SZENT ISTVÁN EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS KÖRNYEZETTUDOMÁNYI KAR

A TOJÁS ANTIOXIDÁNS KAPACITÁSÁNAK MÉRÉSE JAPÁNFÜRJBEN

Doktori értekezés

Lengyel László

Gödöllő

2010

A doktori iskola

megnevezése: **ÁLLATTENYÉSZTÉS-TUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

tudományága: **Állattenyésztés-tudomány**

vezetője: **Dr. Mézes Miklós**
egyetemi tanár, az MTA doktora
Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék

témavezető: **Dr. Kiss Zsuzsanna**
egytemi docens
Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Állattudományi Alapok Intézet, Állatélettani és Állat-egészségtani Tanszék

_____ _____

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés……... 5
1.1.Vizsgálataink célja…… 9
2. Irodalmi áttekintés……. 11
2. 1. Reaktív oxigén-részecskék, szabad gyökök és a peroxidáció mechanizmusa ……...11
2. 2. A szabad gyökök élettani hatásai…… 13
2. 3. A lipidperoxidációs folyamatok kialakulása……..14
2. 4. Oxidatív stressz ……16
2. 5. Peroxidációs folyamatok hatása a szervezetre ……..17
2. 6. Antioxidáns védelmi rendszer……18
2. 6. 1. Nem enzimatikus védelmi rendszer……...20
2. 6. 2. Vitamin eredetű antioxidánsok…….. 20
2. 6. 2. 1. Az α-tokoferol……... 21
2. 6. 2. 1. 1. Az α-tokoferol képe és vegyi leírása…..21
2. 6. 2. 1. 2. Az α-tokoferol szerepe az anyagcserében……22
2. 6. 2. 1. 3. Az E-vitaminhiány tünetei…….22
2. 6. 2. 1. 4. Az α-tokoferol antioxidáns szerepe….. 23
2. 6. 2. 2. A karotinoidok……... 24
2. 6. 2. 2. 1. A karotinoidok biológiai hatásai……26
2. 6. 2. 2. 2. A karotinoidok antioxidáns hatása…….27
2. 6. 2. 3. A C-vitamin (aszkorbinsav) ……..27
2. 6. 2. 3. 1. Kémiai jellemzői……28
2. 6. 2. 3. 2. A C-vitamin előfordulása és hatása…... 29
2.6.2.3.3. A C-vitamin antioxidáns hatása……30
2. 6. 3. Enzimatikus antioxidáns védelmi rendszer……31
2. 6. 3. 1. A glutation – peroxidáz enzimcsalád…….31
2. 6. 3. 2. A szelén……..33
2. 6. 3. 2. 1. A szelén élettani hatása……..33
2. 6. 3. 2. 2. A szelén antioxidáns és egyéb hatásai... 34
2. 6. 4. A madárembrió antioxidáns rendszere…….. 34
2. 6. 5. Az antioxidánsok immunstimuláns hatása…… 35

3. Anyag és módszer……..37
3. 1. A kísérletek bevezetése……..38
3. 2. Az alkalmazott biokémiai módszerek……40
3. 2. 1. A vizsgálatok során alkalmazott HPLC metodikák……...40
3. 2. 2. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) meghatározás (plazma és szövetmintára)……. 41
3. 2. 3. Szelén vizsgálati metodika teljes vér és szövetmintákban… 42
3.2.4. Malondialdehid-tartalom mérése:…… 42
3. 3. Statisztikai módszerek……... 43
3. 4. A kísérletek leírásai……44
3. 4. 1. 1. kísérlet……..44
3. 4. 2. 2. kísérlet……..45
3. 4. 3. 3. kísérlet……..46
3. 4. 4. 4. kísérlet……..47
4. Eredmények és megvitatásuk……51

4. 1. Az 1. kísérlet eredménye és megvitatása……... 51
4. 2. A 2. kísérlet eredményei…… 57
4. 3. A 3. kísérlet eredményei…… 62
4. 4. A 4. kísérlet eredményei…… 71
5. Új tudományos eredmények…….. 75
6. Összefoglalás……. 77
7. Summary…… 79

I. melléklet: Irodalomjegyzék
II. melléklet: A kísérletek eredményei összefoglaló táblázatokban

1. BEVEZETÉS

Az oxigén a földi élet alapfeltétele; jelenléte az aerob szervezetek számára nélkülözhetetlen. Bizonyos esetekben azonban veszélyezteti is az élő szervezeteket, hiszen az oxigénből felszabaduló reaktív oxigén-részecskék károsíthatják is a sejtek és szövetek szerkezetét és működését (Király et al., 1993). Az utóbbi évtizedekben egyre többet foglalkoznak mind a humán, mind az állatorvosi kutatómunkában a szabad gyökök károsító hatásaival, valamint a szervezet antioxidáns védelmi rendszerének vizsgálatával. Számos betegség (érelmeszesedés, idegrendszeri betegségek, daganatos betegségek, autoimmun betegségek stb.) kóroka az oxidatív stressz eredménye (Lapenna et al., 1998; Lachance et al., 2001). A szabad gyökök által indukált folyamatok haszonállataink felnevelése, tartása során is nyomon követhetők. Lovakban a fizikai megterhelésre jelentkező változások számos vizsgálat tárgyát képezik. A kólikás megbetegedések során kialakuló intestinalis ischaemia-reperfusio során számos olyan folyamat indulhat meg, amely a szövetek elhalását, sokkos állapotot idéz elő (Balogh et al, 2001).A csirkék embrionális fejlődésével kapcsolatban megállapítható, hogy az egyes szervekben a különböző típusú antioxidánsok eltérő koncentrációban vannak jelen (Gaál et al. 1995).

Antioxidánsoknak nevezzük azokat az anyagokat, amelyek védik a szervezetet az oxidációs folyamatok következtében keletkezett szabad gyökök vagy egyéb oxidáló anyagok káros hatásától. A szervezet antioxidáns kapacitása a káros oxidációs hatásokkal szembeni védekező képességet jelenti. Az antioxidáns kapacitás a rendelkezésre álló antioxidáns vegyületek mennyiségének, másrészt a szervezetet ért oxidatív terhelés mértékének a függvénye (Hornsby, 1983).

A természetes kis molekulatömegű antioxidánsok − így a karotinoidok, az A-, E- és C-vitaminok, valamint a szelén − fontos szerepet töltenek be a szaporodás-biológiai, termelési folyamatok fenntartásában. Az állatok felnevelése és termelése során számos olyan környezeti stresszhatás éri a szervezetet, amelyek intra- és extracelluláris oxigén eredetű szabad gyökök keletkezését eredményezik (Mézes et al., 1997). Az antioxidáns vegyületek fő funkciója ezen szabad gyökök eltávolítása, illetve mennyiségük „fiziológiás szinten tartása”, amely más hatásaik mellett az immunrendszer „támogatásában” is megnyilvánul (Britton,1995a; Chew,1996).

Többkomponensű rendszerekben az antioxidáns vegyületek egymás szinergistáiként működnek. A szelén (Se), az E-vitamin és a ß-karotin olyan antioxidáns vegyületek, amelyek egymással kölcsönhatásban vesznek részt a szervezet élettani és detoxikáló folyamataiban (Frankel, 1998). Táplálkozásélettani és takarmányozásélettani vonatkozásban különösen nagy ezeknek a molekuláknak az antioxidáns szerepe. Ez a hatás akkor is megnyilvánul, ha szintetikus formában állnak rendelkezésre, de akkor is, ha természetes mátrixban veszi fel a szervezet ezeket az anyagokat (Surai, 2002a).

Kísérleteinkben japánfürjek takarmányát szelénnel, E-vitaminnal, C-vitaminnal és ß-karotinnal egészítettük ki. A szelén antioxidáns hatású mikroelem, amelynek számos hatása ismert. Elsődleges hatása abban van, hogy a szervezet biológiai antioxidáns védőrendszerében lényeges glutation-peroxidáz enzim alkotórésze, de emellett az állati szervezetben számos szeléntartalmú fehérje ismert, amelyek száma ma már közel 70 (Gladyshev és Kryukov, 2001). Schwartz és Foltz (1957) bizonyította, hogy a szelén nélkülözhetetlen takarmány-alkotórész. Kísérleteikben megfigyelték, hogy szelén-adagolással megakadályozható az élesztőgombát tartalmazó tápon nevelt patkányok májnekrózisa. Még ugyanebben az évben (Eggert et al., 1957) bizonyították sertésben is, hogy a májnekrózis szelén-adagolással megelőzhető. A takarmányban fokozatosan növelt szeléntartalom korábbi irodalmi adatok alapján lineárisan emelte mind a tojásfehérje, mind a tojássárgája szeléntartalmát (Davis és Fear, 1996). A szelént a takarmányokhoz

szervetlen (nátrium-szelenit), illetve szerves (szeleno-metionin, szeleno-cisztein) formában egyaránt adagolják. A szintetikusan is előállított, szerves kötésű szelén jó hatásfokkal alkalmazható takarmány-kiegészítőként. Tekintettel azonban arra, hogy a szeleno-metionin előállítása költséges, újabban biotechnológiai módszereket is alkalmaznak a szerves kötésű szelén előállítására (Oldfield, 1997). A leggyakrabban alkalmazott eljárás szerint az élesztőgombák (Saccharomyces cerevisiae) szaporítása során a táptalajhoz szervetlen szelént adagolnak, amelyet a gombák nagyrészt szeleno-metionin formájában testükbe építenek. A szeleno-metionin biológiailag aktív szelénforrás a szeleno-proteinek képződéséhez (Mahan, 1995), azonban a glutation-peroxidáz enzim szelenociszteint tartalmazó aktív centrumának kialakítása, azaz a glutation-peroxidáz aktivitás növelése szempontjából a szelenit forma mérsékelten ugyan, de biológiailag hatékonyabbnak tekinthető (Petrovič et al., 2006). Etetési kísérletekben azt is igazolták, hogy a szerves kötésben lévő szelén nagyobb hatékonysággal épül be a szövetekbe, mint a szervetlen (Chavez, 1989; Parsons et al. 1985).

Az E-vitamin létezését Evans és Bishop állatkísérleteik során fedezték fel 1922-ben. Bizonyították, hogy a búzacsírában, salátában és a lucernalisztben olyan anyag van, amely megakadályozza a vitaminokkal kiegészített félszintetikus takarmányon nevelt vemhes patkányokban a magzatok pusztulását és felszívódását. Ezt az anyagot (Sure, 1924 ;Evans és Bishop, 1922) E-vitaminnak nevezték el.

Mai felfogásunk szerint az E-vitamin nyolc különböző biológiai aktivitású tokoferol és tokotrienol izomer gyűjtőneve (Horwitt, 1991).

A takarmányok E-vitamin-kiegészítésének hatását széles körben vizsgálták, és több állati eredetű termékben, így a brojlercsirke húsában is leírták kedvező lipidstabilizációs hatásait (Ajuyah et al., 1993). „Ross” genotípusú brojlercsirkék takarmányában a tonhalolaj mellett alkalmazott nagy mennyiségű (160 mg/kg takarmány) E-vitamin-kiegészítés megelőzte a szövetek α-tokoferol koncentrációjának csökkenését, és normalizálta vagy fokozta a lipidperoxidációs folyamatokkal szembeni ellenállást (Surai és Sparks, 2000). A takarmány α-tokoferol-kiegészítése növelte az α-tokoferol koncentrációját az izomszövetben és erősítette annak antioxidáns státuszát (Guidera et al., 1997; Weber és Mézes, 2001). Az E-vitamin a hús színének stabilitását is javítja az oximioglobin autooxidációjának gátlása következtében (Yin et al., 1993; Chan et al., 1996), valamint fokozza a lipidek oxidatív stabilitását a tárolás során (Maraschiello et al., 1998). A tojók takarmányozása nagymértékben befolyásolja mind a fejlődő embrió, mind a kikelt csibe lipidperoxidációs folyamatait. A tyúkok takarmányának tokoferol-kiegészítése növeli a tojásban (Cherian et al., 1996; Pál és mtsai, 2002; Kovács et al., 2003), illetve a csibe májában és plazmájában a tokoferol koncentrációt (Cherian et al., 1997).

A tojás természetes formában, szerves kötésben tartalmaz számos olyan táplálóanyagot, amelyek a humán táplálkozásban is nélkülözhetetlenek. Táplálóanyag, vitamin- és ásványianyag-tartalma nagymértékben befolyásolható takarmányozással és a tartástechnológia eszközeivel (Kerti és Bárdos, 1997). Ezeknek a módszereknek az alkalmazásával olyan adalékanyagokkal gazdagíthatjuk a tojást, amelyek a humán táplálkozásban is létfontosságúak (Se, E-vitamin, C-vitamin, ß-karotin), táplálékainkban ugyanakkor általában csak kis mennyiségben, vagy rosszul hasznosítható formában fogyasztjuk azokat. A tojást nemcsak szaporító képletként, funkcionális élelmiszerként, hanem lehetséges terápiás célra is javasolható táplálékként tarthatjuk számon (Surai és Sparks, 2001). Ha a tojást takarmány-kiegészítés útján antioxidáns tulajdonságú vegyületekkel (pl. Se, E-vitamin, C-vitamin, illetve ß-karotin) dúsítjuk, akkor egyrészt a szervezet antioxidáns rendszerét erősítjük, másrészt a tojásnak mint nagy telítetlen zsírsav

tartalmú, tehát az oxidációra fokozottan érzékeny, állati eredetű élelmiszernek az eltarthatóságát is javítjuk.

A tojás az ember egyik „legértékesebb” tápláléka: fontos fehérjeforrás, számos ásványi anyagot és vitamint tartalmaz alacsony energiabevitel mellett. A tojás összetételét nagymértékben a takarmány és az abban található adalékanyagok befolyásolják (Bárdos et al., 1996). A tojásban a vitaminok és a mikroelemek felhalmozhatók és raktározhatók.

Ha azonban a tojás túlzottan nagy mennyiségben tartalmaz hosszú láncú többszörösen telítetlen zsírsavat, akkor a kikelt csibe szöveteiben alacsonyabb lesz a tokoferol-tartalom (Cherian et al., 1997), amely kedvezőtlen irányba befolyásolja az oxidatív folyamatokat. Ezért fontos a szövetek tokoferol-státuszának ismerete a korai posztnatális életben, hogy biztosítani lehessen a lipidperoxidáció elleni védelmet (Cherian és Sim, 2003).

Az E-vitaminon kívül egyéb természetes antioxidánsok alkalmazásával is számos tanulmány foglalkozott. A baromfi szövetei többszörösen telítetlen zsírsavakban gazdagok, a takarmányok magas PUFA-tartalma pedig tovább növeli az állat szöveteiben ezeknek a zsírsavaknak a koncentrációját. Ennek következtében fokozódik a lipidek peroxidációja (McKay és Kings, 1980; Molenaar et al., 1980), amely az állat egészségére és az állati termék minőségére egyaránt káros hatást gyakorol, valamint jelentősen csökken a szövetek E-vitamin-tartalma. A takarmánnyal a szervezetbe juttatott természetes és mesterséges antioxidánsokkal mérsékelhető a lipidperoxidációs folyamatok intenzitásának a fokozódása. A mesterséges antioxidánsok alkalmazásakor tapasztalt kedvezőtlen hatások egyre inkább a természetes antioxidánsokat helyezik előtérbe − mind a biológiai rendszerek, mind a takarmányok, mind pedig az élelmiszerek káros oxidatív folyamatainak csökkentésében (Gurr, 1999b). Jól ismert, hogy a tokoferolok és a tokotrienolok hatékonyan gátolják a biológiai rendszerek és az élelmiszerek lipidperoxidációs folyamatait (Kamal-Eldin és Appelqvist, 1996).

Az E- és C-vitaminokon túl a ß-karotin is fontos szerepet tölt be egyes élettani és termelési folyamatokban. Az élő természetben több mint 600 különböző karotinoid forma fordul elő, ezek közül 50 rendelkezik A-provitamin aktivitással, azaz képes retinollá alakulni. A karotinoidokra jellemző, hogy a molekulán lévő kettős kötések száma határozza meg a vegyület antioxidáns potenciálját (Di Mascio és Kaiser, 1989).

A ß-karotin kettős szerepet tölt be a szervezetben: egyrészt antioxidáns, így gátolja a lipidperoxidációs folyamatokat, másrészt A-vitamin-prekurzor, amelynek révén csökkenti a tumorképződést és javítja a tojások keltethetőségét (Kerti és Bárdos, 1997). Az általános ellenálló-képesség javítása mellett hatást gyakorol a T- és B-lymphociták aktiválási folyamataira is.

A karotinoidok szervezetre gyakorolt védő hatása antioxidáns aktivitásukon (Halvey és Sklan, 1987; Burton, 1989), immunstimuláns (Hughes et al., 1997; Fernandes, 1997), valamint antimutagén (antikarcinogén) hatásukon (Mathews, 1982; Byers és Perry, 1992; Peto et al., 1981) keresztül valósul meg. A karotinoidok szinglet oxigén atomok (‚O’) befogására (fizikai, illetve kémiai quenching) és ennek következtében a lipidperoxidáció gátlására is képesek.

Az E-vitaminnal szinergista karotinoidok szintje is jelentősen befolyásolható takarmányozással (Belyavin és Marangos, 1989). Woodall és mtsai (1996) a karotinoid-kiegészítés α-tokoferol-szintre és a szövetek lipidperoxidációval szembeni érzékenységére gyakorolt hatását hím Leghorn csirkékben tanulmányozták. Az embrionális fejlődés közben fokozódik a májban a karotinoidok felhalmozódása (Surai et al., 1999). Surai és Kuklenko (2000) kísérletükben azt is megállapították, hogy a szülőpár-tojók takarmányához adott, a szükségletet jelentősen meghaladó mennyiségű A-

vitamin-kiegészítés csökkentette a kikelt csibe májában az antioxidáns védelem hatékonyságát, fokozva ezzel a lipidperoxidációval szembeni érzékenységet.

Az aszkorbinsav biológiai hatásmechanizmusa oxidációs-redukciós képességével függ össze. A C-vitamin (aszkorbinsav) erőteljes redukáló kapacitása révén direkt antioxidáns hatásán kívül részt vesz az E-vitamin és a glutation (gyökfogó hatással rendelkező tripeptid) oxidációt követő regenerálásában is (Bendich, 1992). A sejtek biokémiai folyamataiban fenntartja a szervezet redukált állapotát, valamint hidrogéndonorként szerepel. Emellett aktiválja a trombint, serkenti a T-limfociták anyagcseréjét, valamint csökkenti a táplálékban lévő egyes anyagok karcinogén hatását oly módon, hogy az emésztőrendszerben megakadályozza a nitrozoaminok keletkezését (Stocker és Frei, 1991).

A szelén, az E-vitamin és a ß-karotin együttes hatásának felismerése az utóbbi 40 év kutatásainak eredménye. A szelén, az E-vitamin és a ß-karotin legfontosabb élettani hatása az, hogy együttesen hatnak a szervezet antixidáns állapotára. Ismeretes, hogy a szervezetben lejátszódó anyagcserefolyamatok, valamint a szervezetet ért környezeti hatások következtében számos toxikus anyag keletkezik; ezek: az egyatomos oxigén, többféle szuperoxid, hidrogén-peroxid és a különböző hidroxil és egyéb gyökök. Fokozódik az intenzíven oxidáló tulajdonságú anyagok termelődése, ha a takarmány túlzott mennyiségben tartalmaz telítetlen zsírsavakat, illetve ha a takarmány zsíranyagait antioxidáns szerekkel nem védik (Pál et al., 2002).

Az antioxidáns vitaminok mennyisége hatással van a glutation-peroxidáz enzim működésére. Az E-vitamin növeli a foszfolipid glutation-peroxidáz aktivitását a spermiumokban (Surai et al., 1999); a gasztrointesztinális GSH-Px aktivitására azonban nem gyakorol szignifikáns hatást a takarmánnyal bevitt E-vitamin-tartalom (Vilas et al., 1976). Li és mtsai (1996) szerint a klasszikus glutation-peroxidáz aktivitását az E-vitamin feltehetően az enzim mRNS-ének poszttranszkripciós stabilizációja révén növeli.

1.1.Vizsgálataink célja

Kísérleti munkánk alapvető célja az emelt antioxidáns tartalmú japánfürj tojás tulajdonságainak vizsgálata volt. A munka folyamán négy különálló kísérletet értékeltünk ki, melyek a következő célkitűzések alapján kerültek beállításra:

- a szelén, E-vitamin és ß-karotin koncentrációjának növelése japánfürjek tojásában;
- az antioxidáns kiegészítők mekkora koncentrációja, és mely összetétele eredményezi a vizsgált anyagok legmagasabb szintű raktározását;
- a tojásban megnövelt antioxidáns tulajdonságú anyagok milyen hatással vannak a tojások keltethetőségére;
- a megnövelt antioxidáns tartalmú tojásból – mint természetes mátrixból − milyen mértékben hasznosulnak az antioxidáns vegyületek emlős állatok szervezetében.

A kísérletek során cél volt annak meghatározása is, hogy a különböző koncentrációjú és összetételű antioxidáns vegyületek milyen hatást gyakorolnak a tojás antioxidáns kapacitására.

Valamennyi kísérletünk elrendezését úgy végeztük, hogy a kísérletek folyamán vett vérminták, illetve tojásminták laboratóriumi analízisével választ kapjunk hipotéziseinkre.

Nevezetesen:

- A szintetikus formában takarmányba kevert antioxidáns tulajdonságú vegyületek milyen koncentrációban halmozódnak fel a fürjek vérplazmájában és a tojásban.
- Az antioxidáns vegyületek közül melyik és milyen koncentrációban raktározódik a fürjek vérében, tojásában és szerveiben, összevetve a takarmányba kevert antioxidáns vegyületek mennyiségével.
- Az általunk vizsgált antioxidáns vegyületek közül mikor érhető el az optimális élettani hatás: ha egyidejűleg adagolunk valamennyi antioxidáns kiegészítőt, vagy ha a kiegészítők különböző kombinációját keverjük a takarmányba.
- Vizsgálataink arra is kiterjedtek, hogy a tojás sárgájának antioxidáns vegyületekkel való módosítása milyen hatással van a tojások keltethetőségére és a kikelt madár vitalitására.
- Hogyan történik rágcsálókban az antioxidánsokkal kiegészített takarmány elfogyasztását követően a vizsgált antioxidánsok hasznosulása.
- A kísérleteink során alkalmazott laboratóriumi mérőmódszerek, a nemzetközi irodalom által javasolt metodikák alkalmasak-e az általunk mért vegyületek és hatásuk kimutatására, biztosítják-e a kísérletek megbízhatóságát és reprodukálhatóságát.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2. 1. Reaktív oxigén-részecskék, szabad gyökök és a peroxidáció mechanizmusa

A szabad gyökök képződése az élő szervezetben természetes élettani folyamat (Asmus és Bonifacic, 2000). Az aerob szervezetek csak oxigén jelenlétében képesek anyagcserét folytatni, e létfontosságú elem ugyanakkor a toxikus szabad gyökök prekurzora is (Fodor et al., 2001). Sejtjeink az anyagcsere során tápanyagokat égetnek, az itt lezajló oxidáció melléktermékeiként is keletkeznek szabad gyökök. Hatásuk bizonyos esetekben sejtkárosító. (Balogh et al., 2001). A szabad gyökök a betegség elleni védekezés során is szerepet kapnak, például a vírusok és baktériumok elpusztításakor a sejt egyes részecskéi maguk képezik az oxidánsokat. A vírusfertőzésekkor jelentkező általános tünetekért is részben ők a felelősek (Varga et al., 2008). A szabad gyökök szerepe a régi, elöregedett sejtek kiválasztásában és elpusztításában is nélkülözhetetlen (Sies, 1991). Az oxigén szabad gyökök indukáló hatása a programozott sejthalál (apoptózis) folyamatában is bizonyított (Gouazé et al., 2001).

A szervezeten belül az idegen anyagok bevitelével ún. oxidatív stressz keletkezik, aminek a lényege, hogy a metabolikus átalakítás (detoxikáció) során reaktív oxigénmolekulák (szabad gyökök) szabadulnak fel. Ezek igen nagy affinitással kötődnek a szervezet makromolekuláihoz (DNS, RNS, fehérje- és foszfolipid-molekulákhoz), aminek eredményeként ezek szerkezete károsodik, denaturálódik és funkcióra képtelenné válik. A reaktív oxigén gyökök egyéb fontos hatása is ismert, így például szükségesek a sejtek osztódásához (Polezhaev és Volkov, 1981), illetve differenciálódásához (Cheeseman et al, 1986), továbbá az ösztrogén-indukálta transzkripciós változásokhoz (Perillo et al, 2008), vagy a prosztaglandinok bioszintéziséhez nélkülözhetetlen ciklooxigenáz aktivációja során (Eling et al., 1990). A szabad gyökök folyamatosan képződnek a szervezetben a különböző anyagcsere-folyamatok során, amelyeket az egészséges szervezet közömbösít. A takarmánnyal és táplálékkal olyan anyagok juthatnak a szervezetbe, melyek szabad gyökképződést okoznak, ilyen módon károsíthatják a makromolekulákat. A szabad gyökök keletkezése nem feltétlenül káros a szervezetben, hiszen ezek segítségével tudják a makrofágok a bekebelezett baktériumokat elpusztítani (Sies, 1991).

