átlagos AST, ALT és LDH aktivitását. Arra a következtetésre jutottak, hogy pozitív szignifikáns korreláció van a májenzimek aktivitása és a sperma mélyhúthetősége, valamint fertilitása között. Kruglyak (1991) a here AST aktivitása és a bika által leadott spermiumkoncentráció között szoros ($r=0,68$) korrelációt talált. Bulla és mtsai. (1984) azt állapították meg, hogy különböző bikák leányutódai között a májenzimek aktivitása a vérplazmában szignifikánsan ($P < 0,05$) különbözik.

Jelen vizsgálat során az állatok pajzsmirigyhormon metabolizmusát, valamint a vörösvérsejt, mint modell sejt típus, lipidperoxid státusza mellett néhány májenzim aktivitásának alakulását vizsgáltuk a vérplazmában, hosszantartó energiahányos takarmányozás hatására.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérleti állatok kezelése a korábbi közleményünkben leírt módszerekkel történt (Gábor és mtsai., 1993). A mintavételek az energiahányos takarmányozás (NEm a szükséglet 13.36%-a) megkezdése előtt, majd egy hetes átmeneti időszakot követően, négy egymást követő héten az energiahányos takarmányozás alatt, továbbá a „visszaetetés” követően egy hét múlva történtek, minden esetben azonos időpontban.

A pajzsmirigyhormonok (trijódothyronin, T_3 ill. thyroxin, T_4) tartalmát specifikus radioimmunoassay (RIA) módszerrel határoztuk meg (Pethes és mtsai., 1978).

A vörösvérsejt hemolizátum lipidperoxid státuszát a lipidperoxidációs folyamatok egyik végtermékének tekintett vegyület, a malondialdehid, mennyiségének mérésével (Placer és mtsai., 1966) határoztuk meg, amelyet a hemolizátum hemoglobin tartalmára vonatkoztattuk. Az antioxidáns védőrendszer tagjai közül a hemolizátum glutation-peroxidáz (EC.1.11.1.9) aktivitást mértük végpontos direkt módszerrel (Matkovics és mtsai., 1988). Az enzimaktivitást is a hemolizátum hemoglobin tartalmára vonatkoztattuk, amelyet cianomethemoglobin módszerrel mértünk (Drabkin, 1946).

A kérdéses májenzimek aktivitásának vizsgálata optimalizált kinetikus (AST, ALT, LDH), illetve kolorimetriás kinetikus (gamma-GT) módszerek segítségével Eppendorf ACP 5040 automatával történt.

Az eredmények statisztikai értékeléséhez Student „t” próbát alkalmaztunk.

EREDMÉNYEK

A vérplazma pajzsmirigyhormon tartalmának változását az 1. táblázatban tüntettük fel. Az eredmények azt mutatják, hogy a T_3 tartalom fokozatosan csökkent, a T_4 tartalom fokozatosan emelkedett az energiahányos takarmányozás hatására. A szükségletnek megfelelő szintű takarmányozást követően

1. táblázat

Tenyészbikák vérplazmájának pajzsmirigyhormon szintje energiahányos takarmányozás hatására
(átlag, \pm s)

Mintavétel(1)	n	Trijód-tironin(2) (ng/ml)	Tiroxin(3) (ng/ml)
Alapérték(4) (0.hét)	51	0,95 \pm 0,20	106,43 \pm 54,89
1.hét	48	0,85 \pm 0,19	119,33 \pm 51,06
2.hét	48	0,85 \pm 0,28	113,76 \pm 53,96
3.hét	48	0,84 \pm 0,23	126,08 \pm 46,77
4.hét	48	0,71 \pm 0,61	112,03 \pm 52,21
5.hét	48	0,82 \pm 0,23	133,01 \pm 56,69
Visszaetetés után(5) (6.hét)	48	0,99 \pm 0,27	78,67 \pm 24,87

Szignifikancia szintek(6): Alap vs. 5. hét(7)

P<0,01

P<0,05

5.hét vs. 6. hét(8)

P<0,01

P<0,01

Effect of energy deficient nutrition on the blood plasma levels of thyroid hormones of breeding bulls (mean, \pm S.D.)

sampling(1), triiodothyronine(2), thyroxine(3), initial(0. week)(4), after refeeding(5), levels of significance(6), initial vs. 5th week(7), 5th week vs. 6th week(8)