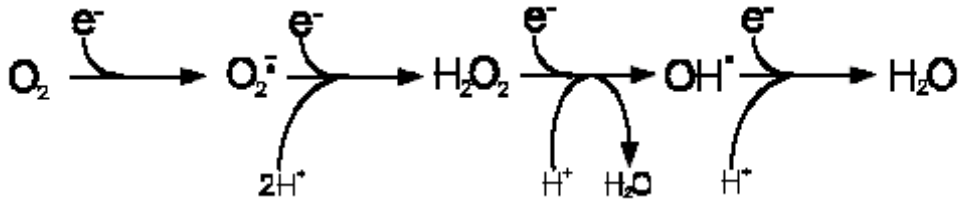
A biológiai oxidáció egyik alapfolyamata az oxigén-molekula vízzé történő tetravalens redukciója, melyet citokróm-oxidáz katalizál. A citokróm-C által szállított elektron segítségével az oxigén vízzé redukálódik, a mitokondrium belső membránján keresztül pedig aktív protontranszport megy végbe.

$$O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$$

Megtörténhet azonban, hogy univalens redukciós lépéseken keresztül (*1. ábra*) aktivált oxigénszármazékok is keletkeznek (Davies, 2001; Wlodek, 2002).

1. ábra

Az oxigén redukciójának univalens útja (Ádám, 2001)



A molekuláris oxigén aktivációja létfontosságú az élővilágban. Triplett szerkezetének köszönhetően nem túl erős oxidálószer (Elstner, 1987). A növények számára az egy jelentős folyamat, hogy bennük az oxigén fényenergia hatására szinglett oxigénné ($^1O_2$) alakul. Az aktiváció többi lépése fiziológiás körülmények között a növényekben és az állati szervezetben egyaránt előfordul (Fodor, 1998). Megtörténik azonban, hogy az aktivációs folyamat egyes lépései spontán mennek végbe átmeneti fémek, illetve enzimek által katalizált folyamatok révén, így az oxigén kb. 10%-a szabad gyök formájában van jelen a sejtekben (Pryor, 1986).

Szabad gyököknek nevezzük azokat a molekulákat vagy atomokat, amelyek külső orbitálján egy vagy több páratlan vagy antiparallel spinekkel rendelkező elektron található, ezért rendkívül reakcióképesek. Ezek az élő szervezetben olyan oxido-redukciós kaszkádrendszert indíthatnak meg, amely károsítja a fehérjéket, a nukleinsavakat és a lipideket (Pacifici et al., 1991).

1. táblázat

Reaktív oxigén-részecskék	**Molekuláris forma**	**Képződés**
Szabad gyökök		
Szuperoxid gyök	O_2^-	Az alapállapotú oxigén egy-elektronos redukciója.
Hidroperoxil gyök	$HOO^\bullet$	A szuperoxid gyök protonációja.
Hidroxil gyök	$HO^\bullet$	A hidrogénperoxid egy-elektronos redukciója és az alapállapotú oxigén három-elektronos redukciója.
Nitrogén monoxid	NO	A nitrit egy-elektronos redukciója.
Peroxil gyök	$ROO^\bullet$	A hidroperoxid egy-elektronos redukciója.

Nem gyök természetű molekulák		
Szinglet oxigén	ΔO_2 , ΣO_2	Az alapállapotú oxigén gerjesztése során jön létre
Hidrogénperoxid	H_2O_2	Az alapállapotú oxigén két-elektronos redukciója, amit a protonálódása követ; és a peroxid ion protonációja.
Peroxinitrit	$ONOO^-$	A nitrogén monoxid reakciója a szuperoxid gyökkel.
Hidroperoxid	ROOH	A szinglet oxigén oxigenálódása telítetlen összetevők által és autooxidáció.

(Matsuo és Kaneko, 2000)

Oxigén szabad gyököknek vagy reaktív oxigén intermediereknek azokat a szabad gyököket nevezzük, amelyekben a pár nélküli elektron vagy elektronok az oxigénatom külső orbitálján helyezkednek el (Langseth, 1995). A leggyakoribb szabad gyökök az oxigén tartalmú gyökök (hidroxil aniongyök, OH•; szuperoxid aniongyök, O_2^-; lipidperoxil gyök, ROO•; lipid-alkoxil gyök, RO•; nitrogén-oxid gyök, NO•), és azok a nem gyöktermészetű molekulák (ózon, O_3; delta- és szigmaszinglett oxigén; hidrogén-peroxid, H_2O_2; hipoklórsav, HOCl), amelyek reakcióikban oxigéngyökök képzésére képesek (Aruoma et al., 1991).

A hemoglobin O_2-felvételekor a mikroszomális elektrontranszport láncban, illetve a légzési láncban szuperoxid anion keletkezhet. A kinoidális szerkezetet tartalmazó vegyületek enzimatikus metabolizmusa során a keletkező szemikinonok nem enzimatikus autooxidációja folyamán szintén képződhetnek O_2^--gyökök (Ádám, 2001).

A biológiai rendszerekben a hidrogén-peroxid kitüntetett jelentőségű. Semleges töltéssel rendelkezik, ezért könnyen bejut a membránba, és azon keresztül a citoszolba, valamint a sejtorganellumokba. Ennek következtében a membránban, az extra- és az intracelluláris térben reaktív oxigéngyök-képződést indukálhat (Chance et al., 1979; Gurr, 1999a).

A nitrogén-oxid legfontosabb keletkezési forrása a szervezetben az L-arginin, amelynek guanidino-csoportjából a nitrogén-oxid szintetáz enzim hatására keletkezik, miközben az L-arginin L-citrullinná alakul át. A NO kiemelkedő jelentőséggel bír a vazodilatáció szabályozásában, emellett mediátor szerepe is közismert. A nitrogén-oxid a szuperoxid anionnal reakcióba lépve peroxinitrit gyökké (ONO_2^-) alakul, amely gyorsan lebomlik, hasadása során igen reakcióképes OH-gyök képződik (Freeman, 1994).

2. 2. A szabad gyökök élettani hatásai

A szabad gyökök természetes affinitásuk miatt spontán reakcióba lépnek minden molekulával, szerkezeti és működésbeli változásokat idézve elő azokban (Acker, 1994). A szervezet az immunspecifikus killer-mechanizmusokban használja fel a szabad gyökök reakcióképességét. Ilyen esetben a szabad gyökök nélkülözhetetlen védő- és túlélési mechanizmusok részeként vállalnak szerepet (Albina és Reichner, 1998). A fagociták és a

makrofágok is olyan fagocitáló sejtek, melyek specifikus gyököket képeznek annak érdekében, hogy a szervezet számára idegen anyagot (antigén) megsemmisítsék, illetve az immunkompetens sejteket aktiválják (Tompa, 2005). Az immunrendszer által képzett gyökök tevékenysége széles körű: szerepük van az anabolizmusban és az információátvitelben, valamint az anyagátvitelben, vagy akár a fehérjehormonok egymás közötti kapcsolatának megteremtésében (Knight, 2000). A respirációs lánc és az anyagcseréhez tartozó oxidatív enzimek kimeríthetetlen forrásai az újonnan képződő szabad gyököknek és reaktív oxigénrészecskéknek (Russel et al., 2000). A szervezetben lejátszódó lipidperoxidáció elsősorban a sejtmembránok foszfolipidjeit érinti, de közvetett módon a keringésben lévő lipoproteinek is károsodhatnak (Cheeseman, 1993). Az artherosclerosis folyamatában az oxidált LDL valószínűleg nagy szerepet játszik (Glass és Witztum, 2001). A lipidek peroxidációjának egyes termékei az aminosavak, fehérjék és nukleinsavak károsodását is okozhatják (Burcham, 1998; Rice-Evans és Bruchdorfer, 1992).

A szervezet a pro-oxidáns/antioxidáns egyensúly fenntartása érdekében sajátos védelmi mechanizmust hozott létre. Ezt a védelmi mechanizmust a szervezetben termelődött enzimek és a táplálékból felvett antioxidáns tulajdonságú anyagok alkotják. Az antioxidáns enzimek közé tartozik a szuperoxid diszmutáz, a kataláz, a glutation peroxidáz és a glutation S-transzferáz. Az utóbbi csoporthoz tartozik a C-vitamin, az E-vitamin, a béta-karotin és olyan nyomelemek, mint a szelén (Belitz et al., 2007).

2. táblázat

Biológiai védelem az oxidatív stresszel szemben

Antioxidáns védelem		Előfordulás
Védekező antioxidáns enzimek		
Szuperoxid diszmutáz	CuZn-SOD	citoszol
	Ec-SOD	extracelluláris tér
	Mn-SOD	mitokondrium
	Fe-SOD	citoszol, növények
Kataláz (CAT)		peroxiszómák
Glutation peroxidáz (GPX)		citoszol, extracelluláris tér, biomembránok
Antioxidánsok		
E-vitamin		biomembránok, lipoproteinek
C-vitamin		citoszol, extracelluláris tér
Karotinoidok		biomembránok, lipoproteinek
Redukált glutation (GSH)		citoszol, extracelluláris tér

(Matsuo és Kaneko, 2000)

2. 3. A lipidperoxidációs folyamatok kialakulása

A lipidperoxidáció a többszörösen telítetlen zsírsavak oxigén szabad gyökökkel való reakciója (Halliwell és Gutteridge, 1986). Biológiai szempontból a hidroxil-gyök a legreakcióképesebb, kevésbé aktív a szuperoxid aniongyök és legkevésbé a hidrogén-peroxid. A Haber-Weiss reakció (Haber és Weiss, 1934) során a szuperoxid anion ($\bullet O_2^-$) és a hidrogén-peroxid (H_2O_2) egymásra hatásából reaktív hidroxil-gyökök ($\bullet OH$) képződhetnek (Winterbourn, 1995; Wardman és Candeias, 1996). Ez egy lassú folyamat, melyet a katalitikus hatású átmeneti fémionok (pl.: vas, réz, mangán) a biológiai Fenton-reakció (Fenton, 1894) útján meggyorsítanak.

Első lépésben a ferri ionok ferro formájúvá redukálódnak:
$Fe^{3+} + \bullet O_2^{-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$
Majd a második lépés a Fenton reakció:
$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{-} + \bullet OH$
Tehát a teljes reakció:
$\bullet O_2^{-} + H_2O_2 \rightarrow \bullet OH + HO^{-} + O_2$

Számos kutatás igazolja, hogy az átmeneti fémek kulcsfontosságúak a szabad gyök indukálta károsodások iniciációjában és propagációjában (Halliwell és Gutteridge, 1986; Minotti, 1993). A szabad gyökös reakciók elsősorban a sejtmembránt alkotó lipidek többszörösen telítetlen zsírsavait érintik, mivel ezek kettős kötései különösen nagy affinitást mutatnak a különböző eredetű szabad gyökökkel szemben (Watkins és Bierenbaum, 2001). E zsírsavak oxidációjakor részben vagy teljesen felbomlik a sejten belüli és a sejtfelületi membránok szerkezete, és a sejtekből különböző katabolikus enzimek kerülnek a véráramba és a szövetközti térbe. Ezek más szövetekbe is eljutnak, súlyosbítva ezzel az alapfolyamatokat (Pryor, 1982). A reaktív karbonil-gyökök például a keringésben lévő lipoproteinekben is képesek károsító hatást kifejteni (Cheeseman, 1993). A telítetlen zsírsavak peroxidációja során számos olyan vegyület is képződik, amely potenciálisan károsítja a fehérjéket és a nukleinsavakat (Rice-Evans és Bruchdorfer, 1992; Burcham, 1998). A többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációjának elsődleges termékei a különböző konjugált hidroperoxidok, legjelentősebb másodlagos termékei az aldehidek, az alkánok és a ketonok (Josephy, 1997), amelyek számos kedvezőtlen folyamatot iniciálnak a sejtben.

A lipidperoxidácó folyamata három fő szakaszra osztható (Sugiyama, 1994). Az első lépés a szabad gyökök (X•) által aktivált iniciáció, amelyben valamely szabad gyök hidrogén-elvonással a lipidet (RH) lipid-szabad gyök állapotba hozza, miközben maga redukálódik (XH). A keletkezett szabad gyök könnyen reakcióba lép a molekuláris oxigénnel, amelynek eredményeként lipid-peroxil gyök (ROO•) jön létre:

$$X\bullet + RH \rightarrow R\bullet + XH$$
$$R\bullet + O_2 \rightarrow ROO\bullet$$

A következő lépés a propagáció, amelyben a folyamat láncreakciószerűen terjed tovább. A lipid-peroxil gyökök a környezetükben lévő molekuláktól hidrogént vonnak el, és azokat szabad gyökké (X•) oxidálják, miközben átmenetileg stabil lipid-peroxidokká (ROOH) alakulnak. A hidrogénjét leadó molekulákból keletkezett szabad gyök biztosítja a reakció újraindulását:

$$ROO\bullet + XH \rightarrow ROOH + X\bullet$$

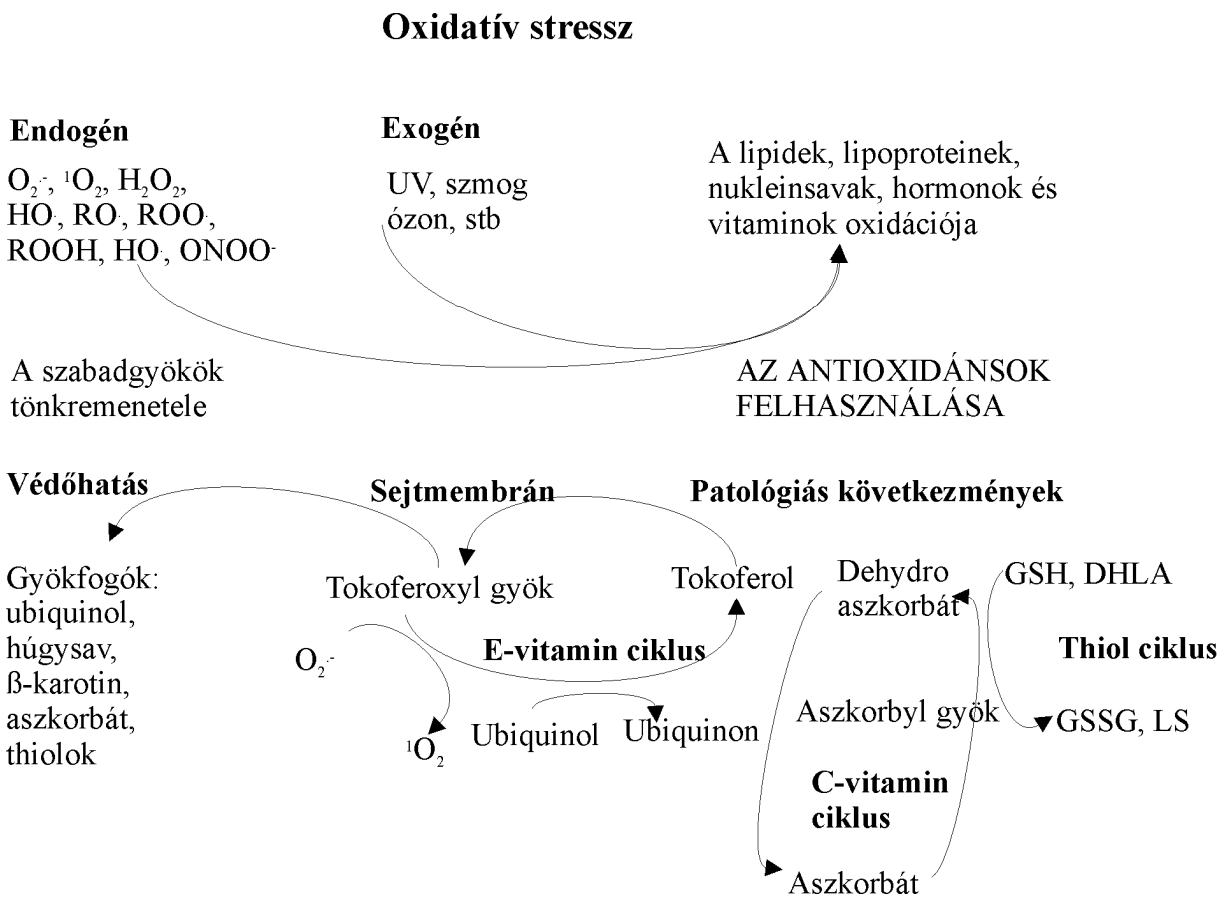
A reakció harmadik lépése a termináció, amelynek során stabil gyökök és molekulák keletkeznek.
A gyökök közötti reakciók is ismertek, amelyek a következők lehetnek:

$$R\bullet + R\bullet \rightarrow RR$$
$$R\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR$$
$$ROO\bullet + ROO\bullet \rightarrow ROOR + O_2$$

A szabad gyökös reakciók láncreakció-jellegéből adódóan ezek a folyamatok további láncreakciók sokaságát indíthatják el, veszélyeztetve ezzel más sejtek, szövetek integritását.

2. 4. Oxidatív stressz

2. ábra



(Boross és Sajgó, 1993)

Az oxidatív stressz kialakulását a szervezetben keletkező szabad gyökök mennyiségének növekedése és azok eliminációjának csökkenése idézheti elő. Ilyenkor egyensúlyzavar alakul ki a prooxidánsok és az antioxidáns-kapacitás között (Ames et al., 1993). Ez az állapot létrejöhet a fokozottabb szabadgyök-képződés vagy az elégtelen antioxidáns-védelem miatt. A felborult egyensúly következménye lehet akár valamilyen endogén változásnak is. Nagy hatással vannak az egyensúlyra a külső környezeti hatások, valamint a táplálkozási szokások is. Ilyen külső tényezők pl.:

- ionizáló és nagy energiájú sugárzás (UV-A, UV-B és röntgen)
- szmog (ózon, nitrogén-oxidok)
- peszticidek, herbicidek és egyéb környezeti toxinok
- cigarettafüst és alkoholos befolyásoltság

- megemelt, többszörösen telítetlen zsírsav-bevitel (egyidőben megnövelt mennyiségű antioxidáns-bevitel hiányában).

A fémtoxikózisok közül kiemelten fontosak a redox-aktív fémek, a réz és a vas hatásai (Ercal et al., 2001). A réz a szabad gyökök kialakulását elsősorban a Fenton-típusú reakción keresztül indukálja, katalizálva ezzel a membránok lipidjeinek peroxidációját (Chan et al., 1982). A vas magas koncentrációja is indukálhatja reaktív oxigén intermedierek kialakulását, amelynek eredményeként lipidperoxidációs folyamatok iniciálódhatnak (Cederbaum, 1989). A szabadgyök-képződés intenzitása függ a rendszer Fe^{2+}/Fe^{3+} arányától, a Fenton-típusú reakcióhoz az 1,00 körüli érték optimális (Ursini et al., 1989). A redox-inaktív fémek, mint a kadmium, a higany és az ólom főként a sejtek tiol-tartalmú antioxidánsait és enzimeit merítik ki, fokozva ezzel a reaktív oxigén intermedierek képződését (Ercal et al., 2001). Számos, az állati szervezetbe jutó, potenciálisan toxikus vegyület is előidézhet szabadgyök-képződést. Ezek közül széles körben vizsgálták egyes gyógyszerek, vegyszerek hatását.

Az embrionális fejlődés közben és a születést (madaraknál a kelést) követően az oxigénellátás jelentősen különbözik. Mind az ember, mind pedig az állatok relatíve magas oxigénszintű környezetnek vannak kitéve az intrauterin (tojásban uralkodó) feltételekhez képest, amikor antioxidáns enzimeik rendszere még fejletlen (van Golde et al., 1998). Feltételezhető, hogy a korai posztnatális életben csak megfelelő antioxidáns védelem képes az újszülöttkor relatív hiperoxiás körülményeit semlegesíteni (Muller, 1987). Számos kutatás foglalkozott a születés/kelés körüli oxidatív stressz hatására bekövetkező folyamatok vizsgálatával (Gaál et al., 2006). Ezek az eredmények azt jelzik, hogy a légköri oxigén belégzésével járó oxidatív stresszre az állati szervezet antioxidáns rendszere reagálni képes (Muller, 1987; Gaál et al., 1996).

A túlzott fizikai megterhelés is növeli a szabad gyökök képzését. Számos humán és állatokon végzett vizsgálat azt bizonyítja, hogy az erőteljes fizikai terhelés hatására létrejövő izomkárosodás oxidatív stressz eredménye, amely azonban − figyelembe véve az alany fizikai terhelésének idejét, természetét, illetve korát és kondícióját − antioxidánsok alkalmazásával kivédhető, illetve annak hatása csökkenthető (Dekkers et al., 1996; Sacheck és Blumberg, 2001).

2. 5. Peroxidációs folyamatok hatása a szervezetre

A reaktív oxigén intermedierek nemcsak a lipidperoxidáció indukálásának a meghatározó tényezői. Károsítják a fehérjéket (Griffiths, 2000), amely az aminosavak módosulásához vezet; a szulfhidril-csoportok oxidációja ugyancsak szerkezeti változásokat eredményez. Megváltozik az enzimatikus aktivitás, keresztkötések alakulnak ki, valamint a glikoproteinekben szénhidrát-módosulás következik be. Csökken az ellenanyagképzés, valamint fokozódik a proteolitikus hajlam (Sies, 1991). A reaktív oxigén-intermedierek támadása DNS-károsodáshoz vezet (Shewfelt és Purvis, 1995; Song et al., 2000), DNS-szál szakadást, illetve bázismódosulást okoz (Sies, 1991). Az endogén DNS-károsodás gyakran az oxidatív folyamatok következménye, amely a környezeti hatások mértékéből adódik (Ames et al., 1993). Fiziológiás körülmények között azonban a szabad gyökök a normál celluláris redox állapot fenntartásának elemei (Lauridsen et al., 1999), szükségesek a DNS-szintéziséhez, az enzimek aktiválásához, a szelektív génexpresszióhoz és a sejtciklus szabályozásához (Castro és Freeman, 2001). A reaktív oxigén intermedierek közvetve szabályozzák a sejtek fejlődését, differenciálódását és pusztulását (Powis et al., 1997). Szerepüket számos élettani és patológiás folyamatban bizonyították. Lényegesek a szervezetben lejátszódó élettani folyamatok hatására

bekövetkező gyökképződési folyamatok, mint például az arachidonsavból képződő metabolitok – prosztaglandinok vagy leukotriének – keletkezése során képződő gyökök, az ion-pumpa működésének (pl. a kalcium efflux mechanizmus) zavara (Wilhelm, 1990). A gyökképződési folyamatok olyan életfontosságú jelenségek hátterében is fellelhetők, mint a trombociták és a granulociták tevékenysége (Fehér és Vereckei, 1985). Az immunsejtek az általuk létrehozott szabad gyököket a patogének leküzdéséhez használják (Kettle és Winterbourn, 1997). A gyökök az intracelluláris „killing" folyamatában játszanak döntő szerepet. Az oxigéngyökök létrehozásának kulcsenzime a NADPH-oxidáz. Hatására a NADPH-ból NADP képződik, és egy elektron felkerül a molekuláris oxigénre. Ez a rövid életű oxigéngyök protonnal hidrogén-peroxidot képez. A neutrofil granulocitákban egy erre a sejtre specifikus enzim, a mieloperoxidáz a H_2O_2 és a Cl^- ionok reakcióját katalizálja. Az utóbbi időkben az intracelluláris „pusztítás" tanulmányozásakor egyre nagyobb figyelmet kapott a korábbiakban már említett erős oxidálószer, a nitrogén-oxid gyök (Falus, 1998; Gergely és Erdei, 2000). Élettani jelenség az öregedés folyamata is, amelynek alapja az, hogy az idősödő szervezetben fokozódik a membránlipidek peroxidatív károsodása, amelyet a folyamat egyik fő okozójának tartanak (Rikans és Hornbrook, 1997).

A szabad gyökök elsődlegesen a sejtek és a sejtorganellumok membránjait támadják, veszélyeztetve ezzel a sejt működését. Rendellenességeket okoznak a sejt közötti kommunikációban és a sejtfelismerésben. Megzavarják az adatátvitelt és a transzport-mechanizmusokat. Sérülhet a sejt belső szerkezete (a sejtmag membránja, a Golgi-készülék vagy az endoplazmatikus retikulum). Az irreverzibilisen károsodott sejtek jelenléte és nem determinált működése tumorképződéshez vezethet (Guyton és Kensler, 1993).

A homeosztázis megbomlásának egyik legveszélyesebb következménye a killer mechanizmus károsodása. A szabad gyökök megváltoztatják a külső antigén szerkezetet, amely a makrofágok és a fagociták számára felismerhetetlenné válik. Ha a saját sejtek szerkezete megváltozik, ezeket a killer sejtek idegen anyagként kezelik, így a szervezet védekező mechanizmusa saját maga ellen fordul. Ez a jelenség vezet az autoimmun betegségek kialakulásához, és szerepet játszhat a rheumatoid arthritis, a diabétesz vagy a szklerózis multiplex kialakulásában (Aruoma et al., 1991). A peroxidációs folyamatok baromfiban is számos betegséget és toxikózist indukálhatnak. Ilyenek a különböző hormonok és prosztaglandinok képződésének zavarai, vagy előfordulhat akár az encephalomalacia is (Mézes et al., 1997). A peroxidáxiós folyamatokat blokkoló antioxidáns rendszer hatékonyságát takarmánnyal bevitt antioxidánsokkal is támogathatjuk. A kemoprevenció sikere abban rejlik, hogy a szervezet fokozott peroxidációs folyamatait kívülről bevitt antioxidánsokkal lassítja. A kiegészítés megvalósítható a takarmánynak, illetve a tápláléknak élelmiszer-kiegészítőkkel, vitamin-készítményekkel való dúsításával (Kellof et al., 1996, 1997, 1999).

2. 6. Antioxidáns védelmi rendszer

Az evolúció során a környezeti ingerek és az endogén folyamatokban keletkező egyes vegyületek káros hatásai ellen számos védekező mechanizmus alakult ki az élő szervezetekben. Az aerob szervezetekben az oxidatív hatások ellen kialakult egy védelmi rendszer, amely az oxigéngyökök okozta sejtszintű, szöveti és szervi károsodásoktól véd. Ezt a rendszert antioxidáns védelmi rendszernek nevezzük.

Azokat a vegyületeket, amelyek védelmet nyújtanak az oxidációval és a szabad-gyökös láncreakciókkal szemben, antioxidánsoknak nevezzük. Ilyen reakciókat katalizál

számos fémion. A kelát képzők, mint amilyen az EDTA (etilén diamin tetra acetát) antioxidánsként hatnak és klinikailag alkalmazhatók (Deucher, 1992). A szervezetnek is van saját hatékony antioxidáns védelmi rendszere, amelyet az enzimatikus és a nem enzimatikus aktivitású részegységek alkotják. Ezek túlnyomórészt a sejten kívüli terekben, így többek között a vérben és a kelát képző fehérjékben fejtik ki hatásukat (Hornsby, 1983). Az antioxidánsok azon képességét, hogy más antioxidánsokat vagy lipid eredetű gyököket redukálnak, redukciós potenciáljuk szabályozza (Buettner és Jurkiewicz, 1996). Többkomponensű rendszerekben az antioxidáns-vegyületek egymás szinergistáiként működnek (Frankel, 1998). Azok a reaktív gyökök, amelyek biológiai felezési ideje rövid (10^{-8} sec.-nál kisebb), nem állnak enzimatikus kontroll alatt, eliminálásukat a védelmi rendszer kis molekulatömegű vegyületei végzik, amelyek víz- vagy zsíroldékonyak (Mézes, 1999). A hidrogén-peroxid felezési ideje ugyanakkor meglehetősen hosszú (10^{-1} min), mennyiségének szabályozása főként enzimatikus úton megy végbe (Chance et al., 1979).

3. táblázat

A legismertebb antioxidánsok

Enzimek	Aminosavak
Szuperoxid-diszmutáz (SOD)	L-arginin
Kataláz	L-cisztein
Glutation-peroxidáz (GP)	L-metionin
Glutation-reduktáz (GSH)	L-glutation
Glutation-transzferáz (GT)	-L-cisztein
Metionin-reduktáz	-L-glutamát
	-L-glicin
Nem enzimatikus, vízoldható	Mikroelemek
Húgysav	Szelén
Bilirubin	Germánium 132
Glutation	Cink
α-lipidsav	Króm
Vitaminok	Kelátképzők
A-vitamin	Ceruloplazmin
β-karotin	Transzferrin
C-vitamin	Albumin
E-vitamin	
γ-linolsav	
Újabb antioxidánsok	
Pantetein	
Ciszteamin	
Probukol	
Sylimarin	
Koenzim-Q (Ubiquinol 10)	

(Tompa, 2003; Đorđević et al., 2000)

2. 6. 1. Nem enzimatikus védelmi rendszer

A nem enzimatikus antioxidánsok hatásosak mind a reaktív oxigénrészecskék, mint a szén tartalmú szabad gyökök ellen. Ezek képezik azokat a stratégiai tartalékokat, amelyeket a szervezet oxidatív stressz esetén mozgósít. A legfontosabb antioxidánsok, mint amilyen a C-vitamin, az E-vitamin, a béta-karotin és egyéb karotinoidok, nem endogén vegyületek, hanem a szervezetnek a táplálékból kell ezeket felvennie. Ugyanígy a táplálék útján jut hozzá a szervezet az egyéb antioxidáns tulajdonságú anyagokhoz is, mint amilyenek a flavonoidok, vagy a polifenolok (Frankel, 1993).

2. 6. 2. Vitamin eredetű antioxidánsok

4. táblázat

Az antioxidáns vitaminok és azok előfordulása az élelmiszerekben

Vitamin	*Előfordulás*
E-vitamin	növényi olajok, gabonacsíra, zöldségek, gyümölcsök, húsok, halak
C-vitamin	citrusfélék, eper, dinnye, paradicsom, saláták, káposztafélék, brokkoli, karfiol
Karotinok béta-karotinok alfa-karotinok	 narancs, sárgarépa, tök sárgarépa
Likopin	paradicsom
Lutein	sötétzöld saláták
Zeaxanthin	brokkoli
béta-cryptoxanthin	citrusfélék

(Tompa és Szende, 2002)

A vitamin eredetű antioxidánsok három csoportját különböztetjük meg. Az első csoportba tartozik az E-vitamin és a hozzá hasonló biológiai aktivitással rendelkező tokoferol- és tokotrienol-származékok, amelyek zsíroldékonyak. A másik vegyület a C-vitamin, ami a szervezeten belül az egyik legfontosabb antioxidáns (Hediger, 2002). A karotinoidok ugyancsak zsíroldékonyak és az A-vitamin provitaminjai. Itt megkülönböztetünk alfa-, béta-karotint, likopint, luteint és béta cryptoxanthint.

A vitaminok egymás hatását is erősíthetik. Szinergizmus létezik az E- és a C-vitamin között (Frankel, 1998). A szinergista hatást erősítheti az eszenciális vegyületek újrahasznosítása. Ilyen az ubiquinol, ami képes az elhasznált E-vitamint regenerálni. Ugyancsak szinergizmus mutatható ki az E-vitamin és a szelén között (Kellof et al., 1996, 1997; Lesgards et al., 2002).

5. táblázat

Antioxidáns kapacitás – bimolekuláris reakciók ($M^{-1}s^{-1}$)

	ROO. Redukció	$^1O_2$ befogás
E-vitamin	$5*10^8$	$8*10^7$
C-vitamin	$2*10^8$	$1*10^7$
ß-karotin	$1,5*10^9$	$5*10^9$

(Sies et al., 1992)

2. 6. 2. 1. Az α-tokoferol

Az E-vitamint Evans és Bishop amerikai kutatók fedezték fel 1922-ben. Patkányokban végeztek kísérletet, és az E-vitaminnak a vemhességre gyakorolt hatását vizsgálták. Azt is megfigyelték, hogy a hím patkányok sterillé váltak abban az esetben, ha takarmányuk nem tartalmazott növényi eredetű olajat.

Sure (1924) vemhes állatokban magzatkárosodást, illetve a magzat reszorpcióját tapasztalta növényi olajmentes takarmány etetése során. Innen származik a tokoferol elnevezés (a *tokoferol* elnevezés a görög *tokosz* és a *pherein* szavakból származik, melynek jelentése ’gyermekszületést elősegítő’).

Pappenheimer és Goetsch (1931) csirkék encephalomalaciáját és nyulak izomdisztrófiáját idézte elő kísérleteiben hasonló (növény olajtól mentes) táppal.

Evans és mtsai 1936-ban izolálták a tokoferol-molekulát, aminek szerkezetét Fernholz (1938) határozta meg.

Az E-vitamin elnevezés nyolc, kémiailag hasonló vegyület (tokoferolok) gyűjtőneve. Ide tartozik az alfa-, béta-, gamma- és delta-tokoferol, valamint az előbbiektől kissé különböző, az oldalláncban három kettős kötést tartalmazó 4-féle tokotrienol-molekula. Biológiai szempontból az alfa-tokoferol a legaktívabb.

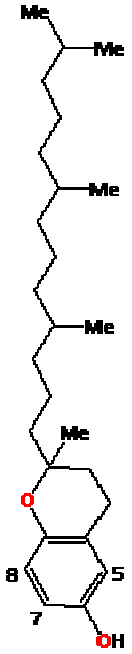
2. 6. 2. 1. 1. Az α-tokoferol képe és vegyi leírása

1. kép

Az E-vitamin elektron-mikroszkópos felvétele

(www.vital.hu)

3. ábra



A tokoferolok vegyi leírása (Csuka et al., 2005)

- *alpha* - tocopherol, $C_{29}H_{50}O_2$ is 5,7,8,-trimethyltocol
- *beta* - tocopherol $C_{28}H_{48}O_2$ is 5,8,-trimethyltocol
- *gamma* - tocopherol $C_{28}H_{48}O_2$ is 7,8,-trimethyltocol
- *delta* - tocopherol $C_{27}H_{46}O_2$ is 8,-trimethyltocol

A legtöbb alfa-tokoferol növényi olajokban (napraforgó: 10-50, szója: 3-10, kukorica: 5-20 mg/100g), zöldségekben, gyümölcsökben (sárgarépa: 0,5-1, brokkoli: 0,5 mg/100g) és állati eredetű élelmiszerekben (tej: 0,05, vaj: 1,5-3,5, tojás: 0,5, máj 0,5 mg/100g) található.

2. 6. 2. 1. 2. Az α-tokoferol szerepe az anyagcserében

Az E-vitamin élettani, illetve biokémiai hatásai a következőkben foglalhatók össze:

Antioxidáns hatása révén védi a sejtmembránban, illetve az extracelluláris térben lévő többszörösen telítetlen zsírsavakat a (per)oxidatív károsodásoktól (Bjelakovic et al., 2007).

A vörösvértestek fokozottan érzékenyek az oxidatív károsodásokra, mivel fokozott oxigén-terhelésnek vannak kitéve. E-vitamin hiányában hemolitikus anémia alakul ki − gazdasági állataink közül elsősorban sertésben és baromfiban (Chatterjee et al., 1999).

A vérlemezkék aggregációja E-vitamin hiányában ugyancsak fokozódik, ami thrombusképződéshez vezet. A tokoferolok membránstabilizáló funkciójuk mellett a prosztanoidok bioszintézisét befolyásoló hatással is bírnak (Raimondi et al., 2004).

A tokoferoloknak a prosztanoid, illetve a prosztaglandin szintézisére gyakorolt hatása az immunmechanizmus befolyásolásában is jelentős. Az eikozapentaénsavból képződő prosztaglandin (PGE_3) fokozott szintézise anti-inflammatorikus hatású, ilyen módon az E-vitamin hatása fontos a kórokozók elleni védelemben. Ez a hatás minden gazdasági állatfaj esetében érvényesül (Fallon et al., 1999).

2. 6. 2. 1. 3. Az E-vitaminhiány tünetei

Az E-vitamin hiányának tünetei azokban a szervekben észlelhetők, amelyeknek ép viszonyok mellett a legnagyobb oxigénigényük van. Ezekben a szervekben ugyanis az oxidatív stressz kialakulásának nagyobb a valószínűsége.

A vererek falának stabilitását az E-vitamin antioxidáns-hatása révén biztosítja. Hiányában elsősorban a kapillárisok károsodásával kell számolni. A tünetcsoportot

exsudativ diathesis néven írták le, miután az erek falának fokozott permeabilitása következtében ödéma alakul ki a szövetközti térben, elsősorban baromfiban (Dam et al., 2005).

A központi idegrendszer szintén érzékeny a tokoferol-ellátottságra, aminek oka részben a neuronok, illetve a glia sejtek gyenge antioxidáns-védelme. A membránok igen nagy, többszörösen telítetlen zsírsav (arachidonsav) tartalma az oxidatív károsodások iránti hajlamot fokozza. A károsodások elsősorban a kisagyat érintik, hiánytünetként főképp fiatal baromfiban encephalomalacia alakul ki (Sheaa et al., 2002).

Az izomszövet intenzív oxidatív anyagcseréje miatt érzékeny a tokoferolok hiányára, a membránok károsodása folytán izomelfajulás következik be. Ezzel egyidejűleg a mioglobin is oxidatív károsodást szenved, aminek eredményeképpen a bárányokban és borjakban az ún. fehérizom-betegség alakul ki. A fehérizom-betegség, illetve az izomdegeneráció kialakulásában az E-vitamin mellett a szelén hiánya is kiváltó tényező lehet (Borgman, 1964). A tüneteket ugyanis az E-vitamin mellett szelén adagolásával, illetve a szelén beépülését elősegítő kéntartalmú aminosavakkal (cisztin, metionin) is csökkenteni lehet (Guidera et al., 1997; Weber és Mézes, 2001).

Az E-vitamin és a Se kölcsönhatás egyes tünetek esetében egyértelmű. A kórokok megszüntetésében nem minden esetben pótolhatják egymás hatását (Davis, 2007). Az ivarszervek esetében hasonlóképpen együtt jelentkezik az E-vitamin, illetve a szelén hatása. A hereatrófia, a magzati fejlődés zavarai, a petefészek működésének károsodásai szintén a membránfunkciók zavarával hozhatók összefüggésbe. Ezekben az esetekben a membránok foszfolipid frakciójának károsodása − a többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációja − mellett számolni kell a membránok fehérje-állományának, elsősorban a receptor molekuláknak az oxidatív degenerációjával is (Ke és Clement, 2003).

2. 6. 2. 1. 4. Az α-tokoferol antioxidáns szerepe

A peroxyl-gyökök ellen a leghatásosabb antioxidáns az E-vitamin. Az E-vitamin védi a vér és a szövet lipidjeit a szabad gyökök káros hatásától. Az E-vitamin különböző peroxyl-gyökök elleni reakciójának hatékonyságát a 10^4-10^9 $M^{-1}s^{-1}$ tartomány jellemzi (Niki és Matsuo, 1992). Az E-vitamin kis mennyisége is jelentős mértékben védi a sejtmembránokat a peroxyl-gyökök képződésével szemben (1-5 nmol/mg protein/perc). Packer elméleti számításai szerint egy E-vitamin molekula akár 2000 membránfoszfolipidet is meg tud menteni az oxidatív károsodástól, és 0,05 nmol E-vitamin kb. 1mg fehérjét tud megvédeni (Packer, 1992). Más szerzők a fenti arányokat „E-vitamin paradox”-ként említik, mivel az oxigén szabadgyökök, ezen belül különösen a hidroxil gyök „akció rádiuszának” ismeretében kevéssé valószínű, hogy 1 tokoferol molekula valóban képes akár 2000 foszfolipid molekula aktív védelmét biztosítani (Surai, 2002b).

A peroxyl-gyökök káros hatása abban nyilvánul meg, hogy a károsodott lipidmolekulák stabil lipidhidroperoxidokat alkotnak, amelyek veszélyeztethetik a sejtek tevékenységét. Az E-vitamin reakcióba lép a peroxyl-gyökökkel, tokoferoxyl-gyököket képez, amelyek igen ellenálló és kevésbé aktív molekulák. Ezeket a C-vitamin aktív E-vitaminná regenerálja. Ez a redox mechanizmus olyan jelentős folyamat a sejtmembrán-védelemben, melyet a C-vitamin és a thiolciklus szinergens módon támogat. Mindez az E-vitamin kiemelt jelentőségére utal.

A tokoferolok antioxidáns hatását már szerkezeti képletük kiderítése előtt ismerték. Közülük az α-tokoferol vagy E-vitamin a legismertebb és legáltalánosabban alkalmazott vegyület. Antioxidáns hatását elsőként a takarmányokban bizonyították

(Drummond, 1939). Az E-vitamin bioszintézisére csak a növényi szervezet képes, ezért az E-vitamin szükségletet a takarmánnyal kell biztosítani (Chan és Decker, 1994). Az egyes tokoferolok antioxidáns hatékonysága eltérő, leghatékonyabb az α- tokoferol (100%), amelyet a β- (22%), a γ- (1%), majd a δ-tokoferol (1%) követ (Hennig, 1972). Az α-tokoferol mellett számottevő lipidperoxidációt gátló hatással rendelkeznek a tokotrienolok (Rice és Kennedy, 1988). A tokotrienolok a tokoferolok szerkezeti analógjai. Rice és Kennedy (1988) szerint a tokotrienolok hatékonysága a tokoferolokhoz viszonyítva átlagosan 16%, más kutatási eredmények ugyanakkor azt mutatják, hogy az α-tokoferolénál magasabb antioxidáns aktivitással rendelkeznek (Watkins et al., 1993; Serbinova és Packer, 1994). Kontush és mtsai (1996) kísérleti körülmények között az α-tokoferol prooxidáns hatását is megfigyelték alacsony sűrűségű lipoprotein-rendszerben. Az E-vitamin hidrogén donorként funkcionál, ezáltal redukálja a szabad gyököket hidrofób környezetben (Kamal-Eldin és Appelqvist, 1996). Antioxidáns tulajdonsága révén védi a sejtmembrán, valamint az extracelluláris tér többszörösen telítetlen zsírsavait a peroxidatív károsodásoktól. Egy molekula E-vitamin kb. 2000 foszfolipid molekulát képes megvédeni az oxidatív károsodástól (Packer, 1992). A sejtmembránban képződő peroxid-gyököket hidroperoxiddá alakítja, miközben maga kevésbé aktív, rezonanciastabil tokoferoxil-gyökké oxidálódik (Duthie, 1996). A tokoferolok a jejunumon keresztül passzív diffúzióval szívódnak fel és kerülnek a portális keringésbe (Surai et al., 1999). A különböző szövetekhez a véráram útján, a nagyon alacsony sűrűségű lipoproteinhez (*very low density lipoprotein*, VLDL) kötődve jutnak el (Mézes, 1987). A sejtek antioxidáns státusza szempontjából kiemelkedő fontosságú a tokoferolok oxidált gyök formából biológiailag aktív formává történő redukciója (Porter, 1992). E folyamatban szerepet tulajdonítanak *in vivo* és részben *in vitro* körülmények között a C-vitaminnak (Chan, 1993; Tanaka et al., 1997), a karotinoidoknak (Bohm et al., 1997) és a glutationnak (Niki et al., 1982; Halliwell és Gutteridge, 1989). A cisztein is képes az E-vitamin gyököket α-tokoferollá redukálni, regenerálva ezzel az E-vitamint a lizoszóma membránban (Niki, 1987).

2. 6. 2. 2. A karotinoidok

A karotinoidok elsősorban a növények színanyagai, előfordulásuk azonban sokkal szélesebb körű: a fotoszintetizáló növényi szövetek, termések, mikroorganizmusok, egyes ízeltlábúak és halak, színes tollú madarak és számos madár és emlős vérplazmájának jellegzetes színanyagai. Nélkülözhetetlenek a fotoszintetizáló szervezetekben, nélkülük lehetetlen lenne az oxigént hasznosító élet (Britton, 1995a).

A több mint 600 azonosított karotinoid közös vonása az izoprén egységekből álló szénlánc. Az alapváz két 20 C-atomos geranil-geranil-di-foszfát molekulából szintetizálódik, és az így kialakult 40 C-atomos vázból képződnek a különböző prosztetikus csoportokkal rendelkező karotinoidok. A gyűrű és/vagy a lánc kettős kötései, szubsztituensei, illetve az oxigéntartalomtól függően a karotinoidok színe a halvány sárgától a sötét vörösig terjedhet. A karotinoidok 2 fő csoportba sorolhatók: a karotének és az egy vagy több oxigéncsoportot tartalmazó xantofillok közé, amely utóbbiaknak provitamin-aktivitásuk nincs, vagy csak elenyésző mértékű (Bárdos, 1994; Britton, 1995a; Rojas-Hidalgo és Olmedilla, 1993).

A karotinoidoknak kevesebb, mint 10%-uk szolgálhat A-vitamin prekurzorként, amely azt jelenti, hogy a molekula hasadását követően legalább 1 ép retinol (ROL), vagy retinal (RAL) molekula képződik belőlük (Bendich 1992; Blomhoff 1994; Britton et al., 1995). A növények ß-karotin tartalma A-vitaminná történő átalakulása során központi

jelentőséget tölt be (Brüggemann és Tiews, 1964). Csak a legalább egy ß-jonon gyűrűt tartalmazó karotinoidok (α-, ß-, γ-karotin, kriptoxantin) lehetnek a retinoidok természetes előanyagai, provitaminjai. A ß-karotin, mint a humán táplálkozásban legelterjedtebb karotinoid rendelkezik a legnagyobb potenciális A-vitamin aktivitással (Bendich, 1992). Habár a ß-apo-karotenálok az állatok esetében szintén rendelkeznek provitamin-aktivitással, mégis inkább pigmentáló anyagokként szerepelnek a takarmányozás során (Al-Hasani és Parrish, 1968; 1972). A kanthaxantin nem rendelkezik provitamin-aktivitással, mégis ettől függetlenül is egyéb jelentős funkciókat tölt be (Sies, 1990).

Az állatok képtelenek a karotinoidok szintézisére. Ezért a karotinoidok takarmánnyal felvehető mennyiségétől függnek. Különböző fajok karotinoid-abszorpciója és -tárolása eltérő mértékű (Latscha, 1990). A karotinoidok nem tartoznak az esszenciális tápanyagok közé, a takarmányok A-vitamin-tartalmának kiszámításakor azonban mégis retinol ekvivalens értékként számításba kerülnek (Rojas-Hidalgo és Olmedilla, 1993). A ß-karotin, és feltételezhetően egyéb A-provitamin hatású karotinoidok oxidációs átalakulások során két úton − centrális hasadással, illetve az egyik gyűrű felől meginduló láncrövidüléssel − is képesek retinoidokká átalakulni (Krinsky et al., 1994).

A szintetikus karotinoidok a baromfi-takarmányozásban a tojássárgáját és a bőrszövetet színező hatásuknak köszönhetően az érdeklődés középpontjában állnak (Paust, 1991). A legismertebb természetes karotinoid-források a takarmányozás során a kukorica, a lucerna és a fűfélék. Ezek nemcsak provitamin tulajdonságú színanyagokat (*α- és ß-karotin, kriptoxantin*), hanem oxi-karotinoidokat (*lutein, zeaxantin*) is tartalmaznak. Az előbbiek A-vitaminná alakulnak, így a tojássárgája színintenzitásának növelését kevésbé szolgálják. A ß-karotin, mint legfőbb A-provitamin, intenzív transzformációja és kisfokú depozíciója miatt nem hat a tojás és más szövetek pigmentáltságára (Tagwerker et al., 1962; Vogtmann és Prabucki, 1970). Jelenleg mégis az A-vitamin helyettesítésére használják, mert nem teratogén hatású és emellett biológiai antioxidáns.

A likopin provitamin hatással nem rendelkező karotinoid pigmentáló és antioxidáns hatása azonban kiemelkedő (Agarwal és Rao, 1998).

6. táblázat

A természetben előforduló leggyakoribb karotinoidok

Név (%)	Szerkezet	Előfordulás	Aktivitás
α-karotin	ß - α	zöld növények, kukorica, sárga gyümölcsök	50
ß-karotin	ß - ß	zöld növények (lucerna), sárgarépa, sütőtök, algák tojássárgája, sárgatest	100
γ-karotin	ß - ∅	sárgarépa, kukorica, algák, gombák	50
ß-zeakarotin	ß - ∅	kukorica, paradicsom	50
Kriptoxantin (3OH-ß-karotin)	ß - 3OHß	kukorica, paprika, gyümölcsök, tojássárgája	50
Lutein (3,3'OH-α-karotin)	3OHß-3OHα	kukorica, sárgarépa, gyümölcsök, tojás	0

Zeaxantin		kukorica, paraj, paprika,	0
(3,3'OH-ß-karotin)	3OHß-3OHß	algák, tojás	
Asztaxantin		halak, rákok, algák	0
(3,3'OH, 4.4'keto-ß-karotin)3OH4Oß-3OH4Oß			
Kapszorubin	NJ-NJ**	pirospaprika	0
Kapszantin	NJ-NJ	pirospaprika	0

- gyűrű-lánc-gyűrű; **nem jonongyűrű

(Bárdos, 1994)

A karotinoid-molekula fizikai és kémiai tulajdonságait a molekulaszerkezet határozza meg. Az általános molekuláris geometriának (méret, alak, a funkcionális csoportok jelenléte) köszönhetően megfelelő módon képes a celluláris és szubcelluláris szerkezetbe beépülni, és ott hatékonyan működni. Ezen felül a konjugált kettőskötés-rendszer meghatározza a molekula fotokémiai tulajdonságait és kémiai aktivitását (Britton, 1995b).

A karotinoidok kedvező hatásaikat antioxidáns tulajdonságaikkal kapcsolatban fejtik ki. Képesek szinglett oxigénatomok (‚O’) befogására (fizikai, illetve kémiai quenching) és ennek következtében a lipidperoxidáció gátlására. Antioxidáns tulajdonságuk az oxigén nyomásától függően változik: alacsony nyomáson hatékony antioxidánsok, magas nyomáson pedig prooxidánsok. A kanthaxantin, a likopin és az asthaxantin sokkal hatékonyabb antioxidánsok, mint a ß-karotin, illetve a zeaxanthin. Emellett egyéb membrán antioxidánsokkal, pl. E-vitaminnal szinergista kapcsolat alakulhat ki az oxidáció gátlására (Krinsky et al., 1994; Palozza és Krinsky, 1994; Sies, 1990).

A karotinoidok elnevezése hagyományosan triviális nevükön történik az elsőként izolált biológiai forrás alapján, ez a megnevezés azonban nem utal a karotinoidok szerkezetére. Ezért sokkal elterjedtebb a fél-szisztematikus megnevezésük, amely egyértelműen meghatározza és leírja a szerkezetüket is. Ma már sokkal inkább elfogadott az a megnevezés, ahol a két végcsoportot jelölik meg; pl. ß,ß-karotin. Ezenkívül számos természetes karotinoid ráadásul optikailag aktív, ami a cisz/transz izoméria lehetőségét jelenti (Britton et al., 1995). A 40 C-atomnál kevesebb C-atomból álló karotinoidok szintén az alapvázból származtathatók, elnevezésük apokarotenoid, ha a C-atomok leválása a molekula végeiről történt, illetve norkarotinoid, ha ez a folyamat a molekula belsejében játszódott le (Britton, 1995a).