2. táblázat

Tenyészbikák vörösvérsejt hemolizátumának malondialdehid tartalma és glutation-peroxidáz aktivitása energiahányos takarmányozás hatására
(átlag, \pm s)

Mintavétel(1)	n	Malondialdehid(2) nmol/g Hb	Glutathion-peroxidáz(3) E/g Hb
Alapérték(4)	53	149,02 \pm 29,02	12,71 \pm 3,42
5. hét(5)	51	135,61 \pm 38,90	9,32 \pm 3,24

Szignifikancia szintek(6):

Alap vs. 5. hét(7)

P<0,05

P<0,001

Effect of energy deficient nutrition on malondialdehyde content and glutathione-peroxidase activity of red blood cell haemolysates (mean, \pm S.D.)

sampling(1), malondialdehyde(2), glutathione-peroxidase(3), initial(4), 5th week(5), level of significance(6), initial vs 5th week(7)

egy hét alatt a T₄ tartalom közel a kiindulási szintre csökkent, a T₃ tartalom ugyanakkor emelkedett. A vörösvérsejt hemolizátum malondialdehid-tartalma az energiahányos takarmányozás hatására nem szignifikánsan csökkent (2. táblázat). A hemolizátum glutathion-peroxidáz aktivitásának csökkenése a vizsgálati időszak alatt igen jelentős és statisztikailag (P<0.01) is bizonyítható volt.

A vizsgált májenzimek aktivitása az energiahányos takarmányozás hatására eltérően változott a kísérlet alatt (3. táblázat). A gamma-GT és az ALT aktivitása az energiahányos csúcspontjáig folyamatosan emelkedett, majd a szabványnak

3.táblázat

A májenzimek plazmabeli szintjének alakulása a kísérlet ideje alatt
(átlag, $\pm s$) (n=52)

Mintavétel(1)	AST U/l	ALT U/l	Gamma-GT U/l	LDH U/l
Alapérték(2) (0.hét)	121,1+/-55,4	27,3+/-8,8	22,6+/-5,1	2241+/-401,5
1. hét	114,6+/-50,4	28,9+/-7,4	24,5+/-5,8	2451+/-503,5
2. hét	109,3+/-43,5	29,9+/-5,9	27,8+/-6,6	2316+/-261,7
3. hét	90,5+/-24,1	29,6+/-5,4	27,3+/-5,9	2260+/-269,8
4. hét	96,8+/-25,4	29,8+/-5,3	30,4+/-7,1	2031+/-336,7
5. hét	90,6+/-22,5	28,9+/-5,6	27,1+/-6,2	1999+/-364,2
Visszaetetés(3) (6.hét)	91,1+/-23,9	25,0+/-3,7	24,6+/-4,9	1942+/-349,6

*Effect of energy deficient nutrition on the activities of liver enzymes of blood plasma in breeding bulls (mean, $\pm S.D.$)
sampling(1), initial(2), refeeding(3)*

megfelelő energiatartalmú takarmányozás hatására újra csökkent, ugyanakkor az AST értékei folyamatosan csökkentek, az LDH aktivitása pedig átmeneti emelkedés után fokozatos, folyamatos csökkenést mutatott. A különbségek azonban az egyes enzimek tekintetében matematikailag nem bizonyultak szignifikánsnak, amelyeknek oka az igen magas egyedi variancia volt.

MEGBESZÉLÉS

Az eredményekből levonható az a következtetés, hogy a pajzsmirigyhormonok perifériás metabolizmusa megváltozik az energiahányos takarmányozás hatására. Erre utal a T_4 tartalom folyamatos és szignifikáns mértékű emelkedése mellett a T_3 tartalom fokozatos csökkenése. Ez a változás a T_4 perifériás deiodinációjának csökkenésére utal, azonos T_4 szekréció mellett. Korábbi, tejelő tehénekkel végzett vizsgálatok során megállapítást nyert az a tény is, hogy az energiahány következtében megváltozik a pajzsmirigyhormonok perifériás deiodinációjának iránya is reverse- T_3 felé, aminek eredményeképpen csökken a T_3 tartalom a vérplazmában (Pethes és mstai., 1985). Az igénynek megfelelő szintű takarmányozást követően viszont jelen vizsgálat eredményei szerint a pajzsmirigyhormonok szintje a vérplazmában igen gyorsan normalizálódott. Korábbi vizsgálatokban hasonló eredményeket kaptak rövid idejű takarmány-megvonás esetén hízóbikáknál, ahol az újraetetés után már 12 órával visszatért a T_4 , illetve T_3 tartalom a kiindulási szintre (Tveit és Larssen, 1983).