2. 6. 2. 2. 1. A karotinoidok biológiai hatásai

A természetes antioxidánsok − beleértve a karotinoidokat, az A-, E- és C-vitamint − nagyon fontos szerepet töltenek be az egészség, a termelési (*produkciós*), valamint a szaporodásbiológiai (*reprodukciós*) folyamatok fenntartásában. Azonban még mindig nem teljesen tisztázott, hogy a kiegészítésként adott karotinoidnak a termékenységet és a szaporasági tulajdonságokat javító hatását maga a karotinoid okozza, vagy a retinoiddá történő átalakulás következtében retinoid hatásnak bizonyul (Besenfelder et al., 1996; Diefenbacher 1981; Elmarimi et al., 1989; Kormann et al., 1989; Krinsky, 1994; Somorjai és Pethes, 1984).

Ezek a vegyületek mind az ép sejt működése, mind a környezeti stresszorok következtében termelődött intra-, és extracelluláris szabad gyökök eltávolítása során látnak el fontos szerepet. Ezzel kapcsolatban fenntartják az immunrendszer szerkezetének állandóságát is (Britton, 1995a; Chew, 1996). Bizonyos karotinoidok az immunológiai funkciók növekedését jelezték specifikus és nem specifikus immunválasszal

összefüggésben (Kiss et al., 2003). A ß-karotin mint A-provitamin-karotinoid a provitamin-aktivitással nem rendelkező karotinoidokhoz hasonlóan a T és B limfociták, a makrofágok és az ölősejtek megnövekedett válaszkészségét mutatta. A mechanizmus magában foglalja a karotinoidok immunitásnövelő képességét, antioxidánsként és szabad oxigén befogóként történő viselkedését, amely egyébként az A-vitaminra nem jellemző (Bendich, 1992; Sies, 1990).

A mikronutriensek közé tartozó karotinoidok, valamint a tokoferol és az aszkorbinsav képesek *in vitro* sejt- vagy szervkultúrában a génmutáció, géntoxikus események megakadályozására, és a rosszindulatú, daganatos sejtek növekedésének gátlására. Ezen mikronutriensek közül néhány − A-provitamin aktivitásától függetlenül − védelmet nyújt a rák ellen, antikarcinogén hatással is rendelkezik, amely hatást antioxidáns tulajdonságával kapcsolatban fejti ki (Krinsky 1993; Palozza és Krinsky 1994).

2. 6. 2. 2. 2. A karotinoidok antioxidáns hatása

A karotinoidok közül a ß-karotin még a C-vitamin és az E-vitamin gyökfogó tulajdonságának mértékét is képes felülmúlni (Di Mascio et al., 1989). A ß-karotin antioxidáns hatása a sugárzás indukálta szabadgyök-képződésnél és a fotoszintézis során a legjelentősebb. Kevésbé hatékony a peroxyl-gyökökkel szemben, mint az E-vitamin (Burton és Ingold, 1984).

A ß-karotin fizikailag és kémiailag is képes megkötni az elemi oxigént, bár ez a folyamat nem minden esetben szignifikáns. A fizikai kötődésnél a ß-karotin az elemi oxigén magas energiatartalmát hővé alakítja át. Így ebből a reakcióból változatlan formában kerül ki. Ezzel szemben a ß-karotin oxidatíve megváltozik, ha szabad gyökökkel és reaktív oxigén-részecskékkel reagál. Ebben az esetben elveszti antioxidáns tulajdonságát. Az oxigén alacsony parciális nyomása esetén stabilizálni képes a szabad gyököket, és így a lipidperoxidációban hatékony lánctörő (chain-breaking) antioxidánssá válik. (Burton, 1989). A ß-karotin olyan antioxidáns, amely segíti a C-vitamin és az E-vitamin hatását, és gyökfogó képességgel rendelkezik (Palozza és Krinsky, 1992).

A karotinoidok az oxigéntenzió függvényében pro- és antioxidánsként egyaránt működhetnek (Ciaccio et al., 1993; Palozza et al., 1997). Amennyiben az oxigéntenzió szintje magasabb, mint a levegő oxigéntenziója, a karotinoidok prooxidánsként funkcionálnak. Palozza és Krinsky (1992) bizonyították, hogy a karotinoidok és a tokoferolok között antioxidáns hatás tekintetében szinergizmus áll fenn. A karotinoidok antioxidáns potenciálját a molekula kettős kötéseinek száma határozza meg (Di Mascio et al., 1989).

2. 6. 2. 3. A C-vitamin (aszkorbinsav)

A C-vitamin vízben oldódó vitamin, felfedezése a Nobel-díjjal jutalmazott Szent-Györgyi Albert nevéhez fűződik. Ő állította elő először 1928-ban mellékveséből, majd paprikából. Ekkor még nem tudta, hogy mi ennek az anyagnak az összetétele, és hexuronsavnak nevezte (Svirbely és Szent-Gyorgyi, 1932). Kémiai szerkezetét 1933-ban Hawort állapította meg (Haworth és Hirst, 1933). Néhány állatfaj, valamint az ember nem tud szervezetében aszkorbinsavat előállítani, így ezekben C-vitamin hiányában a skorbut nevű betegség lép fel (Olson, 1999).

2. 6. 2. 3. 1. Kémiai jellemzői

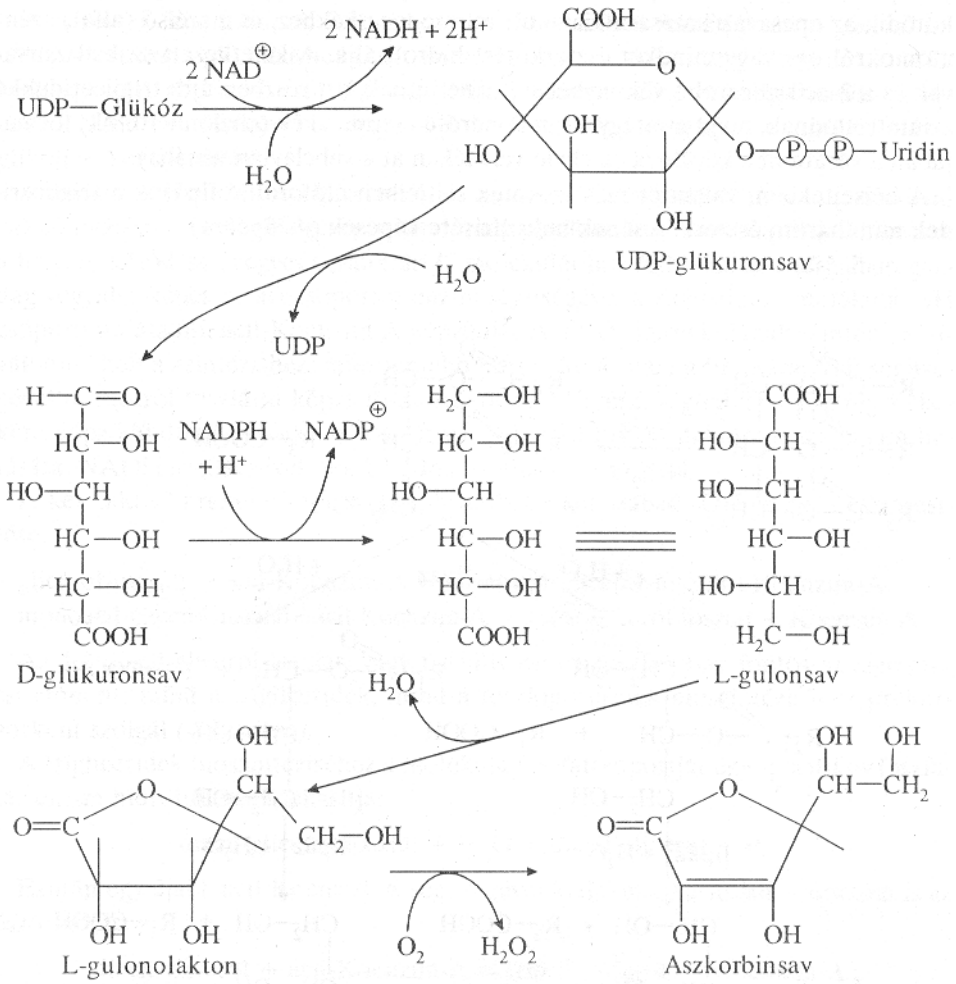
A C-vitamin szénhidrát-származék, a glükóz oxidációs termékének, a 2-keto-gulonsavnak L-konfigurációjú laktonja. A molekula jellemző része a dienolcsoport, amelynek az aszkorbinsav savas tulajdonságát köszönheti, és amely diketocsoporttá oxidálódik (Moser és Bendich, 1990). Ez az oka annak, hogy az aszkorbinsav erős redukálószer. Jellemző tulajdonsága, hogy reverzibilis módon oxidálódik (dehidrogéneződik) dehidro-aszkorbinsavvá. Az L-aszkorbinsav és a dehidro-aszkorbinsav redoxrendszert képez. A folyamat során keletkező aszkorbil gyök részben előbb dehidroaszkorbáttá, majd redukált glutation segítségével nem enzimatikus úton (Wells és Xu, 1994), vagy a dehidroaszkorbát-reduktáz segítségével visszaalakul aszkorbinsavvá az ún. Foyer-Halliwell-Asada cikluson keresztül (Foyer és Halliwell, 1976). A folyamat reverzibilis és a szervezetben is lejátszódik (Kallner et al., 1982). Az oxidált formák könnyen regenerálhatók, azaz „visszaredukálhatók”. Az állati szervezetekben az aszkorbinsav redukciója döntő mértékben egy másik, szintén az első vonalhoz tartozó, vízoldékony antioxidáns, a redukált glutation oxidációjának rovására megy végbe. Az aszkorbinsav könnyen túloxidálható, és ilyenkor biológiailag inaktív diketo-gulonsavvá, majd oxálsavra és L-treonsavra bomlik. Ezek az átalakulások már irreverzibilisek (Carr és Frei, 1999).

Az aszkorbinsav nemcsak a levegő oxigénjének vagy a vegyszereknek, hanem egyes enzimeknek a hatására is oxidálódik. Élelmiszeripari nyersanyagaink C-vitamin-tartalmának enzimes inaktiválása a növényi termékek hőkezelésével (például blansírozás) előzhető meg (Levin, 1986).

Az aszkorbinsav jellegzetesen savanyú ízű, kristályos anyag, vízben jól oldódik. Savasságára jellemző, hogy 2%-os vizes oldata 2,8 pH-jú. Elsőrendű alkoholos OH-csoportja zsírsavval észteresíthető. Ilyen vegyület például a zsírban oldódó aszkorbil-palmitát, amelyet zsiradékok antioxidánsaként lehet használni. Megjegyzendő, hogy az aszkorbinsav sztereoizomerjei, bár vitaminhatásuk gyakorlatilag nincs, vízoldható antioxidánsként alkalmazhatók (Herbert, 1996).

4. ábra

A C-vitamin szintézise



(Boross és Sajgó, 1993)

2. 6. 2. 3. 2. A C-vitamin előfordulása és hatása

A növényi termékekben különösen sok C-vitamin van. Fő forrásai: gyümölcsök − citrusfélék (pl. narancs, citrom), zöldségek (elsősorban paradicsom, paprika), zöldpaprika, a friss zöldségek, különösen a paradicsom, a káposzta, salátafélék, savanyú káposzta. Az állati szövetekben csekély mennyiségű aszkorbinsav van, kivételt a belsőségek képeznek (Sauberlich, 1990).

Az aszkorbinsav biológiai hatásmechanizmusa még részben tisztázatlan, szerepe oxidációs-redukciós képességével függ össze (Johnson et al., 1998). Az emésztőcsatornában elősegíti a vas és a kalcium felszívódását (Hallberg, 1981). A sejtek biokémiai folyamataiban részben a redukált állapot fenntartásával, részben hidrogéndonorként vesz részt. Ily módon közreműködik a kötőszövetek kollagénjének

képződésében, a mellékvese hormonjainak szintézisében, a szerotonin nevű szöveti hormon termelésében és a tirozin oxidatív lebontásában (Ginter et al., 1982).

Az aszkorbinsavat a legtöbb állatfaj szintetizálja glükózból vagy galaktózból, ezekben a szervezetekben nincs szükség C-vitamin pótlásra. Néhány állatfaj, valamint a főemlősök elvesztették az L-aszkorbát szintetizáló képességüket és ezért csak a táplálék útján tudnak C-vitaminhoz jutni (Frei és Traber, 2001).

A felnőtt ember átlagos napi szükséglete, a munkavégzéstől függően, mintegy 45-80 mg (Kallner et al., 1981).

Gazdasági célból tartott baromfifajaink képesek C-vitamint szintetizálni, ám a korszerű, nagy termelőképességű hibridek esetén, valamint stresszkörülmények közepette (hőstressz, áttelepítés) indokolt a takarmányok C-vitamin kiegészítése. Brojler és tojótyúkok esetében egyaránt akár 250-400 mg/kg aszkorbinsav kiegészítés is indokolt lehet (Whitehead és Keller, 2003).

A prokariótákban sem szintetizálódik általában C-vitamin, ezek ehelyett glutation alapú antioxidáns rendszert használnak (Bertók és Chow, 2005). Az aszkorbátnak többféle biokémiai hatása van. A legismertebb az antioxidáns hatás, amely képes semlegesíteni az oxigén-metabolizmus reaktív termékeit (pl.: szuperoxid, hidrogén-peroxid, elemi oxigén) (Halliwell és Gutteridge, 1999). Emellett számos Fe-tartalmú enzim kofaktora, főleg különböző hidroxilázok és dioxigenázok esetében (Halliwell és Gutteridge, 1986). A skorbut betegség a C-vitamin hiányában következik be, és tüneteit a rendellenes kollagénszintézis okozza (Smirnoff, 1996).

A növényekben az aszkorbátnak a fotoszintézishez kapcsolódó biokémiai szerepe van. Itt a hidrogén-peroxidot távolítja el, amely a fotoszintézis elektrontranszportjában az oxigén redukciója folyamán termelődik. Az aszkorbát-oxidáció elsődleges terméke a monodehidroaszkorbát egymaga képes elektronokat felfogni (Noctor és Foyer, 1998; Asada, 1999). Az aszkorbátnak jelentős szerepe van a membránokon keresztüli elektron-transzportban, és kiemelt szerepe van a sejtfal-növekedés szabályozásában. Esetenként szignifikáns járványtani összefüggés tapasztalható a magas C-vitamin bevitel és a csökkent érrendszeri és szívbetegség, valamint néhány rákbetegség között (Smirnoff, 1996; Noctor és Foyer, 1998; Smirnoff és Wheeler, 1999).

Az aszkorbát kémiájának és biokémiájának legfontosabb ismereteit Davies és mtsai (1991) könyve írja le. Az aszkorbát hatásának és bioszintézisének különböző szervezetekben való taglalásához a legjobb példát az evolúció biokémiai folyamatai szolgáltatják. Az L-aszkorbát különböző módon szintetizálódik a növényekben és az emlősökben. Van néhány bizonyíték arra is, hogy néhány algacsoport még a növényektől és az emlősöktől is eltérő módon képes előállítani C-vitamint. A gombák mindezektől különböző módon D-erythroaszkorbátot, az L-aszkorbát C_5 analógját tartalmazzák. Az élesztőben az erythroaszkorbát a növényekhez hasonló módon szintetizálódik. Az emlősökben az aszkorbát bioszintézisének útja már az 1960-as évektől ismert volt. A növények esetében 1998-ban írták le a C-vitamin szintézisének mechanizmusát (Wheeler et al., 1998).

2. 6. 2. 3. 3. A C-vitamin antioxidáns hatása

A C-vitamin az extracelluláris folyadékterek legfontosabb antioxidánsa. Ezt a tulajdonságát vízoldhatóságának köszönheti (Stocker és Frei, 1991). A C-vitamin hatásosan gátolja a szuperoxid-gyökök, a hidrogénperoxid-, hipoklorit-, hidroxyl- és peroxyl-gyökök (HO- és ROO.), valamint az elemi oxigén létrejöttét is. A C-vitamin a peroxid-gyökök kialakulását hatásosan gátolja, ezért óvja a membránstabilitást, szerepe

van az eloxidálódott E-vitamin regenerálásában (1. ábra) (Golumbic és Mattill, 1941; Doba és Burton, 1985).

Az aszkorbinsav hidrofil közegben erőteljes antioxidáns hatást mutat (Niki, 1991), emellett számos bioszintetikus és enzimatikus folyamat kofaktora a szervezetben, esszenciális a kollagén, a karnitin és a neurotranszmitterek bioszintéziséhez (Naidu, 2003; Iqbal et al., 2004). A C-vitamin képes az α-tokoferoxil gyökök, a β-karotinból keletkező gyökök (Halliwell és Gutteridge, 1986) és a glutation-diszulfid redukciójára (Tappel, 1968). Vas/aszkorbát rendszerekben, kis koncentráció esetében prooxidáns tulajdonságot is mutathat, nagy koncentrációban azonban antioxidáns karaktere kerül előtérbe (Steinhart et al., 1993). A baromfi képes a C-vitamin szintetizálására főképp a vesében, mivel rendelkezik az L-gulonolakton-oxidáz enzimmel. A baromfiembrió fejlődése során a szik membrán is jelentős aszkorbinsav szintetizáló kapacitással rendelkezik (Surai et al., 1996). A dehidroaszkorbinsav az aszkorbinsav oxidált formája, redukálását a GSH dependens dehidro-aszkorbát reduktáz enzim végzi, amelynek a magas aktivitását patkány- (Paolicchi et al., 1996) és csirkemájban (Sasaki et al., 2001) is tapasztalták. A csirke májában hiányzik az aszkorbinsav-szintetizáló rendszer, a dehidro-aszkorbinsav redukciója ezért fontosabb, mint más szövetekben, fenntartva ezzel a C-vitamin-szintet és a xenobiotikum transzformáló rendszert (Sasaki, et al., 2001). A C-vitamin részt vesz az E-vitamin (Jacob et al., 1995) és a glutation oxidációt követő regenerálásában (Bendich, 1992) is. Az E- és a C-vitamin erősíti egymás hatását (Kucuk et al., 2003).

2. 6. 3. Enzimatikus antioxidáns védelmi rendszer

A szuperoxid-dizmutáz (SOD) a szuperoxid-gyökök (O_2^-) redukcióját (dizmutációját) katalizálja hidrogén-peroxiddá (H_2O_2). Az emberekben ez az enzim két formában van jelen: a nagyobb jelentőségű a réz-cink SOD, a másik a mangán SOD. A glutation-peroxidáz (GSHPx) és a kataláz a hidrogén-peroxid lebontását katalizálja. Jelenleg a glutation-peroxidáz enzimcsalád öt tagja – a citoplazmatikus, az extracelluláris, a foszfolipid, a gastrointestinális és a májbeli citoszol izoforma – ismert. A szelén-dependens glutation-peroxidázok közös jellemzője, hogy szelénatomot tartalmaznak – szelenocisztein formájában – aktív centrumukban és szubsztrátként a hidrogén-peroxid mellett a szerves hidroperoxidokat is elbontják, beleértve a zsírsavak hidroperoxidjait is (Epp et al., 1983; Gamble et al, 1997).

2. 6. 3. 1. A glutation-peroxidáz enzimcsalád

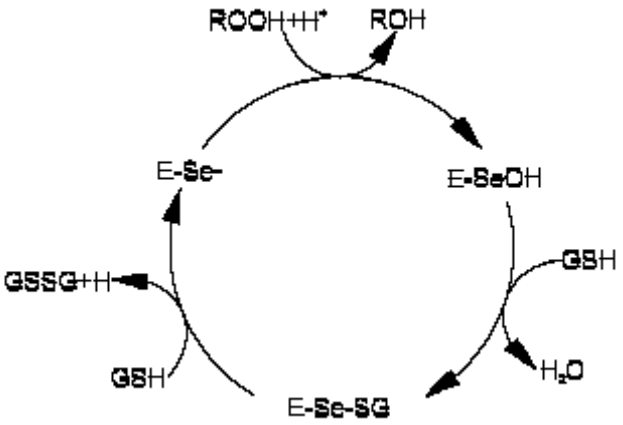
A glutation-peroxidáz enzimcsalád az enzimatikus biológiai antioxidáns-rendszer egyik legfontosabb képviselője. Az enzim feladata, hogy a gyökfogóként is szereplő redukált glutation jelenlétében redukálja a hidrogénperoxidot, miközben a glutation oxidálódik (Dormandy, 1978; Hornsby és Crivello, 1983**)**:

$$2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$$

A glutation-diszulfid regenerálását a NADPH függő glutation-reduktáz enzim végzi (Stryer, 1988). A glutation-peroxidázoknak két csoportját különböztetjük meg, attól függően, hogy működésükhöz szükség van-e szelénre (Erdélyi et al., 1999). A Se-dependens glutation-peroxidázok aktív centrumukban szelén-atomot tartalmaznak, szelenocisztein formájában. Szubsztrátként a H_2O_2 mellett a szerves hidroperoxidokkal, így a zsírsavak hidroperoxidjaival is reagálnak (Gamble et al., 1997). A Se-dependens

glutation-peroxidázok közül elsőként a vörösvérsejt glutation-peroxidázt izolálták (Mills, 1957). A ma klasszikus GSH-Px-ként ismert enzim, amelyet Rotruck és mtsai (1973) szintén kimutattak, csak egyik tagja a szervezetben különböző izoenzimek formájában előforduló glutation-peroxidáz enzimcsaládnak. A család jelenleg leginkább ismert tagjai a klasszikus-, az extracelluláris, a foszfolipid-, és a gasztrointesztinális és a citoszol glutation-peroxidáz (Erdélyi et al., 1999). A klasszikus glutation-peroxidáz enzim négy azonos alegységből álló fehérje. Minden domén tartalmaz egy szelén-atomot. A gömb alakú alegységek a tertramer enzimben, síkban rendezett konfigurációt vesznek fel (Epp et al., 1983). Flohé (1973) szerint a glutation-peroxidáz enzimek a sejtben ott töltenek be elsődleges védelmi funkciót, ahol a kataláz csak kis mennyiségben van jelen, így a sejtplazmában és a mitokondrium mátrixban. Gyakorlatilag azonban nem mutathatók ki a GSH-Px enzimek a mikroszómákban, a sejtmagban és a peroxiszómákban, amelyek a sejt csaknem teljes kataláz-készletét hordozzák. A klasszikus GSH-Px elsősorban azokban a szövetekben található meg, amelyekben nagyarányú peroxid-termelés folyik, így a vörösvértestekben, a májban, a tüdőben és a vesében (Chambers és Harrison, 1988). A glutation-redox ciklusban (*2. ábra*) az enzim szelenolát formája redukálja a peroxid szubsztrátot alkohollá, miközben savvá oxidálódik. Ebben a katalitikus lépésben úgy tűnik, nem alakul ki a klasszikus enzimszubsztrát komplex. A savas forma a redukált glutation révén szelenoszulfid addukt képzésben vesz részt. Amennyiben a rendszerben van szabad GSH, az enzim aktív formája reagál azzal és GSSG keletkezik, miközben az enzim szelenolát formában felszabadul (Stryer, 1988; Erdélyi et al., 1999).

5. ábra
A glutation-peroxidáz katalitikus működése



(Epp et al., 1983; Stryer, 1988)

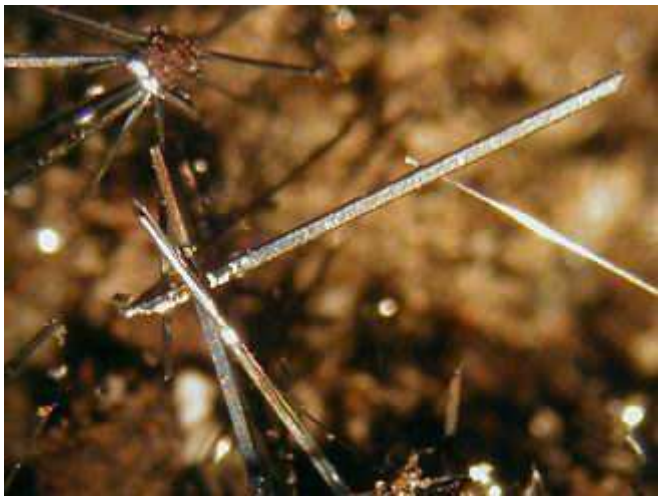
A sejtekben egy másik enzimcsalád, a glutation-transzferáz, vagy ismertebb nevén a glutation-S-transzferáz család is megtalálható, amely a glutation-peroxidázéhoz hasonló katalitikus aktivitással is rendelkezik (Sun et al., 1996). Az enzimnek kulcsfontosságú szerepe van az enzimatikus detoxifikáció második szakaszában. Egy specifikus glutationkötő-hellyel és egy nem specifikus hidrofób ligandkötő-hellyel rendelkezik, amelyek segítségével stabilizálja a tiolát aniont, amely elektrofil csoportokkal reakcióba

lépve tiolétert hoz létre (Wilce és Parker, 1994). A folyamat során glutation-diszulfid (GSSG) képződik, amelynek glutationná való visszaalakulása nélkülözhetetlen az enzim működéséhez. A glutation-S-transzferáz szelénhiányos állapotokban aktiválódik és átveszi a szelén-függő glutation-peroxidáz funkcióját (Lawrence és Burk, 1978).

2. 6. 3. 2. A szelén

2. kép

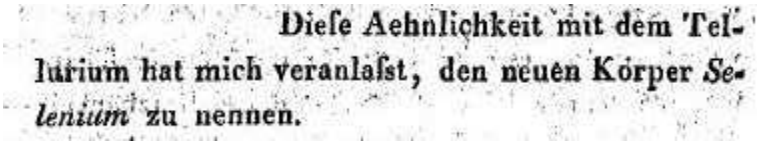
A szelén elektronmikroszkópos felvétele



(elements.vanderkrogt.net)

A szelént 1817-ben Jacob Berzelius (1779−1848) fedezte fel (Berzelius, 1818). Berzelius Szelénéről, a Hold görög istennőjéről nevezte el az új anyagot.

3. kép: A szelén első leírása



Dieſe Aehnlichkeit mit dem Tel-
lurium hat mich veranlaſst, den neuen Körper *Se-*
lenium zu nennen.

(elements.vanderkrogt.net)

A kutatók megfigyelték, hogy a szelénnek fényhatásra csökken az elektromos ellenállása. Így fedezték fel annak lehetőségét, hogy a képeket elektromos jelekké alakítsák át. A szelén hamarosan a fotoelektromos alkatrészek és a televíziók gyártásának a középpontjába került. Jelenleg is széles körben használják az iparban: többek között félvezetők, fénymásolók, rozsdamentes acél készítéséhez (Weeks, 1968).

2. 6. 3. 2. 1. A szelén élettani hatása

Sokáig toxikus vegyületnek tartották, a század közepén állatkísérletek segítségével azonban bebizonyosodott, hogy a szervezet számára nélkülözhetetlen nyomelem (Vernie, 1984; Lisk, 1994). A szelén esetében egyidejűleg igazak az egymásnak ellentmondó

megállapítások. A szelén mérgező és egyben rákkeltő hatású elem is lehet, ugyanakkor létfontosságú és a rákbetegségek megelőzésére (gyógyítására) alkalmas mikroelem. A szelén hatását a koncentráció, a vegyületforma és más paraméterek is befolyásolják (Vernie, 1984).

A szervezetben ugyan kis mennyiségben fordul elő, de szinte valamennyi szövet egészséges működéséhez hozzájárul (WHO, 1996). A sejtek működéséhez nélkülözhetetlen aktív formájú pajzsmirigyhormon kialakulásához is szükséges (Makropoulos, 1997). Legnagyobb mennyiségben a vesében, a májban, a lépben, a hasnyálmirigyben és a herékben halmozódik fel (Scott, 1998).

2. 6. 3. 2. 2. A szelén antioxidáns és egyéb hatásai

A szelén a szervezet antioxidáns védelmi rendszerében vesz részt, ami gátolja a szabad gyökök DNS-molekulákat károsító hatását (Herbert et al., 1996). Az antioxidáns tulajdonságai közül a legfontosabb a glutation-peroxidáz antioxidáns hatású enzim működésében betöltött szerepe. A glutation-peroxidáz az immunrendszer működésére is hat, ilyen módon a fehérvérsejtek termelését és aktivitását, valamint a csecsemőmirigy (thymus) működését is fokozza (Schrauzer és Sacher, 1994). A szelén önállóan is fontos védőhatást fejt ki a környezet és a táplálék toxikus hatásával szemben (Mihailovic, 1998). Összetett antioxidáns hatásának köszönhetően megelőz olyan betegségeket, amelyek a szabad gyökök felhalmozódása következtében alakulnak ki a szervezetben (daganatos elváltozások, szív- és érrendszeri megbetegedések, stroke, szürke hályog, öregedési folyamatok stb.) (Mark, 1998; Arthur, 1990).

A szelén csökkentheti a stroke és az infarktus kockázatát, mivel gátolja az erekben a vérrögképződési hajlamot, növeli a HDL (High Density Lipoprotein) arányát a vérben az LDL (Low Density Lipoprotein) rovására (Mark, 1998). A szelén az immunrendszer egészséges működéséhez is szükséges, mivel a szervezet általános ellenállóképességét is növeli. Ez a hatása az immunrendszer működőképességének javításában és különböző vírusok leküzdésében is megnyilvánul. A HIV-vírus elleni hatékonyságát jelenleg kutatják (Baum, 1997; Beck, 1998). A szelén E-vitaminnal együtt gyulladáscsökkentésre, a reumás ízületi gyulladás, a pikkelysömör, a bőrfarkas és az ekcéma tüneteinek enyhítésére is alkalmas (Forceville, 1998). A szelén sokrétű pozitív hatást fejt ki a baromfifajok esetében is. A szelén alkalmazásával a baromfi-takarmányozásban, valamint annak szerepéről a baromfi-anyagcsere folyamataiban és termelésében Surai (2006) könyve részletesen foglalkozik.

2. 6. 4. A madárembrió antioxidáns rendszere

Az antioxidáns-hatás fontos szerepet játszik a madárembrió fejlődésében (Surai et al., 1999). Védelmet nyújt az anyagcsere folyamán keletkező szabad gyökök és a toxikus anyagcsere-termékekkel szemben. Ez a védelem három szinten valósul meg a szervezetben.

Elsőként az antioxidáns-enzimek (szuperoxid dizmutáz, glutation peroxidáz és kataláz) tevékenysége valósul meg (Surai et al., 1999). Ezek az enzimek képesek megelőzni és megkötni a szabad gyököket, mielőtt azok káros hatásukat kifejthetnék (Halliwell és Gutteridge, 1999).

A második szintet az antioxidáns-védelemben az A-, E- és C-vitaminok, valamint a karotinoidok együttes hatása képezi (Surai et al., 1999). Az E-vitamin kiemelt szerepet

játszik az embrió fejlődése során, és képes raktározódni az embrió szöveteiben (Surai et al., 1996; 1999). A karotinoidok ugyancsak fontos szerepet játszanak a csirke-embrió antioxidáns-védelmében (Surai et al., 1999; Surai et al., 1996). Az A-vitamin is részt vesz az antioxidáns-védelemben (Livrea et al., 1996), de túladagolása együtt járhat az antioxidáns-rendszer veszélyeztetésével tojótyúkokban (Surai et al., 1998) és csirkékben (Surai et al., 2000; Surai és Kuklenko, 2000). A C-vitamin (Surai et al., 1996) és glutation (Surai et al., 1999) a madár-embrió antioxidáns-védelmének fontos vegyületei.

Az antioxidáns-védelem harmadik szintű tevékenysége abban nyilvánul meg, hogy specifikus enzimek rendszere helyreállítja a sérült sejtmembrán-funkciót, és eltávolítja a sérült molekulákat a sejtből (Surai et al., 1999). A szelenometionin stimulálja azokat az enzimeket, amelyek a DNS helyreállításában vesznek részt (Shen és Pervaiz, 2006). Laboratóriumi kísérletekkel igazolható, hogy a tojás sárgája a természetes eredetű antioxidánsok számos vegyületét képes raktározni: α, γ és δ tokoferolt, valamint α és γ tokotrienolt. A természetes eredetű karotinoidok közül a lutein, zeaxantin, likopin és a ß-karotin is deponálódik a tojás sárgájában (Karadasa et al., 2005). A tojássárgájában az α-tokoferol tízszeres mennyiségben raktározódik − összehasonlítva a γ-tokoferol mennyiségével. A tokotrienolok ennél jelentősen alacsonyabb koncentrációban találhatók meg a tojássárgájában, az α-tokoferol mennyiségének mindössze kb. a 3%-át érik el.

Az embrionális fejlődés során a madárembrió antioxidáns rendszerének változását (Surai et al., 1996) a következőképp írták le: Az α-tokoferol és a karotinoidok mennyisége az embrionális fejlődés 15. napja és a kikelés időpontja (21. nap) között a tojás sárgájában jelentősen lecsökken; ezzel párhuzamosan viszont ugyanezek az antioxidánsok nagyobb mennyiségben halmozódnak fel a szikhártyában. A májban mindkét említett zsíroldható antioxidáns lényeges koncentrációnövekedést mutat az embrionális fejlődés 18. napja és a kikelés utáni 1. nap között. A madárembrió zsírszövetének α-tokoferol tartalma szintén jelentősen megemelkedik a kikelés körüli időszakban. Az α-tokoferol szintje az összes szövet közül a májban a legmagasabb, a legalacsonyabb szintet viszont az agyszövetben mérték. Ugyanúgy a karotinoidok sem halmozódtak fel mérhető mennyiségben a fejlődő agyszövetben. C-vitamin nem volt kimutatható a tojás sárgájában kezdeti stádiumban, viszont a szikhártyában jelentős mennyiségben halmozódott fel, különösen a fejlődés kezdeti szakaszában. Az embrionális agyszövet C-vitamin-tartalma kiugróan magasabb volt más szövetféleségekénél. *In vitro* kísérletekben az agyszövet homogenizátuma nagyfokú érzékenységet mutatott a lipid peroxidációra, viszont a szikanyag, valamint a szikmembrán viszonylag ellenállt a lipid peroxidációnak, különösen Fe2+ jelenléte nélkül (Surai et al., 1996).

2. 6. 5. Az antioxidánsok immunstimuláns hatása

A szervezet immunrendszere érzékeny az oxidatív stresszre, hiszen az immunválaszok koordinációja a sejtek egymás közötti kommunikációján alapszik. A sejtmembránok peroxidációja megváltoztatja a membránok struktúráját és funkcióját, melynek következményeként károsodik a sejtek közötti információ-átvitel. Az immunsejtek jelentős antioxidáns-ellátást igényelnek, ilyen módon hatékonyabban képesek védekezni az oxidációs folyamatok kártétele ellen. Az avas, vagy toxinokkal, nehézfémekkel, illetve egyéb káros idegen anyagokkal szennyezett takarmány-, valamint az állat igényeinek (különösen antioxidáns anyagok tekintetében) nem megfelelő összetételű táplálék-ellátás rontja az immunstátusz színvonalát, csökkenti az ellenálló képességet, növeli a kardiovaszkuláris betegségek, a rák és az artritisz kialakulásának kockázatát (Negoro és Hara, 1992).

A takarmány és a táplálék antioxidáns-összetevői képesek az immunválasz-készség növelésére. Az antioxidánsok olyan módon hatnak az immunfunkcióra, hogy fokozzák a limfociták proliferációját és a T-helper sejtek kifejezett működését. Az antioxidáns-hatás abban is megnyilvánul, hogy nő az interleukin 2 (IL-2) termelődése, mely által a T-helper sejtek működése is fokozódik. Az antioxidánsok pozitíve hatnak a T- és a B-limfociták, valamint a természetes ölő sejtek növekedésére, és emelkedik a humorális immunválasz-készség (Meydani, 2001).

Az E-vitamin egy hatásos lánctörő (chain-breaking) antioxidáns. A sejtmembránok védelme által képes megőrizni az immunsejtek működőképességét. Humán és állatkísérletekben egyaránt igazolt, hogy a napi szükségleti minimumhoz képest akár ötvenszeres dózisig képes az E-vitamin növelni a szervezet immunfunkcióit (Ortega et al., 2002).

A táplálékkal bevitt antioxidánsok hatásosan csökkentik az öregedéssel járó immunfunkciók hanyatlását (Mckay et al., 2000). Harper és Firth (1999) szerint a plazma antioxidáns-kapacitása a takarmány antioxidáns-tartalmától, valamint az életkortól egyaránt függ. Kísérletekkel bizonyították, hogy az idősebb macskák vérplazmájának antioxidáns-kapacitása szignifikánsan alacsonyabb fiatalabb társaikénál.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

Kísérleti munkánk folyamán az antioxidáns tulajdonságú vegyületeket abból a célból adagoltuk fürjek takarmányába, hogy az általunk feltett tudományos hipotéziseket igazoljuk, kérdéseinkre adekvát választ kapjunk. Ennek érdekében kísérleti állatként a japánfürjet választottuk, hiszen a tyúkfélék tenyésztése és takarmányozása terén végzett kutatásokban a japánfürj (*Coturnix coturnix japonica*) kitűnő modellállatnak bizonyult (Wilson et al., 1961; Czibulyás és Kovács, 1976). Ez annál is inkább elmondható, mert gazdaságos tartása és takarmányozása, a házityúkkal való közeli rokonsága alkalmassá tette modellkísérletek elvégzésére. A japánfürj egyaránt alkalmas a tyúkfélékben lejátszódó élettani (Pusztai és Bárdos, 1995), valamint takarmányozástani (Kakuk, 1981) kísérletek modellezésére.

Kísérleteinkben a japánfürjeket zárt ketreces tartási körülmények között helyeztük el, kereskedelmi forgalomban kapható háztáji tojótáppal etettük, és a kísérletek folyamán ebbe a tápba kevertük a takarmány-kiegészítőket. Kísérleteinkben minden kísérleti csoport *ad-libitum* fogyaszthatta a tápot és az ivóvizet. Az állatokkal kizárólag vezetékes csapvizet itattunk, melybe nem adagoltunk sem kiegészítőket, sem gyógyszereket. Kísérleteink folyamán az állatokat természetes megvilágítás, azonos klimatikus feltételek mellett helyeztük el, ilyen módon az eltérő környezeti feltételek nem befolyásolhatták eredményeinket. A kísérleti csoportokat elkülönítve, megfelelő távolságra helyeztük el egymástól, ilyen módon a különböző adalékanyaggal kiegészített takarmány nem keveredett a másik csoportéval. Az állatok ketrece lejtős rácspadozatú volt, így a megtojt tojás azonnal kigurult az állatok alóli térből. A kísérletek folyamán történő tojásfogyasztás esélye így minimálisnak tekinthető. A tojásokat naponta egyszer gyűjtöttük, és a kísérlettől függően megfelelő száraz, hűvös helyen, vagy esetenként hűtőszekrényben tároltuk a laboratóriumi vizsgálatok elvégzéséig.

Kísérleti munkánkat négy kísérleti elrendezésben végeztük. Valamennyi kísérlet a baromfi takarmányába adagolt antioxidáns vegyület optimális mennyiségét, összetételét és hasznosulását vizsgálta. A dolgozatban a kísérletek leírását a célkitűzéseknek megfelelően, a megvalósítás sorrendjében ismertetjük.

3. 1. A kísérletek bevezetése

A kísérleteket a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Karának Állatélettani és Állat-egészségtani Tanszékén végeztük. Az állatkísérleteket a tanszék kísérleti állatházában állítottuk be.

7. táblázat

A kísérleteinkben alkalmazott kereskedelmi tojótáp összetétele (g/kg)

Kukorica	300
Búza	276,3
Szója 46%	152
Szójapehely FF	108
Napraforgódara	50
Hostazym előkeverék	1,5
Mész	88,2
Só	3,8
DL-metionin	1,5
L-lizin	2,1
V-535	5

8. táblázat

A kísérleteinkben alkalmazott kereskedelmi tojótáp táplálóanyag-tartalma

AMEn MJ/kg	11,63
Nyersfehérje g/kg	181,00
Lizin g/kg	10,26
Metionin	4, 24
Metionin+cisztin G/kg	7,41
Nyerszsír, g/kg	37,31
Nyersrost, g/kg	39,60
Na, g/kg	1.60
Ca, g/kg	38,50
P, g/kg	6,40
Emészthető foszfor, g/kg	3,57
A-vitamin, NE/kg	10 000
D-3 vitamin, NE/kg	3000
E-vitamin, mg/kg	30

NSP enzim: Az Intervet International B. V. terméke

9. táblázat

A tojópremix összetétele

A-vit.	2000000	NE/ kg
D-3 vit.	500000	NE/kg
E-vit.	4400,00	mg/kg
K-3 vit.	400 ,00	mg/kg
B-1 vit.	400,00	mg/kg
B-2 vit.	1000 ,00	mg/kg
B-6 vit.	600,00	mg/kg
B-12 vit.	4,00	mg/kg
Pantotensav	2400,00	mg/kg
Folsav	200,00	mg/kg
Biotin	30,00	mg/kg
Kolinklorid	85500 ,00	mg/kg
Vas	14400,00	mg/kg
Mangán	18000,00	mg/kg
Cink	14400 ,00	mg/kg
Réz	1440,00	mg/kg
Szelén	40 ,00	mg/kg

Kereskedelmi tojópremix, a Trouw Nutrition Hungary Kft. terméke

(Bábolnai Takarmányipari Kft., Bábolna)

10. táblázat

A takarmányok antioxidáns vegyületeinek kiegészítésére alkalmazott készítmények

Hatóanyag megnevezése	Készítmény	Hatóanyag-tartalom
Szeleno-metionin	SelPlex ™ (Alltech)	1000 mg/kg szelén
E-vitamin	Lutavit E 50 S (BASF)	50% DL-α-tokoferol-acetát
ß-karotin	Lucarotin 10% feed (BASF)	10% β-karotin
C-vitamin	L-aszkorbinsav (Reanal)	99,7% L-aszkorbinsav

3. 2. Az alkalmazott biokémiai módszerek

3. 2. 1. A vizsgálatok során alkalmazott HPLC metodikák

Vizsgálataink során nagynyomású/érzékenységű folyadékkromatográfiás (HPLC) módszereket volt módunkban alkalmazni a retinoid- és karotinoid-analízisekben (Kerti és Bárdos, 1999).
Méréseinket a SZIE MKK Állatélettani és Állat-egészségtani Tanszékén végeztük.

A minta-előkészítés menete:
A kémiai analízis napjáig a mintákat mélyhűtőben, majd felolvasztás céljából hűtőszekrényben (+4 °C) tároltuk. Az egyes szövetekből (vér, máj, tojássárgája, agyszövet) –az előkísérletek alapján várható – retinoid-koncentrációjuk alapján meghatározott mennyiségek kimérésére került sor. A mintákat extraháltuk.

11. táblázat
A retinoid- és ß-karotin meghatározásokban alkalmazott extrakciós paraméterek

Kísérlet	Szövet	Minta	Etanol	n-Hexán
	Vérplazma	0,2 ml	0,2 ml	0,5 ml
	Máj	0,1 g	2,0 ml	2,0 ml
	Agy	0,1 g	1.0 ml	2,0 ml
	Tojás-sárgája	0,1 g	1,0 ml	2,0 ml

(Kerti és Bárdos, 1999)

A lezárt csövek tartalmát kémcsőkeverővel erősen összeráztuk (U≈5.000, t:1min). A rázatást követően hűthető centrifugával (Janetzky MLW K 70D) szétválasztottuk a fázisokat (rpm 3000, t:10 min). A felülúszóból végeztük az α-tokoferol-, retinoid- és ß-karotin-analízist.

A kis egyedi mintamennyiség miatt esetenként az adott kezeléseknek megfelelő felülúszók azonos mennyiségeinek az összeméréséből készített poolokból végeztük a retinoid- és karotinoid-analízist.

A retinoid- és ß-karotin-profil meghatározásánál alkalmazott HPLC készülék:

- nagynyomású pumpa (Liquopump 312/1; Labor MIM, Budapest), ill. (JASCO PU-980 HPLC pumpa)(JASCO-Japán);
- injektor (20 μL-es hurokkal);
- előtétoszloppal szerelt 4x200 mm analitikai oszlop (Si-100-S10 CN; BST Rt., Budapest);
- átfolyós küvettával ellátott UV-Vis fotométer (ISCO V4- Akron, USA);
- állítható hullámhosszú potenciométer rekorder (Radelkisz Rt., Budapest).

Szeparációs paraméterek:

- iniciált minta mennyisége 20 μL;
- eluáló folyadék: n-hexan/izopropil-alkohol (97,5%/2,5%). Mindkét oldószer HPLC-minőségű (Reanal, Budapest);

- elúciós áramlási sebesség 1,51 mL/min, nyomás ≈50 bar;
- detektálási hullámhossz retinoidok esetében λ=300 nm, BC esetében λ=450 nm.

A HPLC-kromatogramm csúcsokat standard vegyületek: retinol (Sigma, St Louis USA), retinil-palmitát (NBC, Cleveland, USA) és ß-karotin (E. Merck, Darmstadt Németország) alapján azonosítottuk. A koncentrációkat a standard hígítások mérésével kapott csúcsmagasságokból számítottuk.

3. 2. 2. FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) meghatározás (plazma- és szövetmintára)

Vizsgálatainkban a Benzie és Strain (1996) által kidolgozott és ugyanazon szerzők által (Benzie és Strain 1999) módosított módszert alkalmaztuk. Ezt a módszert (Gaál és mtsai, 2000) már csirke máj- és agyszövet antioxidáns kapacitásának mérésére is alkalmazták.

A módszer elve:
Alacsony pH-értéken a ferri-tripiridyl-triazine (FeIII – TPTZ) komplex a közegben jelenlévő oxidáns anyagok mennyiségének mértékében ferro (Fe II – TPTZ) formájúvá redukálódik. Az utóbbi 593 nm-en mérhető intenzív kék elszíneződést ad.
Elsőként négy törzsoldatot kellett elkészíteni:
A: 300 mmol/l acetát puffer (1,55 g Na –acetát 3 H_2O + 8 ml ecetsav →500 ml) – eltárolható törzsoldat.
B: 10 mmol/l TPTZ (2,4,6-tripiridyl-s-triazin) 40 mmol/l HCl-ban oldva (TPTZ old.: 31 mg TPTZ→10 ml HCl, HCl old.: 0,32 ml konc. HCl→100 ml-re) – frissen készítendő.
C: 20 mmol/l ferri-klorid ($FeCl_3$ * 6H_2O) 54 mg→10 ml-re
D: Standard törzsoldat: 1000 µmol/l ferro-szulfát ($FeSO_4$ * 7 H_2O) 28 mg → 100 ml-re. – frissen készítendő.
A törzsoldatok elkészítése után a mintaszám függvényében elkészítettük a reagens oldatot: A+B+C (10+1+1), melyet minden mérés előtt, naponta frissen kell elkészíteni.

Standard oldat:
D-törzsoldat higításából készül

Koncentráció (µmol/l)	D-törzsoldat higítás eredeti D-törzsoldat
1,5 ml ad 2,0 ml	
1,0 ml ad 2,0 ml	
0,5 ml ad 2,0 ml	
0,2 ml ad 2,0 ml	

Kivitelezés:
20 µl minta (EDTA plazma) + 600 µl reagens ΔOD 593 nm
A reagenst előre kimérjük egy kémcsőbe, majd belemérünk 20 µl mintát. A fotometrálást azonos ütemben végezzük.
Tojás:
Előkészítés: a sárgája tömegéhez hozzáadunk ugyanannyi ml fizvizet, majd 5%-os TCA-t a fehérje-kicsapása céljából. A centrifugálást és a mérést a vérhez hasonló módon végezzük.

Szövet:

Előkészítés: 1:9 arányban minta + fizvíz. Centrifugálás után mérés. (Benzie és Strain, 1996)

3. 2. 3. Szelén vizsgálati metodika teljes vér- és szövetmintákban

1. Mintaelőkészítés:
A vérmintákból 2 ml-t mikrohullámú roncsolóban 5 ml salétromsav + 1 ml hidrogénperoxid elegyében elroncsoltunk és 10 ml-re töltöttünk. A szövetmintát előbb 60 °C-on kiszárítottuk, és a szárazanyagból 0,5 g-ot a fentiekhez hasonlóan roncsoltunk.

2. Mérés:
A roncsolatból a Se-tartalmat elektrotermikus gerjesztésű lángmentes atomabszorpciós spektrométerrel mértük (UNICAM 939 QZ GFAA spektrométer) Zeeman háttérkorrekcióval. Az alkalmazott módszer a SZIE központi laboratóriumának saját fejlesztésű módszere (SM 501/0837. Reg. sz. 3:1996).

3.2.4. Malondialdehid-tartalom mérése:

A 4. kísérletben a tojássárgája oxidatív stabilitását jellemző TBARS érték (kifejezve nmol MDA/g tojássárgája) meghatározását a Dorman és mtsai (1995) által ismertetett módszer alapján végeztük. A malondialdehid méréséhez 2-tiobarbitursavas reakciót alkalmaztunk, amely azon az elven alapul, hogy a malondialdehid savas közegben 100 ^{o}C-on a 2-tiobarbitursavval sárgás-vörös komplexet képez, amelynek 535 nm-en van az abszorpciós maximuma (Placer et al., 1966).

Anyagok:
- KCl
- Ecetsav
- Tiobarbitursav
- Na-dodecyl-szulfát
- N-butanol
- Tetraetoxipropán (Malondialdehid-bis-dietil-acetát)
- Etanol

Kivitelezés:
- A tojássárgája-mintából 0,1 g-ot 0,9 ml 1,15%-os KCl-oldatban homogenizáltunk.
- A homogenizátum 0,5 ml-éhez 1,5 ml 20%-os ecetsavat (pH=3,5), 1,5 ml 0,8%-os tiobarbitursav oldatot (1,1 % Na dodecyl szulfátban oldva) és 0,5 ml desztillált vizet adtunk. Majd ismét homogenizáltuk.
- 100 ^{o}C-on vízfürdőben 30 percig inkubáltuk.
- Lehűtés után a mintákhoz 5 ml n-butanolt adtunk.
- Keverés után 1500 fordulat/perc fordulatszámon 10 percig centrifugáltuk.
- A butanolos fázist butanol vak oldattal szemben 532 nm-en fotometráltuk.
- Számítás: a mért OD-értékek MDA-koncentrációban történő kifejezése érdekében tetraetoxipropán (Malondialdehid-bis-dietil-acetát) etanolos oldatából előállított standard sor mérési eredményeit használtuk fel.