A vörösvérsejt hemolízátum malondialdehid-tartalmának csökkenése összefüggésben lehet a perifériás pajzsmirigyhormon metabolizmus aktivitásának csökkenésével is. Patkány esetében megállapították, hogy a csökkent pajzsmirigy működés esetén csökken más táplálóanyagok mellett a zsírok oxidációja is, a májban zajló észterifikáció egyidejű növekedése mellett (Stakkestad és Hund,

1984). Az észterifikált zsírsavak ugyanakkor kevésbé oxidálisan, így a peroxidációs folyamatok iránt is kevésbé érzékenyek. A glutation-peroxidáz aktivitásának csökkenése azzal magyarázható, hogy csökkent a szubsztrát kínálat, így az enzim de novo szintézise is feltehetően csökkent. Ennek hátterében más okok mellett szerepet játszhat a pajzsmirigyhormonok csökkent perifériás metabolizmusa is. Korábbi vizsgálatok eredményei alapján ugyanis az éhezés (energiahiány) kihat a pajzsmirigyhormonok perifériás metabolizmusára is, elsősorban a máj redukált glutation szintjének csökkentésén keresztül (Maddaiah, 1990). Az eredmények alapján levonható az a következtetés, hogy az energiahiányos takarmányozás hatására bekövetkező változások matematikailag értékelhetőek, az egyes vizsgálati időpontokban mért egyedi különbségek nem számottevőek, így potenciális jelzőfaktorai lehetnek ugyan az éhezés, mint stresszor által előidézett hatásoknak, de nem az azokban fennálló egyedi különbségeknek. Ennek alapján a vizsgálatok célkitűzéseiben megfogalmazott célok elérésére nem, vagy csak kevésbé alkalmasak.

A vizsgált májenzimek plazmabeli aktivitásának változása során az ALT esetében az éhezés csúcspontja és a szükségletnek megfelelő takarmányozás után mért értékek között szignifikáns ($P < 0,05$) különbség tapasztalható. Az enzim aktivitása azonban az élettani értéktartományt (6,9–35,3 U/l) nem haladja meg (DVG, 1977), így ez kóreltani szempontból nem, csak statisztikailag értékelhető. Az egyedi különbségek azonban jelentősek, így potenciálisan felhasználható az egyedi érzékenység felmérésére.

A kísérlet ideje alatt az AST esetében az első három hétben a normál értéknél (< 60 U/l, DVG, 1977) némileg magasabbakat találtunk, ami fokozatosan csökkent az energiahiány előrehaladtával. Ezt igazolja az a tény is, hogy az első három héthez viszonyítva szignifikánsan alacsonyabb értékeket tapasztaltunk a 4.–7. héten ($P < 0,05$). Nagyon hasonló a tendencia az LDH esetében is, azzal az eltéréssel, hogy az utolsó 3 hét aktivitási értékei szignifikánsan kisebbek ($P < 0,05$) az első hetekben mértékhez képest. Feltűnő ugyanakkor, hogy valamennyi érték > 2000 , holott az irodalom a normál értéket (igaz rendkívül nagy eltérésekkel) ennél lényegesen alacsonyabban (308–938 U/l) határozza meg (Fraser, 1986). Az egyedi különbségek a fentjelzett enzimek esetében is jelentősek.

A gamma-GT esetében az enzim aktivitási értékek az 5. hétig növekvő, a 6.-on csökkenő, majd a szükségletnek megfelelő takarmányozásra való visszatérés után ismét csökkenő tendenciát mutatnak. Ennek megfelelően a statisztikai analízis csak az 5. és 6. valamint az 5. és 7. heti eredmények esetében ugyanúgy szignifikáns különbséget igazoltak, mint az 1. és 5., illetve az 1. és 6. hét esetében. Mivel a mért értékek az élettanilag normálnak tekintett szintet (< 80 U/l) nem haladták meg, ezért a változások — akárcsak az AST-nél — biológiailag nem, csak statisztikailag jelentősek. A statisztikai jelentőség mellett egyedi érzékenységre utaló lehet a relatíve magas egyedi variancia az egyes mintavételi időpontokban.

vizsgálataink eredménye alapján úgy tűnik, hogy a pajzsmirigyhormonok és a lipidperoxidációs állapot változása nem kötődik egyedi érzékenységhez, a vizsgált májenzimek változásai azonban igen. Ennek alapján az a véleményünk, hogy a metabolikus állapot/érzékenység megítélésére ez utóbbiak jöhetnek számításba.