3. 3. Statisztikai módszerek

A kísérleti kezelések szignifikáns hatását egytényezős variancia-analízissel állapítottuk meg.

A módszer leírása:

Több alapsokaság várható értékére vonatkozó hipotézisvizsgálatok: anova-variaciaanalízis

A kezelések hatásának a vizsgálatára alkalmaztuk, ahol az alapsokaság egy bizonyos tulajdonságának mért értéke a különféle kezelések hatására azonos (nincs hatás), vagy különbözik (van hatás).

Egyszempontú (vagy egytényezős), teljesen véletlen elrendezésű modell (1TV)

FELTÉTEL: A **k** darab alapsokaság, amelyből a független minták származnak, normális eloszlású és azonos szórású (normalitásvizsgálat , Bartlett-próba).
KÉRDÉS: a **k** darab független, (nem feltétlenül azonos elemszámú) véletlen minta alapján elfogadható-e az a feltételezés, hogy a k minta azonos várható értékű alapsokaságból származik?
Ho :μ_1=:μ_2= μ_3= μ_4=.....= μ_k= μ
H_A: Van köztük legalább kettő nem egyenlő. $\mu_i \neq \mu_j$

A további számítást Microsoft Excell programmal végezzük: Data analysis, ANOVA:SINGLE FACTOR
KRITIKUS TARTOMÁNY: K={F$\succ$F*}
Ha elfogadjuk a Ho-t, akkor azt mondjuk, hogy a minta alapján a kezelések között nem mutatható ki szignifikáns eltérés.
Ha Ho-t elvetjük, akkor meg kell néznünk, hogy mely kezelések különböznek szignifikánsan egymástól. A csoportonkénti mintaátlag-különbségeket össze kell hasonlítanunk az **α** hibához tartozó szignifikáns differenciával.

SzD $_\alpha$= $t_{1-\frac{\alpha}{2}} \cdot \sqrt{MS_H(\frac{1}{n_i}+\frac{1}{n_j})}$, ahol MS_H a csoporton belüli (Within groups) szórásnégyzet (Mean square) az ANOVA táblázatból.
DF=N-k

Ha a két átlag különbsége nagyobb SzD $_\alpha$-nál ,akkor a minták szignifikánsan különböznek.

$$\left|\bar{x}_i - \bar{x}_j\right| \succ SzD_\alpha$$

3. 4. A kísérletek leírásai

3. 4. 1. 1. kísérlet

A kísérlet címe: A tojás és a vérplazma antioxidáns kapacitásának mérése (modellkísérlet japánfürjekben)

Kísérleti állatok és kezelések

A japánfürjek takarmányát antioxidáns tulajdonságú vegyületekkel (szelén, E-vitamin, ß-karotin és C-vitamin), valamint ezek keverékeivel egészítettük ki − a szükségletet lényegesen meghaladó mennyiségben, amelyek önmagukban és együttesen is képesek a szervezet antioxidáns kapacitásának növelésére. A kísérlet beállításánál 6-8 hetes japánfürjeket 5 kísérleti csoportba osztottunk.

1.1. táblázat

A kísérleti takarmányhoz adagolt antioxidáns kiegészítők mennyisége

Csoport száma	Szelén (mg/tak.kg)	E-vitamin (mg/tak.kg)	C-vitamin (mg/tak.kg)	ß-karotin (mg/tak.kg)
1	0,8*	0	0	0
2	0,8*	500	0	0
3	0,8*	0	0	33,3
4	0,8*	0	500	0
5	0,8*	500	500	33,3
Kontroll	0	0	0	0

* A jelen kísérletben alkalmazott teljes értékű takarmányhoz adagolt 0,8 mg/kg szelén meghaladja az Európai Unió 1750/2006/EK rendeletében maximalizált 0,5 mg/kg takarmány szeleno-metionin szintjét.

Mintavétel, vizsgált paraméterek

Vizsgálatainkban 8 hetes japánfürjeket tojóketrecekben helyeztünk el 1 kakas: 3 tyúk ivaraányban. A fürjekkel a kereskedelmi forgalomban beszerezhető tojótápot (Bábolnai Takarmányipari Kft., Bábolna) etettük a kísérlet kezdete előtt. Miután levettük a 0. napi mintákat (önkontroll), ugyanezt a tápot egészítettük ki szelénnel, E-vitaminnal, C-vitaminnal és ß-karotinnal.

A kísérlet kezdetekor a kísérleti csoportok takarmányába a kiegészítőket hatóanyag-tartalmuktól függő mennyiségben bekevertük. A kísérlet folyamán alkalmazott antioxináns vegyületeket a 0. napon bekevertük az alaptakarmányba, majd sötét, hűvös helyen tároltuk.

Az állatok 3 héten át *ad libitum* fogyasztották az antioxidáns vegyületekkel kiegészített tápot.

A fürjekből a kísérleti táp etetése előtt (0. nap), illetve a záró (21.) napon vérmintákat vettünk (állatonként egy minta) heparint tartalmazó csövekbe, a vérplazmát és a vérsejteket centrifugálással elválasztottuk, majd a vérplazmából meghatároztuk a szelén, α-tokoferol-, retinol- és ß-karotin-tartalmat.

A kísérlet ideje alatt naponta folyamatosan gyűjtöttük a tojást és csoportonként elkülönítve, azonos körülmények között tároltuk. A tojássárgájából a vérplazmához hasonlóan mértük annak szelén-, α-tokoferol-, retinol- és ß-karotin-tartalmát, valamint a tojássárgája antioxidáns-kapacitását a FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) érték mérésével határoztuk meg.

3. 4. 2. 2. kísérlet

A kísérlet címe: Különböző mennyiségű és összetételű antioxidáns-kiegészítés hatásának vizsgálata japán fürjekben

Második kísérletünkben arra törekedtünk, hogy az első modellkísérlet eredményeit kamatoztatva optimális kísérleti elrendezést tervezzünk.

Vizsgálati céljainkat az alábbi pontokban foglaljuk össze:

- A takarmányban az állatok aktuális szükségletétől eltérő mennyiségben adagolt antioxidáns vegyületek mennyiben befolyásolják azok vérplazmában mért koncentrációját és a tojásban történő raktározását.
- A fent jelzett antioxidáns hatású vegyületek milyen mennyisége, illetve mely összetétele eredményezi a tojás legnagyobb antioxidáns kapacitását.
- Az összeállított takarmány-kiegészítők segítik vagy gátolják egyes antioxidánsok raktározódását.

Kísérleti csoportjainkat különböző kombinációban szelén, E-vitamin, C-vitamin és ß-karotin eltérő mennyiségével etettük. Vizsgáltuk, hogy az elfogyasztott mennyiség hogyan befolyásolja a vér és a tojás antioxidáns anyag tartalmát. Vizsgáltuk továbbá, hogy miként változtatja a kiegészítőként adott vegyületek bármelyikének csökkentése a takarmányban a vér és a tojás antioxidáns deponációját. A kísérleti csoportok takarmányából egy-egy antioxidáns vegyületet kihagytunk abból a célból, hogy miként hat ez a többi antioxidáns vegyület depozíciójára.

2.1. táblázat

A kísérleti takarmányhoz adagolt antioxidáns-kiegészítők mennyisége

Csoport száma	Szelén (mg/tak.kg)	E-vitamin (mg/tak.kg)	C-vitamin (mg/tak.kg)	ß-karotin (mg/tak.kg)
Kontroll	0	0	0	0
1	0,8*	500	500	35
2	0,8*	100	100	6,6
3	0,8*	0	100	6,6
4	0,8*	100	100	0
5	0	100	100	6,6
6	0,8*	100	0	6,6

* A jelen kísérletben alkalmazott teljes értékű takarmányhoz adagolt 0,8 mg/kg szelén meghaladja az Európai Unió 1750/2006/EK rendeletében maximalizált 0,5 mg/kg takarmány szeleno-metionin szintjét.

A második kísérletünket 8 hetes japánfürjekben végeztük, melyeket tojóketrecekben helyeztünk el 1 kakas: 3 tyúk ivaraányban. A fürjekkel etetett kontroll takarmány a kereskedelmi forgalomban beszerezhető tojótáp (Bábolnai Takarmányipari Kft., Bábolna) volt, míg a kísérleti csoportokkal azonos táplálóanyag-tartalmú szelénnel, E-vitaminnal, C-vitaminnal és ß-karotinnal kiegészített takarmányt etettünk.

Az állatok 3 héten át *ad libitum* fogyasztották a kontroll-, illetve az antioxidáns vegyületekkel kiegészített tápot.

A fürjekből a kísérleti táp etetésének elején (0. nap), illetve a záró (21.) napon vérmintákat vettünk (állatonként egy minta) heparint tartalmazó csövekbe, a vérplazmát és a vérsejteket centrifugálással elválasztottuk, majd a vérplazmából meghatároztuk a szelén-, α-tokoferol-, retinol- és ß-karotin-tartalmat.

A kísérlet ideje alatt naponta folyamatosan gyűjtöttük a tojást, és csoportonként elkülönítve, azonos körülmények között tároltuk. A tojássárgájából a vérplazmához hasonlóan mértük annak szelén-, α-tokoferol-, retinol- és ß-karotin-tartalmát, valamint az antioxidáns-kapacitás mérésére a FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) módszert alkalmaztuk.

3. 4. 3. 3. kísérlet

A kísérlet címe: Az antioxidáns kiegészítés hatása a japánfürjek keltethetőségére és vitalitására

Harmadik kísérletünkben azt vizsgáltuk, hogy a takarmányba adagolt szerves kötésben lévő szelén, alfa-tokoferol és béta-karotin hogyan befolyásolja a tojások keltethetőségét, és milyen hatással van a kikelt napos állatok vitalitására. Nyomon követtük a zsíroldható antioxidáns vegyületek koncentráció-változását is a napos állatok májában.

Kísérleti állatok és kísérleti elrendezés

A japánfürjeket természetes megvilágítású ketrecben *ad libitum* ivóvíz és takarmányfogyasztás mellett két kezelési csoportra osztottuk. Kezelésenként 5-5 család 3:1 (♀:♂) ivaraányban alkotta az állományt. Az egyik csoport kereskedelmi tojótápot fogyasztott, a másik csoport azonos alaptakarmányát antioxidáns tulajdonságú vegyületekkel egészítettük ki.

3.1. táblázat

A kísérleti takarmányhoz adagolt antioxidáns-kiegészítők mennyisége

Csoport száma	Szelén (mg/tak.kg)	E-vitamin (mg/tak.kg)	ß-karotin (mg/tak.kg)
Kezelt	0,8*	500	35
Kontroll	0	0	0

* A jelen kísérletben alkalmazott teljes értékű takarmányhoz adagolt 0,8 mg/kg szelén meghaladja az Európai Unió 1750/2006/EK rendeletében maximalizált 0,5 mg/kg takarmány szeleno-metionin szintjét.

A fürjekkel három hétig *ad libitum* etettük a takarmánykeverékeket. Az utolsó héten keltetés céljából gyűjtöttük a tojásokat. Az összegyűjtött tojásokból véletlenszerűen kivettünk 40-40 darabot analitikai célra. A kísérlet során hetente vettünk vérmintákat a tojómadarakból. A kikelést követő egy héten keresztül naponta és csoportonként 5 fürjet elvéreztettünk, és kiemeltük a májukat analízis céljából. A kikelt csibék testsúlyváltozását 4 napig naponta mértük.

Analitikai módszerek
A vérplazma, valamint a tojássárgája retinoid- (retinol; retinil-palmität), α-tokoferol- és β-karotin-koncentrációját HPLC-módszerrel határoztuk meg. A tojássárgája antioxidáns-kapacitásának mérésére a módosított FRAP-módszert alkalmaztunk. A szelén meghatározását lángmentes atomabszorpciós spektrofotometriás eljárással végeztük.

Keltetéstechnológia
A tojásgyűjtés befejeztével 3 napig történő pihentetés után mindkét csoport tojásából 100-100 darabot helyeztünk a keltetőbe. A tojásokat *Bábolna Egg Star EU-6-S* típusú keltetőgépben inkubáltuk. A gépberakás előtt 8 órával a tojásokat 25 ^{o}C-on előmelegítettük. A keltetőgépet is előmelegítettük, a tojásokat 37,5 ^{o}C-os kelterőtérbe raktuk. Az inkubációt az ajánlott paramétereknek megfelelően folytattuk (Biesalski et al, 1986; Czibulyás és Kovács, 1976; Kiss, 1981). Keléskor a bújtatóból 6 óránként vettük ki a naposállatokat, ezzel regisztráltuk a kelés intenzitását, valamint ilyenkor lemértük a fürjcsibék tömegét is. A kikelt naposfürjeket csoportonként elkülönítve helyeztük el a további mérések céljából.

3. 4. 4. 4. kísérlet

A kísérlet címe: Természetes és mesterséges eredetű antioxidáns mikronutriensek (ß karotin, E-vitamin, Szelén) hasznosulása

A kísérlet célja az eddig is vizsgált antioxidáns mikronutriensek (ß karotin, E-vitamin, szelén) természetes közegből, illetve kémiai formulából történő hasznosulásának a kimutatása volt.

A kísérlet első szakaszában – előző kísérleteinkhez hasonlóan – japánfürjek takarmányát antioxidáns vegyületek keverékével (szelén, E-vitamin, ß-karotin) egészítettük ki az aktuális szükségletet lényegesen meghaladó mennyiségben (szelén 0,8

mg/kg tak. + E-vitamin 500 mg/kg tak. ß-karotin 35 mg/kg tak.), melynek eredményeként emelt antioxidáns tartalmú tojást kaptunk. A kísérlet második részében az így előállított fürjtojások sárgáját etettük meg egerekkel.

A kísérlet elején két japánfürj csoportot alakítottuk ki. Csoportonként 5-5 tojót helyeztünk el természetes megvilágítású ketrecekbe. Az egyik csoport a kereskedelmi forgalomban kapható tojótápot fogyasztotta, a másik csoport takarmányához pedig a 4.1. táblázatban feltüntetett kiegészítőket kevertük.

4.1. táblázat

A kísérleti takarmányhoz adagolt antioxidáns kiegészítők mennyisége

Csoport száma	Szelén (mg/tak.kg)	E-vitamin (mg/tak.kg)	ß-karotin (mg/tak.kg)
1	0	0	0
2	0,8*	500	35

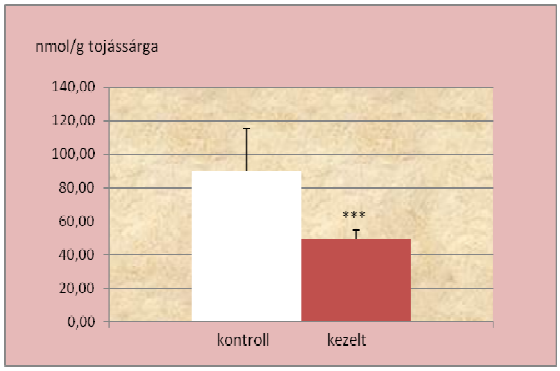
* A jelen kísérletben alkalmazott teljes értékű takarmányhoz adagolt 0,8 mg/kg szelén meghaladja az Európai Unió 1750/2006/EK rendeletében maximalizált 0,5 mg/kg takarmány szeleno-metionin szintjét.

A kísérlet kezdete után egy héttel gyűjteni kezdtük a kísérleti japánfürj-csoportok által tojt tojásokat, majd megmértük azok beltartalmát.

Az antioxidáns kapacitást a tojássárgájában lejátszódó peroxidációs folyamatok egyik melléktermékének, a malondialdehidnek mérésével (MDA) követtük nyomon (4.1. ábra):

Kontroll: 89,87 ± 25,29 nmol/g

Dúsított : 49,58 ± 4,94 nmol/g



4.1. ábra: A tojások MDA tartalma

Az ábrán feltűntetett szignifikancia jelölés: (*** = P<0,001)

Kontroll tojások antioxidáns vegyület tartalma:

E-vit.:0,09 mg/g

ß-karotin:0,34 µg/g

Szelén: 90,3 µg/kg

Az emelt antioxidáns tartalmú tojás beltartalma:

α-tokoferol: 0,39mg/kg

ß-karotin: 3,43mg/kg
szelén: 392,6 μg/kg

Az emelt antioxidáns tartalmú tojás beltartalmi értékeiből kivontuk a kontroll tojás beltartalmának értékét, és így kaptuk meg azt a különbséget, amellyel megegyező mennyiségű szintetikus kiegészítőt kevertünk a kontroll tojás sárgájához. A tojásokat megfőztük, és a keményre főtt tojás sárgáját etettük az egerekkel, valamint ebbe kevertük bele a szintetikus kiegészítőket is.

13-17g-os Balb-C (Charles River) egerekből 3 csoportot alakítottunk ki (csoportonként 10 egyed), majd az alábbi felosztás szerint etettük azokat:

Egércsoportok:
1. emelt antioxidáns tartalmú tojás sárgáját fogyasztotta;
2. szintetikus kiegészítőkkel kiegészítve a kontroll tojás sárgáját fogyasztotta;
3. kontroll tojás sárgáját fogyasztotta.

A szintetikus kiegészítés mennyisége:
E-vit.: 0,3 mg/kg takarmány
ß-kar.: 3,09 mg/kg takarmány
Se.: 300 μg/kg takarmány

Az egerek a kísérlet időtartama alatt kizárólag a tojás sárgáját fogyasztották *ad libitum* mennyiségben, minden más takarmány bekeverése nélkül.

Az egereket 14 napig etettük, majd az exterminációt követően máj- és teljes agymintákat vettünk. Összehasonlítottuk a tojássárgájába beépült, illetve a szintetikus kiegészítés formában adagolt antioxidáns vegyületek hatását az egerek májában és agyszövetében.

Az agyból meghatároztuk annak vasredukciós képességét FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) módszerrel, valamint a retinol és α-tokoferol tartalmat HPLC-módszerrel. A májból HPLC-módszerrel meghatároztuk a retinil-palmitát, a retinol, az α-tokoferol, és a ß-karotin tartalmat, valamint lángmentes atomadszorpciós spektrofotometriás módszerrel a szelén-tartalmat. A kísérlet folyamán a FRAP módszer használhatóságának bizonyítása céljából megmértük a tojások MDA-tartalmát tiobarbitursavas meghatározással is.

4. EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

4. 1. Az 1. kísérlet eredménye és megvitatása

Vizsgálataink célja annak felmérése volt, hogy a takarmányban az állatok aktuális szükségletét meghaladó mennyiségben adagolt vegyületek mennyiben befolyásolják azok vérplazmában mért koncentrációját és a tojásban történő raktározását. Célunk volt másrészt annak meghatározása, hogy a fent jelzett antioxidáns hatású vegyületek milyen mértékben hatnak a vérplazma, illetve a tojás antioxidáns kapacitására. Azt a kérdést tettük fel továbbá, hogy az élettanilag szükségesnél jelentősen nagyobb bevitt mennyiség esetén jelentkeznek-e a hipervitaminózis, illetve a mikroelem-toxikózis tünetei a kísérleti állatokban. Kísérleteinkben a vérplazma- és tojássárgája-minták laboratóriumi analíziséhez a FRAP-módszert alkalmaztuk és adaptáltuk az éppen aktuális minta mérésére. A vérplazma mérésére kifejlesztett módszert alkalmaztuk a tojássárgája antioxidáns kapacitásának a meghatározására. Kísérletünk a módszer alkalmazhatóságát igazolja, további kísérleteink során pedig adaptálható agyszövet antioxidáns kapacitásának mérésére.

Az egyedileg begyűjtött minták egységnyi mennyiségéből csoportonként keveréket készítettünk, az így kapott csoportmintát értékeltük, az eredményt pedig ún. „biológiai átlagnak” tekintettük. Irodalmi adatok alapján azt találtuk, hogy az azonos mennyiségben összemért biológiai minták analízise minden esetben az egyedi értékekből számított átlagokat behatároló szórások sávján belül található. Ez a jelenség enzimek (Bárdos és Buchholcz 1986), valamint immungobulinok (Bárdos et al., 1989) esetében már bizonyított.

Az egyes csoportok átlagos napi tojástermelése a 2. csoportban (szelén + E-vitamin kiegészítés) volt a legnagyobb, míg a többi csoportban 20−50%-kal volt kevesebb a 2. csoporthoz viszonyítva (1.1. ábra).

A vérplazma retinol-koncentrációja a 2. és a 4. csoportban (Se + E-vitamin, ill. Se + C-vitamin-kiegészítés) volt a legnagyobb. A csoportok között a retinol-koncentrációban lényeges eltérés nem mutatkozott (1.2. ábra).

A tojássárgája retinol-koncentrációja (1.3. ábra) ugyanazon két csoportban volt kiemelkedő, mint a vérplazmáé, csak itt a 4. csoportban volt mérhető a legnagyobb érték.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy a tojássárgája retinol-koncentrációja nem követte lineárisan a vérplazma retinol-koncentrációjának változását. A tojássárgája retinol-koncentrációja sokkal nagyobb mértékű eltérést mutatott a csoportok között, mint a vérplazmáé.

A vérplazma α-tokoferol- koncentrációja abban a csoportban volt a legnagyobb, ahol a fürjek az α-tokoferol mellett Se-, ß-karotin- és C-vitamin-kiegészítésben is részesültek: 5. csoport (1.4. ábra).

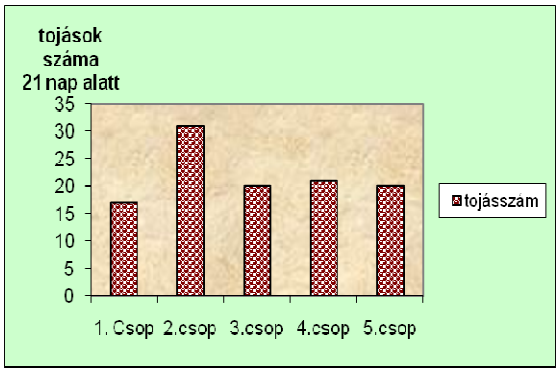
A tojássárgája α-tokoferol- koncentrációja (1.5. ábra) azokban a csoportokban volt a legkiemelkedőbb, amelyek szelén- (2. csoport), illetve szelén-, ß-karotin- és C-vitamin-kiegészítéssel együtt fogyasztották az E-vitamint (5. csoport).

A vérplazma ß-karotin- koncentrációja abban a csoportban volt kiemelkedően a legnagyobb, ahol az összes kiegészítő (5. csoport) szerepelt a takarmányban (1.6. ábra). A szelén kedvező hatása a tojás esetében jutott kifejezésre, ugyanis a szelénnel együtt adagolt ß-karotin deponálódott a legkedvezőbb mértékben a tojás sárgájában(3. csoport) (1.7. ábra).

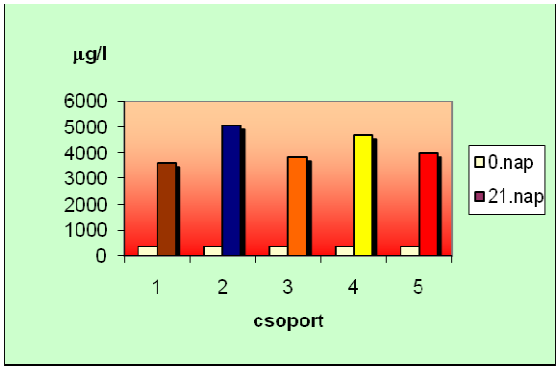
A vérplazma és a tojássárgája szelén-koncentrációjának alakulását a 1.8. ábrán mutatjuk be, amely arra enged következtetni, hogy a Se-raktározódás akkor is kedvező, ha ß-karotinnal, E-vitaminnal, illetve C-vitaminnal együtt keverjük a fürjek takarmányába (5. csoport).

A tojássárgája antioxidáns kapacitásának (FRAP) értéke (1.9. ábra) akkor volt a legnagyobb, amikor Se- és E-vitamin-kiegészítést egyidejűleg adtunk a fürjeknek (2. oszlop). A szelén az E-vitaminnal párosítva még az általunk alkalmazott nagy dózisban is sok esetben a legmagasabb értéket adta.

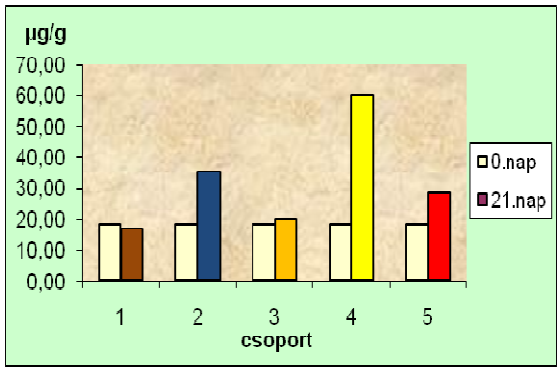
Az eredmények alapján levonható az a következtetés, hogy az 1. kísérlet során alkalmazott antioxidáns hatású vegyületek eltérő mértékben növelik a tojássárgája antioxidáns kapacitását. A szükségletet meghaladó mennyiségben alkalmazott szelénbevitel hatását a vele együtt adagolt zsír- és vízoldékony antioxidánsok bizonyos esetekben még tovább képesek fokozni. A kísérletben használt antioxidáns tulajdonságú anyagok sokszor egy másik antioxidánssal együtt alkalmazva érték el a legnagyobb koncentráció-értéket a tojássárgájában, illetve a vérplazmában.



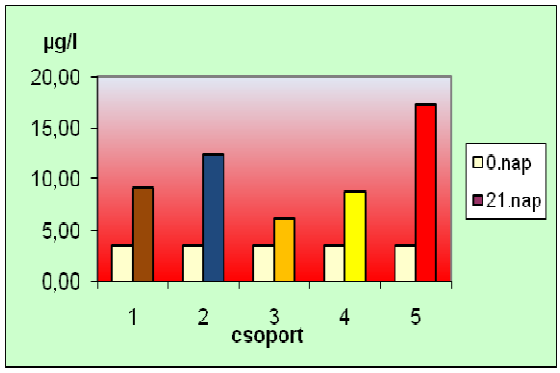
1. 1. ábra: A kísérleti csoportok tojástermelésének alakulása



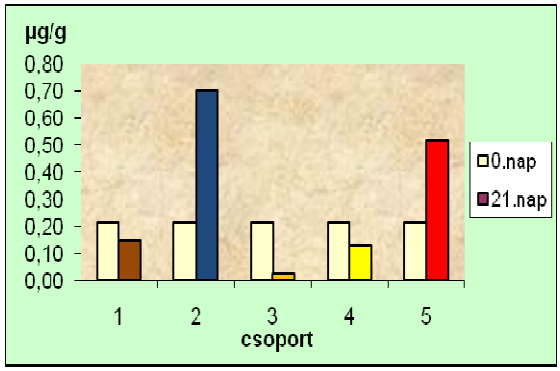
*1. 2. ábra:*A vérplazma retinol-koncentrációja



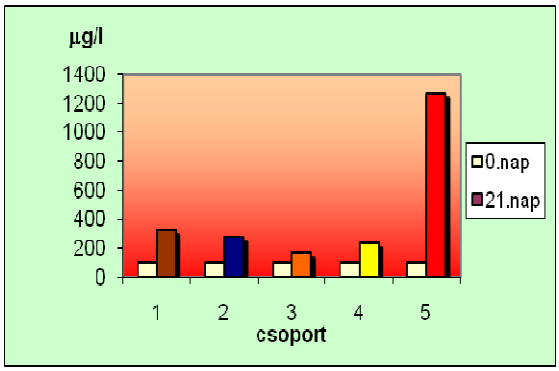
1. 3. ábra: A tojás sárgájának retinol-koncentrációja



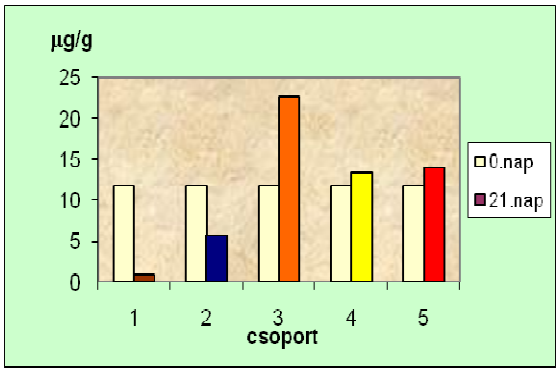
1. 4. ábra: A vérplazma α-tokoferol-koncentrációja



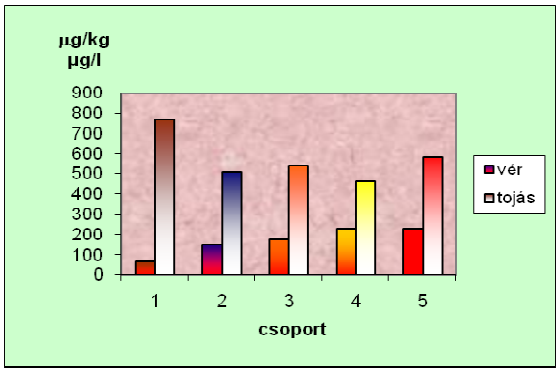
1. 5. ábra: A tojássárgája α-tokoferol-koncentrációja



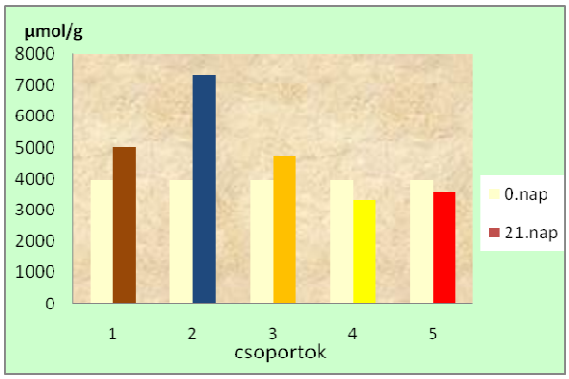
1. 6. ábra: A ß-karotin koncentrációja a vérplazmában



1. 7. ábra: A ß-karotin koncentrációja a tojásban



1. 8. ábra: A vérplazma és a tojás sárgájának szelén-koncentrációja



1. 9. ábra: A tojás sárgájának vasredukciós képessége

Következtetések

Az eredmények alátámasztják, hogy a vizsgált anyagok mérhető mennyiségben raktározódnak mind a vérplazmában, mind a tojássárgájában. Eredményeink alapján megfigyelhető, hogy a szelén együttes adagolása az általunk kiegészítőként alkalmazott antioxidánsokkal több esetben is szinergens kölcsönhatást eredményezett. Az E-vitamin mellett más polién jellegű vegyületek, így a karotinoidok és a retinoidok is szerepet játszanak a biológiai antioxidáns védelemben. Az A-vitamin és előanyagai, a karotinoidok olyan antioxidáns tulajdonságú molekulák, amelyek hatásukat a sejtmembránba beépülve fejtik ki. A többszörösen kettős kötésű szénlánc hatékony elektron akceptor, így szinglet oxigén befogó képességgel rendelkezik (Livrea és Packer 1994). Ezzel magyarázható, hogy kísérletünkben − ha együttesen adagoltuk a ß-karotint, az E-vitamint, a C-vitamint és a szelént − elősegítették az E-vitamin-deponációt a vérplazmában és a tojássárgájában. A szelén és az E-vitamin szinergista hatását mutatja az az eredmény, hogy akkor is növekszik a raktározódás, ha csak szelént és E-vitamint adagolunk együtt. A kísérletben használt kiegészítők közül a szelén az egyetlen, amely akár önállóan, akár más vegyületekkel együtt minden esetben az antioxidáns kapacitás növekedését segíti elő.

A kísérletek folyamán az élettani szükségleti szintet lényegesen (közel 10x) meghaladó mennyiségű kiegészítés nem eredményezett klinikailag megnyilvánuló toxikózisra utaló tüneteket. Egyetlen kivételt kell megemlítenünk: a C-vitamin magas (500 mg/kg takarmány) dózisban történő alkalmazása következtében a tojássárgáját körülvevő szikhártya fellazult, elfolyósodott, így a tojás rövid tárolási idő után alkalmatlanná vált akár a laboratóriumi vizsgálatokra, akár a keltetésre.

4. 2. A 2. kísérlet eredményei

A második kísérlet eredményeinek kiértékelése után megvizsgáltuk, hogy, hogyan alakul a vérplazmában és a tojássárgájában a vizsgált antioxidáns vegyületek deponációja, amennyiben a japánfürjek takarmányába állandó szelénmennyiséget és az élettani szükségletnek megfelelő ß-karotint, E-vitamint, C-vitamint adunk. Ezt az eredményt összehasonlítottuk az előző modellkísérletben is alkalmazott magas dózisú antioxidáns kiegészítés hatásával, valamint az általunk adagolt „antioxidáns koktél" egyes hatóanyagainak kihagyása következtében mért értékekkel is.

A japánfürjek vérplazmájában és tojássárgájában mért antioxidáns vegyületek koncentrációjának változását az egyes antioxidáns kiegészítéseket tartalmazó takarmányok etetésének hatására a 2.1−2.8. ábrákon, az antioxidáns kapacitás értékének változását pedig a 2.9. ábrán mutatjuk be. Az ábrákon a szignifikancia-jelölést az oszlopok alatti betűjelzések mutatják. Azonos betű előfordulása nem mutat szignifikáns különbséget.

A vérplazma α-tokoferol koncentrációja (2.1. ábra) abban a csoportban a legnagyobb, ahol a magas dózisú antioxidáns kiegészítést alkalmaztuk (1. csoport). Szintén magas értéket mutat azokban a csoportokban is, ahol nem dúsítottuk szelénnel vagy C-vitaminnal a takarmányt (5.,6. csoport). Az eredmények a magas szórás-érték miatt a kontrollcsoporthoz képest viszont nem szignifikánsak. Feltételezhető, hogy a fürj vérplazmájának antioxidáns kapacitása egyenes arányban változik a szervezet számára felszívható antioxidáns vegyületek mennyiségével. Ha vízben oldódó, könnyen felszívható az antioxidáns forrás (C-vitamin, szelén), akkor onnan szívódik fel a szervezetbe. Ha nem áll rendelkezésre C-vitamin és szelén, a szervezet antioxidáns forrása az α-tokoferol (Barclay, 1988). Ilyen módon a vérplazma α-tokoferol-szintje közel azonos azzal a fürjcsoporttal, amelyben a legnagyobb volt az α-tokoferol bevitt mennyisége. A kísérlet további eredményei viszont arra világítanak rá, hogy a szelén valamennyi vegyület közül egyértelműen segíti az összes többi antioxidáns hatású vegyület felhalmozódását.

A vérplazma retinol-koncentrációja (2.2. ábra) a C-vitamin kiegészítéstől mentes táp esetén mutatott legmagasabb értéket (6. csoport), viszont az α-tokoferol értékeihez hasonlóan a vérben itt sem tudtunk szignifikáns eredményeket kapni.

A vérplazma β-karotin-koncentrációja (2.3. ábra) egyedül csak a magas dózisú „antioxidáns koktél" takarmányba keverése esetén mutatott szignifikáns növekedést a kontrollhoz képest (1. csoport), de magas értéket jelzett a C-vitamin mentes táp etetése esetén is (6. csoport).

A vérplazma szelén-koncentrációja (2.4. ábra) nincs egyenes arányban az etetett szelén mennyiségével, kísérletünkben ugyanis azt tapasztaltuk, hogy a szelén mellett egyéb antioxidánsok segítik a szelén felszívódását. Abban a csoportban jutott át legtöbb szelén a tojásba, amelynek a takarmányából hiányzott a ß-karotin (4. csoport).

A tojássárgájának szelén-koncentrációja (2.8. ábra) szignifikánsan csökkent abban az esetben, amikor csökkentettük az adagolt antioxidáns kiegészítők mennyiségét a takarmányban. A tojássárgájának szelén-koncentrációja még a kontrollénál is alacsonyabb volt akkor, amikor a takarmányba a szelénen kívül minden más kísérleti antioxidáns-kiegészítőt belekevertünk (5. csoport). Ezek szerint többféle antioxidáns nagy mennyiségű jelenléte a tojásban csökkenti a szelén-deponációt.

A tojássárgájának α-tokoferol koncentrációja (2.5. ábra) a nagymennyiségű antioxidáns anyag bevitele (1. csoport), illetve a C-vitamin kihagyása (6. csoport) esetén volt a legnagyobb. A kontrollhoz képest azonban minden olyan csoportban szignifikáns növekedést kaptunk, amelyben az α-tokoferol kiegészítőként szerepelt.

A tojássárgájának retinol-koncentrációjában (2.6. ábra) csak abban az esetben mértünk a kontrollhoz képest szignifikáns növekedést, ha a kísérleti tápba nem kevertünk C-vitamint (6. csoport).

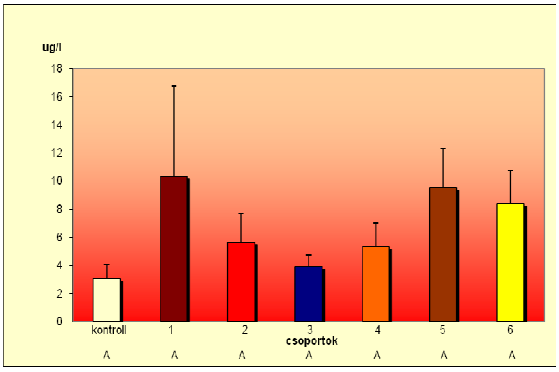
A tojássárgájának β-karotin koncentrációja (2.7. ábra) a nagy dózisú antioxidáns kiegészítés esetén bizonyult a legnagyobbnak (1. csoport).

A tojás vasredukáló képessége (2.9. ábra) szintén a nagy dózisú „antioxidáns koktél" etetése esetén volt a legnagyobb (1. csoport), és itt is tapasztalható, hogy szelén-kiegészítés hiányában mértük a legalacsonyabb FRAP értéket (5. csoport).

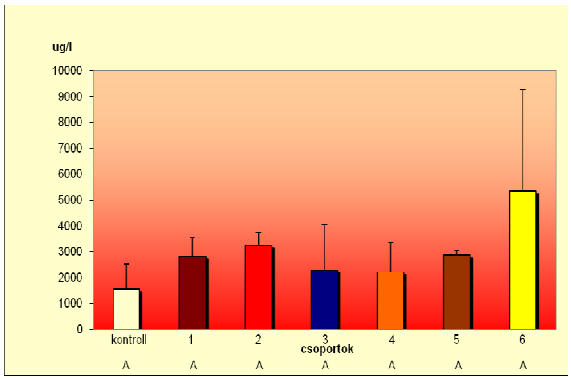
Több esetben tapasztaltuk, hogy C-vitamin mentes táp etetése után magasabb volt a vizsgált vegyületek konzentrációja. A β-karotin esetében a jelenséget azzal magyarázzuk, hogy a mobilizációhoz szükséges micellaképződés pH-függő folyamat. A perfúzióval vizsgált mobilizáció mértéke és a pH között negatív korreláció tapasztalható, és amennyiben a közeg pH<4,5-nél kisebb értékű, a micellák száma jelentősen csökken (El-Gorab és Underwood, 1973). A tyúkfélék béltraktusában az emlősökénél kisebb pH-értékeket közöltek (Duke, 1984; Denbow, 2000), így a karotinoid-mobilizációban e tényezőt is érdemes figyelembe venni. Feltehetően kísérletünkben a C-vitamin-kiegészítés hatására olyan szintre csökkent a pH, amely csökkentette a ß-karotin mobilizációjának hatékonyságát.

A kísérletben beállított csoportok takarány-kiegészítése (a 2.1 táblázat ismételt feltüntetése)

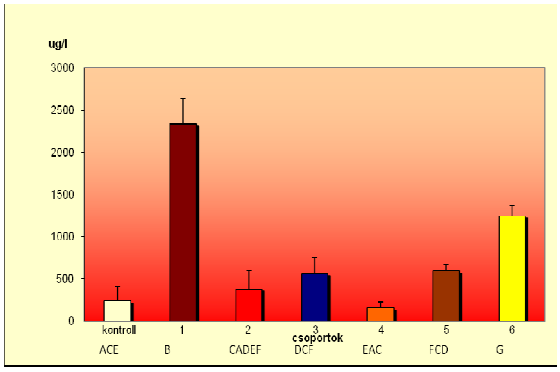
Csoport száma	Szelén (mg/tak.kg)	E-vitamin (mg/tak.kg)	C-vitamin (mg/tak.kg)	ß-karotin (mg/tak.kg)
Kontroll	0	0	0	0
1	0,8*	500	500	35
2	0,8*	100	100	6,6
3	0,8*	0	100	6,6
4	0,8*	100	100	0
5	0	100	100	6,6
6	0,8*	100	0	6,6



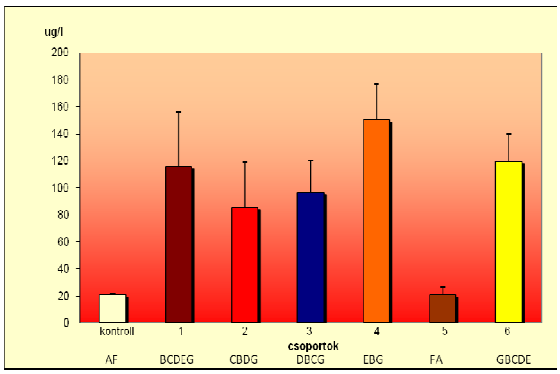
2. 1. ábra: A vérplazma α-tokoferol-koncentrációja



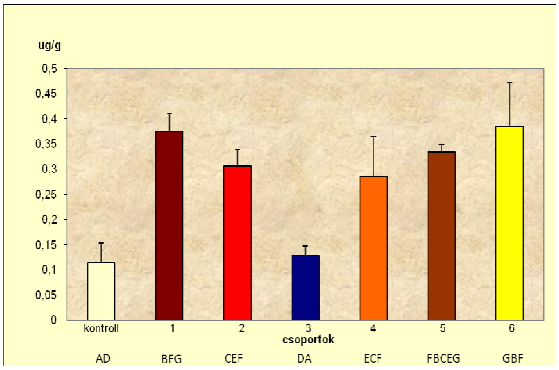
2. 2. ábra: A vérplazma retinol-koncentrációja



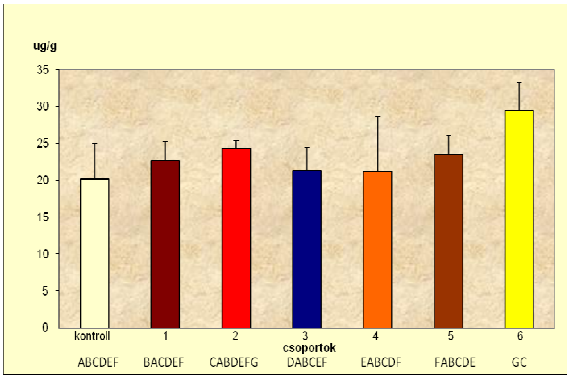
2. 3. ábra: A vérplazma ß-karotin-koncentrációja



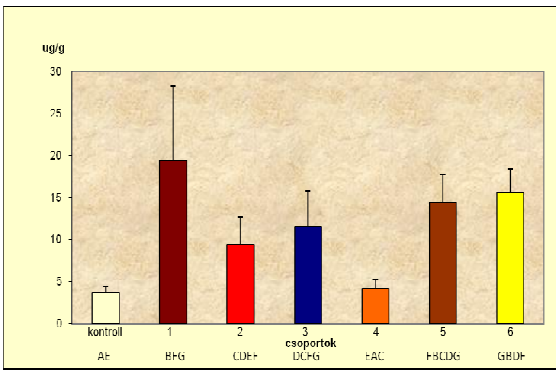
2. 4. ábra: A vérplazma szelén-koncentrációja



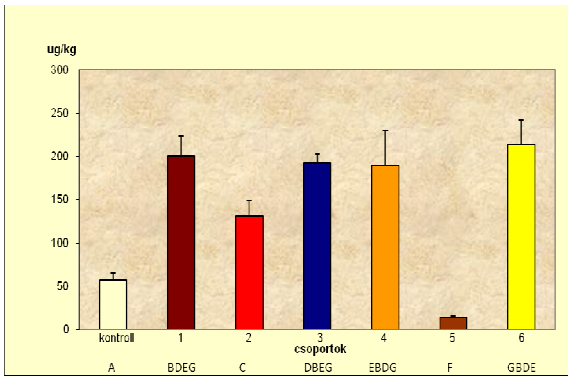
2. 5. ábra: A tojás sárgájának α-tokoferol-koncentrációja.



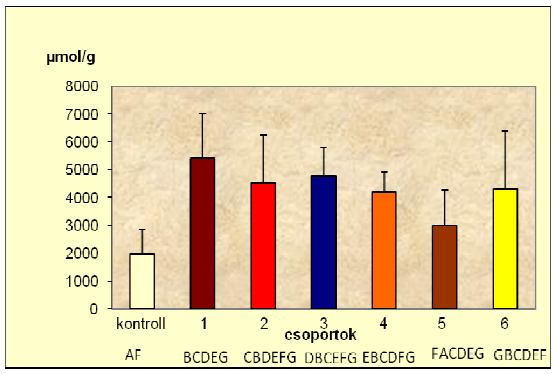
*2. 6. ábra:*A tojás sárgájának retinol-koncentrációja



2. 7. ábra: A tojás sárgájának ß-karotin-koncentrációja



2. 8. ábra: A tojás sárgájának szelén-koncentrációja



2. 9. ábra: A tojás sárgájának antioxidáns kapacitása (FRAP-értéke)

Következtetések

A tojásban raktározódott szelén koncentrációja arányosan követte a kísérleti csoportok vérplazmájában mért szelén koncentrációját. A vérplazma szelén-koncentrációját nagymértékben befolyásolja a kísérleti csoportok takarmány-kiegészítőinek abszolút és relatív mennyisége, amely eredmény egybevág más madárfajokkal korábban végzett vizsgálatok eredményeivel (Surai, 2002a).

A nagydózisú antioxidáns kiegészítés (1. csoport) szignifikáns mértékben növelte a vérplazma ß-karotin koncentrációját. A vérplazma α-tokoferol- és retinol-koncentrációjának változása nem tekinthető szignifikáns mértékű növekedésnek. A tojás esetében a nagydózisú antioxidáns-keverék alkalmazása (1. csoport) szignifikáns mértékben növelte az α-tokoferol-, ß-karotin- és a szelén-koncentrációt, a retinol-koncentráció növekedésére ugyanakkor nem volt szignifikáns mértékű hatása, amely feltehetően az eltérő dózisok és arányok miatt némiképp eltér a korábban végzett vizsgálatok eredményeitől (Surai, 2002a).

A kísérlet eredményei alapján elmondható, hogy a takarmányokhoz szubkrónikus ideig adagolt antioxidáns kombináció összetétele és az egyes antioxidánsok mennyisége külön-külön és együttesen is lényeges az antioxidáns hatás szempontjából. Baromfi-kísérletekben bizonyították, hogy a nagy dózisban adagolt ß-karotin csökkentheti az E-vitamin koncentrációját a szövetekben (King et al., 1995). További baromfi-kísérletek rámutatnak a β-karotin és az α-tokoferol együttes hatására az oxidált zsírok etetésekor bekövetkezett negatív hatások kivédésére japánfürjben (Csuka et al, 2005), valamint az A-, E- és C-vitaminok pozitív hatására a csirkék vörösvérsejtjeit ért oxidációs károsodás

kivédésében (Aydemir et al., 2000). Ennek alapján az a következtetés vonható le, hogy az antioxidáns vegyületek egymáshoz viszonyított mennyisége és aránya a takarmányban megváltoztathatja az egyes antioxidánsok hatását a szervezetben.

Fürjekkel végzett kísérletünkben a különböző összetételű és dózisú antioxidáns kiegészítés a vérplazma esetében nem eredményezett szignifikáns mértékű változást sem az α-tokoferol-, sem a retinol-tartalomban, míg annak ß-karotin szintjét is csak az első csoportban alkalmazott nagydózisú antioxidáns keverék alkalmazása növelte jelentős mértékben. A vérplazma szelén-koncentrációjának ugyanakkor szignifikáns mértékű növekedését eredményezte valamennyi általunk alkalmazott szeléntartalmú takarmánykeverék, ami feltehetően a rendkívül nagy szeléntartalomnak volt az eredménye.

A tojássárgájának α-tokoferol, retinol, β-karotin vagy szelén koncentrációját legnagyobb mértékben akkor növelte a hozzáadott E-vitamint, β-karotint, illetve szelént tartalmazó kísérleti takarmánykeverék, ha abba nem került C-vitamin bekeverésre. Ezt számos korábbi vizsgálat során is tapasztalták (Surai, 2002a).

Az alkalmazott antioxidáns kiegészítők hatására a vasredukciós képességen alapuló FRAP módszerrel mért antioxidáns kapacitás szignifikáns növekedést mutatott azokban a fürjcsoportokban, amelyek takarmányába szelént kevertünk.

A vizsgálat eredményei alapján levonható az a következtetés, hogy az általunk alkalmazott antioxidáns hatású vegyületek eltérő mértékben növelik a vérplazma, illetve a tojássárgája antioxidáns kapacitását. Szignifikáns mértékben megnövelhetik a vérplazma antioxidáns koncentrációját és jelentős mennyiségben raktározódnak a tojássárgájában is. Az antioxidáns vegyületek raktározott mennyisége arányos a takarmány antioxidáns vegyület tartalmával, amely egybevág számos korábban végzett vizsgálat eredményeivel (Surai, 2002a).

4. 3. A 3. kísérlet eredményei

A madárembrió egy félig zárt rendszerben fejlődik, ahol az inkubáció alatt csak a víz és a gázok cserélődnek a környezettel (Sinkovitsné, 1968). A fő tápláló és biológiailag aktív anyagok (makro- és mikronutriensek, beleértve az antioxidáns komponenseket is) a tojás képződése során épülnek be és raktározódnak, így maternális eredetűek. Az embrionális fejlődés e raktározott anyagok mennyiségétől, minőségétől és metabolizmusától függ (Bárdos et al., 1999). Az embrió fejlődése alatt a készleteiből is szintetizál néhány szükséges anyagot az antioxidáns rendszer működéséhez; pl.: az aszkorbinsavat (Etches, 1996; Klasing, 1998). Az embrió antioxidáns védelme tehát a tojó takarmányának beltartalmától, illetve az állat anyagcseréjétől is függ (Leeson és Walsh, 2004; Whitehead és Portsmouth, 1989), valamint a takarmányok antioxidáns kiegészítésével fokozható (Lengyel et al., 2001).