IRODALOM

- Bartha T.–Rudas P.–Fekete S.–Pethes G. (1989): *Acta Vet. Hung.*, 37, 241–246.p.
- Bulla, J.–Cibula, M.–Sarvasova, E.(1984): *Polyohospodarstvo*, 30. 841–848.p.
- Dhami, A.J.–Kodagali, J.B.(1990): *Theriogenology*, 34. 853–863.p.
- Drabkin, D.L.(1946): *J. Biol. Chem.*, 164, 703–708.p.
- DVG(1977): Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft: Arbeitswerke in der Laboratoriumsdiagnostik. H. Marseille Verlag, München, 83–102.p.
- Fraser, C.M.(edit)(1986):*The Merck Veterinary Manual. Sixth Edition Merck and Co., Inc. Rahway, IV. J., U.S.A.*
- Gaál T.–Karsai F.–Mézés M.–Ribiczeyné Sz. P.–Brydl E.(1990): In: Matkovic B., Karmazsin L., Kalász H. szerk: Radicals, ions and tissue damage. Akadémiai Kiadó, Budapest, 95–98.p.
- Gaál T.–Mézés M.–Miskuczka O.–Ribiczeyné Szabó P. (1993): *Res. Vet. Sci.*, 55, 104–107.p.
- Gábor Gy.–Bozó S.–Mézés M.–Ribiczeyné Szabó P.(1993): *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 42. 4. 337–347.p.
- Godin, A.V.–Wohaieb, S.A.(1988): *J. Free Rad. Biol. Med.*, 5, 165–176.p.
- Ingenbleeh, Y.–Bechens, C.(1973): *Am. J. Clin. Nutr.*, 26, 1323–1330.p.
- Kalm, E.(1991): Züchterische Aspekte zur Verbesserung der Fruchtbarkeit und Eutergesundheit beim Rind. Betriebs. Mitt., Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein., 430. 3–14.p.
- Kruglyak, A.P.(1991): Nauch. Konf. Popul. Gen., Kiev, 29–30.p.
- Maddaiah, V.T.(1990): *FASEB J.* 4, 1513–1518.p.
- Matkovic B.–Szabó L.–Sz.Varga I.(1988): *Laboratóriumi Diagnosztika*, 15, 248–250.p.
- Noro, A.–Itoi, Y.–Kigure, Y.–Tomita, T.–Itagaki, M.–Higuti, A.–Yosida, M.–Onai, M.(1990): *J. Jap. Vet. Med. Assoc.*, 3. 181–184.p.
- Oberkotter, L.V.–Rasmussen, K.M.(1992): *J. Nutr.*, 122, 435–441.p.
- Pethes G.–Losonczy S.–Rudas P.(1978): *Magy. Áo. Lapja*, 33, 177–182.p.
- Pethes G.–Bokori J.–Rudics P.–Frenyó V.L.–Fekete S.(1985): *J. Dairy Sci.*, 68, 1148–1154.p.
- Placer, Z.A.–Cushman, L.–Johnson, B.C. (1966): *Anal. Biochem.*, 16, 359–364.p.
- Stakkestad, J.A.–Hund, H.(1984): *Biochim. Biophys. Acta*, 793, 1–9.p.
- Tveit, B.–Larssen, F.(1983): *Acta Endocrinol.*, 103, 223–226.p.
- Van der Hayden, J.T.M.–Docter, R.–Van Toor, H.–Wilson, J.H.P.–Kennenmann, G.–Krenning, E.P.(1986): *Am. J. Physiol.*, 251, E156–E163.p.
- Wohaieb, S.A.–Godin, A.V.(1987): *Diabetes*, 36, 169–173.p.

Érkezett: 1994. március
 Szerzők címe: Mézés M.: Gödöllői Agrártudományi Egyetem
 Authors' address: Gödöllő University of Agricultural Sciences H-2103 Gödöllő
 Gábor Gy.–Bozó S.–Bárány I.:
 Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
 Research Institute for Animal Breeding and Nutrition,
 H-2053 Herceghalom
 Janbaz, J.–Gaál T.–Ribiczeyné Szabó P.: Állatorvos-tudományi Egyetem
 University of Veterinary Science,
 H-1400 Budapest, POB. 2.