A baromfifajok tojásának tokoferol-tartalmát összevetve a japánfürjtojás E-vitamin-tartalma igen jelentősnek ítélhető. Az átlagos tyúktojásénak 2,5-szeresét, a lúd, pulyka, kacsa tojásénak 6-7-szeresét tartalmazza (Ionov et al., 1994). Ugyanilyen jelenség tapasztalható az A-vitamin esetében is, mivel a tyúktojás szokásos retinoid-tartalmánál 4-5-ször több (3,7-5,5 µg/g) a fürjtojásokban mérhető koncentráció (Bárdos et al., 1996).

Kísérletünk során a termelt tojásokban megvizsgáltuk mind az adagolt (α-tokoferol, ß-karotin, Se), mind pedig a ß-karotinból metabolizálódó biológiailag aktív anyagok (retinoidok) koncentrációit. A kezelt állatoktól származó tojásokban a FRAP-értéket kivéve valamennyi vizsgált paraméter szignifikáns mértékben nagyobb lett a harmadik hét végére, mint a kontrollcsoportban (3.6. ábra, 3.12.–3.16. ábrák). Több

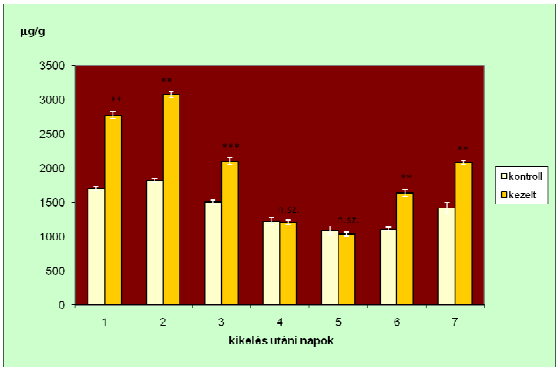
egybehangzó vizsgálat szerint a takarmányba adagolt és a tojásban raktározódó anyagok (vitaminok, zsírsavak, mikroelemek) esetében a feldúsuláshoz minimum egy hét, majd a megemelkedett érték szinten tartásához legalább két hét folyamatos etetés szükséges (Bárdos, 1989; Kiss et al., 2003). Ez a tendencia a tojómadarak vérében is nyomon követhető (3.7.–3.11. ábrák). A keltetés hatékonyságára jellemző értékeket a 3.4. táblázat tartalmazza. Mivel az erős pigmentációjú fürjtojásokban az embrió fejlődését lámpázással csak igen nehéz megállapítani, a többek (Biesalski et al., 1986; Czibulyás és Kovács, 1976) által javasolt 13-14. keltetési napon elvégzendő lámpázástól is eltekintettünk, mivel a 16. napra már várható a kelés. Ezért a kelési százalékból nem következtethetünk arra, hogy a kezeletlen kontrollállományban a 78%-os értékben milyen mértékű volt a terméketlen tojások száma. A felszáradást követően a köldöktájék állapota miatt csak egy csibe volt kelésgyengének minősíthető, a kezelt csoportban a kontrollok közül kettő sorolható ebbe a kategóriába. Összességében a keltetéskor felvett értékek szerint az antioxidánsokkal kiegészített takarmányt fogyasztó fürjek tojásai jobb eredménnyel keltethetők. Hasonló vizsgálatok alkalmával a tenyésztojás-termelés időszakában végzett emelt dózisú A-vitamin, vagy azzal egyenértékű ß-karotin-kiegészítés 86%-os, illetve 89%-os kelést eredményezett a kontrollok 80, illetve 82%-ához képest (Kerti és Bárdos, 1997). Az E-vitamin és a szelén kombinációjának a keltethetőségre gyakorolt javító hatását már tyúkokban bizonyították (Latshaw és Osman, 1974). Jelen eredményeink szerint a ß-karotin, α-tokoferol és Se együttes adagolással a kedvező hatás még növelhető volt. Az antioxidánsokat fogyasztó fürjek tojásaiból 15%-kal eredményesebb volt a keltetés. Ugyancsak kedvező eredmény az, ha a kelési súlyt sikerül növelni, és az élet első napjaiban ezt a súlyelőnyt tartani. A születési súly a felnevelés alapja. A kikelés utáni első négy napon volt különbség a két csoport átlagos testtömege között (3.5. ábra). A kezelt csoport már eleve nagyobb testtömeggel kelt ki a kontrollnál, és ezt a fölényt a 4. napig tudta megtartani.

A keltetésre gyűjtött tojások antioxidáns kapacitásának mértékét a Fe-III-vegyületet redukáló képességével jellemeztük. Az antioxidánsokkal történt kiegészítés hatására nem szignifikáns mértékben, de megemelkedett a tojások antioxidáns kapacitása (3.6.ábra).

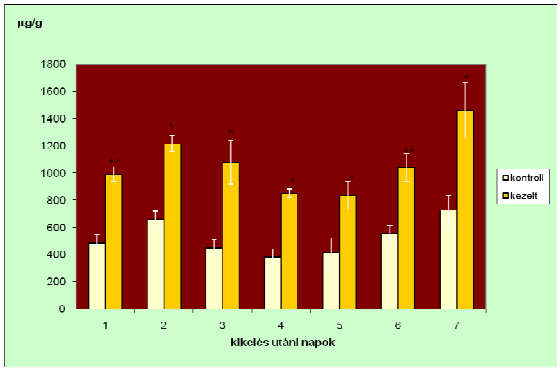
A tojómadarak antioxidáns anyagokkal történő kezelésének hatékonyságát nemcsak a keltetési mutatók, de a tojásaikból kikelő csibék májából kimutatható hatóanyagok készletezési mértéke jelzi. A 3.1. ábra a két csoportban a raktározott (retinil palmitát), a 3.2. ábra a mozgósított (retinol) A-vitamin forma, a 3.3. ábra az E-vitamin (α-tokoferol), a 3.4. ábra pedig ß-karotin-tartalmának a relatív változását szemlélteti a kikelés utáni első héten. Mind a négy paraméter esetében kiindulási értéknek (100%) a kontrollcsoport állatainak májából kikeléskor (1. nap) mérhető koncentrációkat tekintettük.

A szervezet antioxidáns kapacitását jelentő anyagok a fejlődő csirkeembrió szöveteiben is igen jelentős változásokat mutatnak (Gaál et al., 1995). Méréseink szerint a vizsgált zsíroldható vitaminok (retinoidok, ß-karotin,) koncentráció-változásai a kikelést követő első héten is igen jelentősek, és egymáshoz való viszonyuk alapján azonos tendenciát mutattak a napos csibékben. A tojómadarak takarmányának szelén, ß-karotin- és α-tokoferol-kiegészítése megemelte a tojásokban az illető anyagok tartalmát (3.12.–3.16. ábrák), ami azután a kikelt csibék májában is megmutatkozott (3.1.–3.4. ábrák). A kiegészítéstől függetlenül mind a ß-karotin és az abból metabolizálódó retinoidok, mind pedig az α-tokoferol is a 4−5. napra lecsökken a csibék májában (3.1.–3.4. ábrák). Ez a csökkenés a kiscsibék szervezetének hirtelen megnövekedő metabolikus igényével magyarázható. Az intenzív tollasodás kezdetekor a tolltüszőképződés és -fejlődés retinoid-, tokoferol- és Se-igénye jelentős (Supplee, 1966). A tollazat fejlődésében a

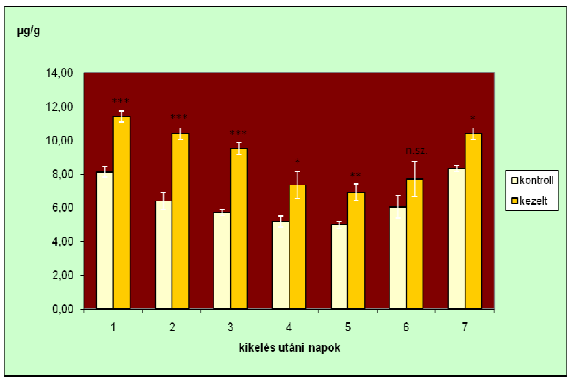
thyroid hormonok szerepe meghatározó. E hormonok produkciójában és metabolizmusában (Arthur, 1990), valamint a hormontranszportban (Leeson és Caston, 2003) a retinoid-kölcsönhatás miatt a megfelelő szelénellátottság nélkülözhetetlen. Az önálló táplálkozás megindulásával is fokozódik a tápcsatornában a nyálkahártya és mirigyhám felnőtt korra jellemző kialakulása és érése. Ez a hámszövet közismert retinoid-igénye mellett a membránstruktúrába történő α-tokoferol-beépüléssel is jár. A kelést követően a májból a periféria felé nagyon intenzív lipid transzport zajlik (Noble és Cocchi, 1990), amelynek hatására jelentősen csökken többek között a máj tokoferol-tartalma is, amely csak nagyon jelentős mennyiségű E-vitamin-kiegészítéssel kompenzálható (Mézes, 1987). A kelést követően jelentős oxidatív stresszel is számolhatunk (Leeson és Caston, 2003), és a szikanyagok fogyását követően azonnal meginduló táplálkozás is oxidatív terhelést jelenthet. Méréseink szerint ezek a folyamatok a májban raktározott α-tokoferol és ß-karotin fogyásával járnak, annak ellenére, hogy a szikben deponálódó zsíroldékony anyagok a kikelést követően előbb még jelentősen megemelik a máj *in ovo* kialakult készletét. Ez az emelkedés japánfürjben a 2−3. napon játszódik le. A jelenség érthető, hiszen ebben az igen gyors anyagcseréjű és életciklusú fajban a szikzacskó visszahúzódása nem tart olyan hosszú ideig, mint a tyúk-, illetve víziszárnyas-félékben (Kiss, 1981). Az 5−6. naptól viszont kimutathatóan megindul a tartalékok visszapótlása, ami fokozódó takarmány-, és abban az illető hatóanyagok felvételével jár. Az általunk vizsgált paraméterek koncentrációváltozása a májban tehát egy színuszoid görbével jellemezhető az első élethéten. Metabolizmusukra a belső (szikanyag transzport) és külső (takarmány) oldal tényezői egyaránt hatnak. Az input oldal növekedése, azaz a takarmány kiegészítése ezt a tendenciát, azaz a hullám frekvenciáját nem, az amplitúdóját viszont szignifikánsan megváltoztatta. A 3.1.–3.4., valamint a 3.6. ábrán az oszlopok feletti jelölés mutatja a kontroll és a kezelt csoport közötti statisztikailag kimutatható eltérés mértékét. Az alábbi jelölést alkalmaztuk: n.s. – nem szignifikáns (P>0,05); * P< 0,05; ** P< 0,01; *** P<0,001. A 3.7.–3.16. ábrákon a szignifikancia-jelölést az oszlopok alatti betűjelzések mutatják. Azonos betű előfordulása nem mutat szignifikáns különbséget.



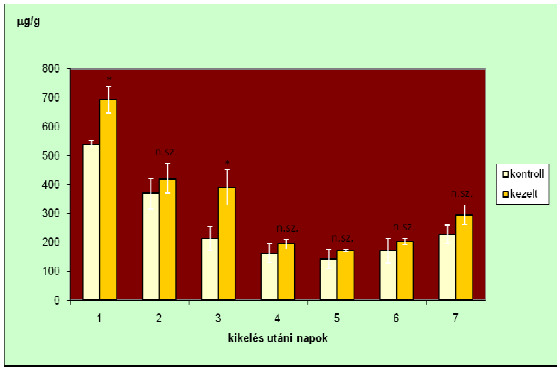
3. 1. ábra: A máj retinil palmität koncentrációja



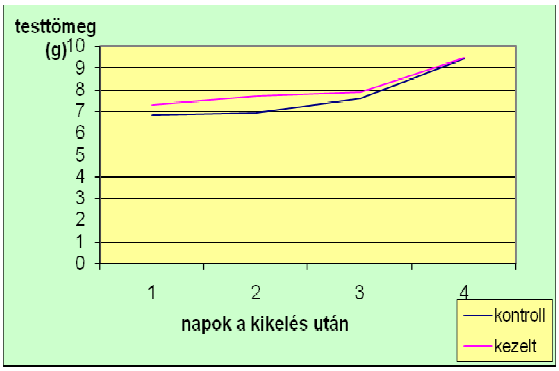
3. 2. ábra: A máj retinol-koncentrációja



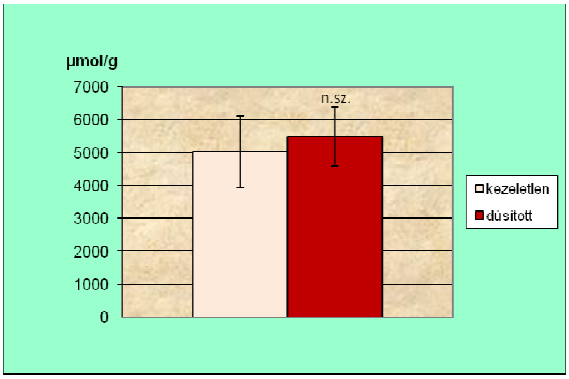
3. 3. ábra: A máj α-tokoferol- koncentrációja



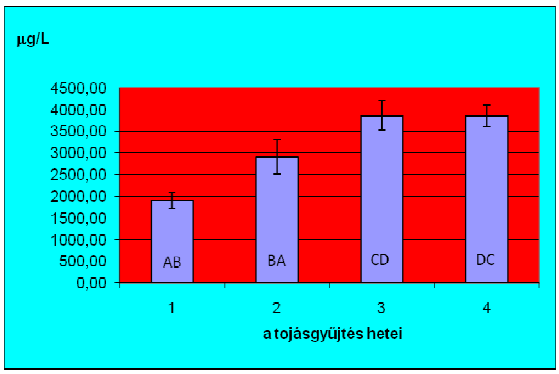
3. 4. ábra: A máj ß-karotin- koncentrációja



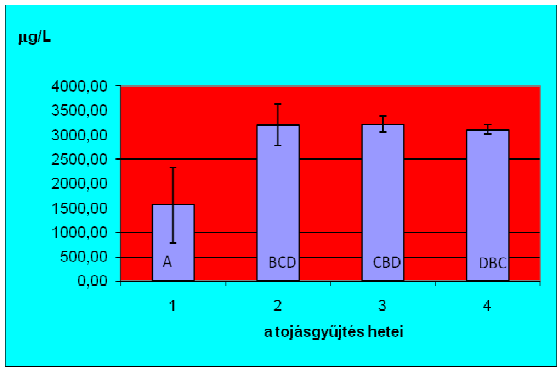
3. 5. ábra: A kikelt japánfürjek testtömeg-gyarapodása az első négy napon



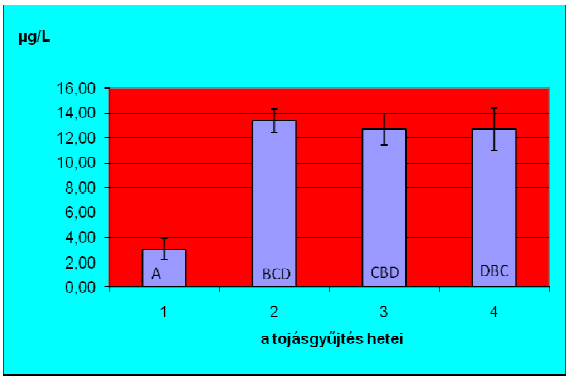
3. 6. ábra: A tojások antioxidáns kapacitását kifejező FRAP érték



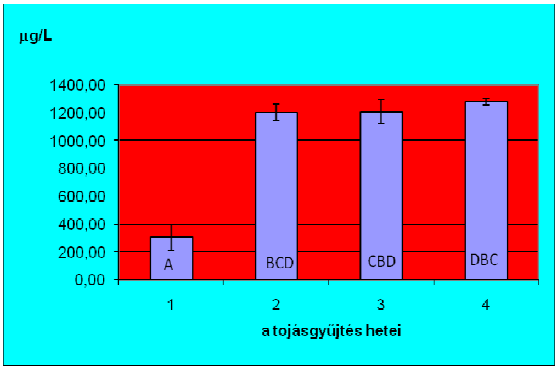
3.7. ábra: A vér retinil palmitát koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



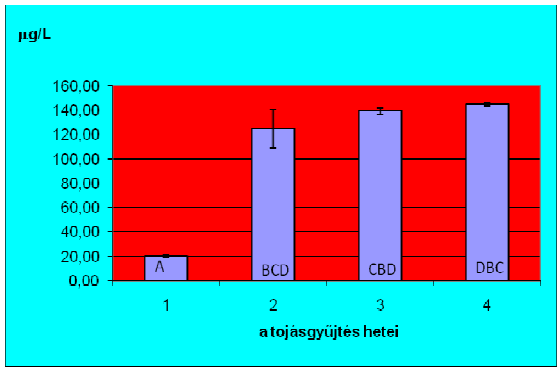
3.8. ábra: A vér retinol-koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



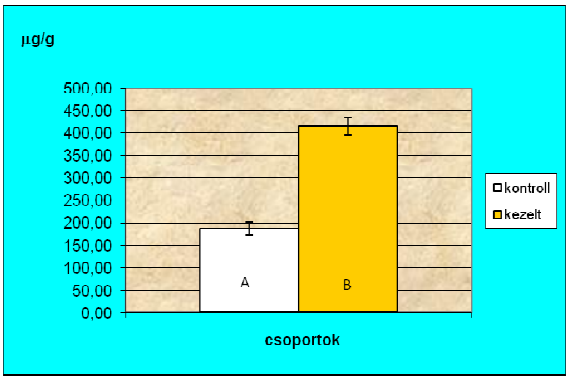
3.9. ábra: A vér α-tokoferol koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



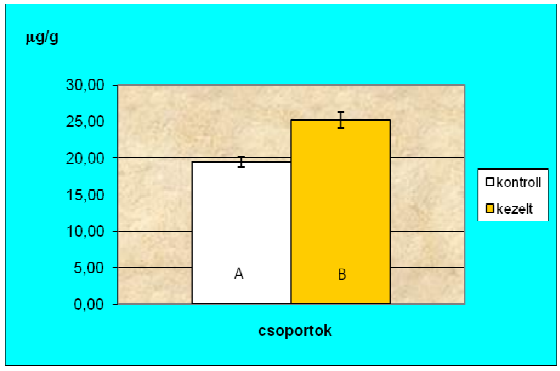
3.10. ábra: A vér ß-karotin koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



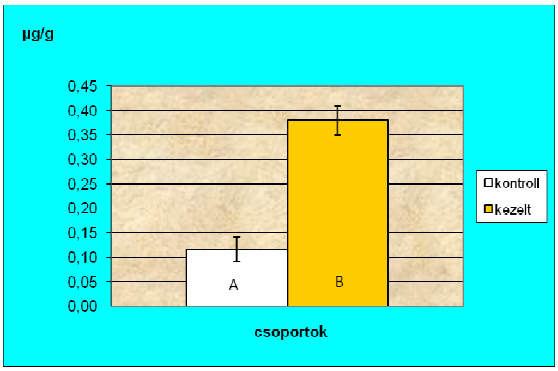
3.11. ábra: A vér szelén-koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



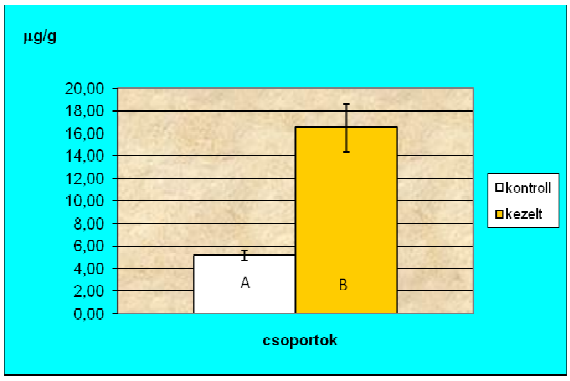
3.12. ábra: A keltetőbe berakott tojások retinil palmitát koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



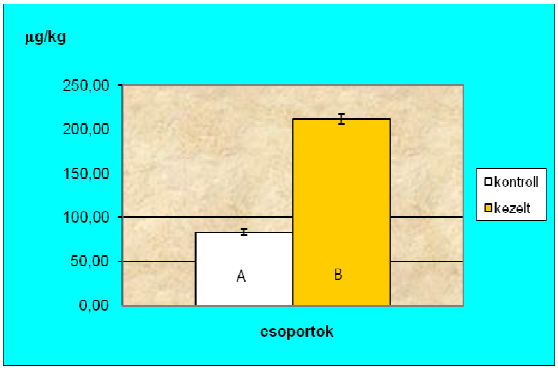
3.13. ábra: A keltetőbe berakott tojások retinol koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



3.14. ábra: A keltetőbe berakott tojások α-tokoferol koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



3.15. ábra: A keltetőbe berakott tojások ß-karotin koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően



3.16. ábra: A keltetőbe berakott tojások szelén-koncentrációja ß-karotin, α-tokoferol és szerves szelén kiegészítést követően

3. 2. táblázat

A két kísérleti csoport kikelésére vonatkozó adatok

		KONTROLL	KEZELT
KELTETŐBE BERAKOTT TOJÁSOK SZÁMA		100	100
KELTETŐBŐL KIVETT ÁLLATOK SZÁMA	1	47	48
	2	31	37
	3	0	7
ÖSSZES KIVETT ÁLLAT		78	92
MEGMARADT TOJÁSOK SZÁMA		22	8
KELÉSI %		78	92
KELÉSGYENGÉK SZÁMA		2	1

Következtetések

Eredményeink alapján elmondható, hogy a szülőpárok takarmányába kevert antioxidáns kiegészítés hatása megmutatkozott a kikelő utódokban. A kikelő állatok mája a kezelt csoportban nagyobb koncentrációban tartalmazta azokat a vegyületeket, amelyekkel a szülőállomány takarmányát kiegészítettük (3.1.–3.4. ábrák). A kezelt csoport tojásaiból több csibe kelt ki (3.2. táblázat). Az eredmények alapján levonható az a következtetés, hogy egy ilyen élénk anyagcseréjű állatnál, mint a japánfürj, a tenyészállatok esetében indokolt lehet az antioxidáns elemek együttes, és a szokásos takarmányösszetételnél nagyobb dózisú alkalmazása.

A tojás táplálóanyag-, vitamin- és ásványianyag-tartalma nagymértékben befolyásolható takarmányozással (Bárdos et al., 1989, 1996; Kerti és Bárdos, 1997; Leeson és Caston, 2003). Ilyen módon emelhetjük a vitaminok, mikroelemek mennyiségét a tojásban, amelyek természetes táplálék formájában hatékonyabbak, mint a szintetikus készítményékben (Lengyel et al., 2001).

A tojás – amellett, hogy magas vitamin-, mikroelemtartalma és összetétele miatt rendkívül értékes élelmiszer – az embrió fejlődésének, érésének is záloga. A szelén, az E-vitamin és a ß-karotin mennyisége a tojásban növelhető. Kísérletünkben igazoltuk, hogy a tojó fürjek takarmányába adagolt szelén, E-vitamin, illetve ß-karotin szignifikáns

mértékben növelte e vegyületek koncentrációját, mind a vérplazmában, mind a tojássárgájában. A kedvező hatás a tojások kelési eredményeiben is megmutatkozott.

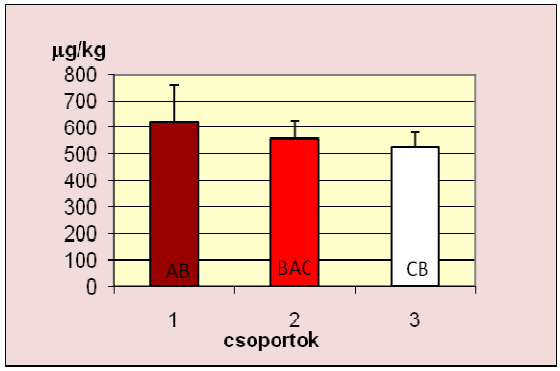
4. 4. A 4. kísérlet eredményei

A negyedik kísérlet eredményei arra mutatnak rá, hogy miként alakul az egerek májának és agyszövetének antioxidáns anyag tartalma, valamint antioxidáns kapacitása abban az esetben, ha az antioxidáns kiegészítést tojásba beépülve vagy szintetikus takarmányadalékként hozzáadva kapják az állatok. West és Castenmiller (1988) rámutatott, hogy a ß-karotin hasznosulásában jelentős szerepe van a biológiai mátrixnak. Az erre ható tényezőket SLAMENGHI betűszóval írták le ("SLAMENGHI": species of carotenoid; molecular linkage; amount of carotenoids consumed in a meal; matrix in which the carotenoid is incorporated; effectors of absorption and bioconversion; nutrient status of the host; genetic factors; host-related factors; and mathematical interactions). Kísérletünk rávilágít arra, hogy a munkánk során vizsgált antioxidáns anyagok hasznosulása is jelentősen függ a mártixhatástól.

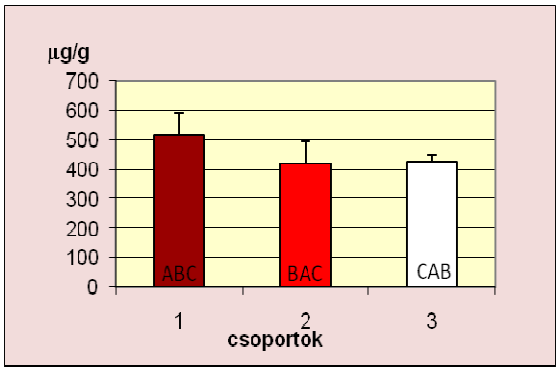
Az alábbi ábrákon az egércsoportok májából mért szelén (4.2. ábra), Retinil palmität (4.3. ábra), retinol (4.4. ábra) és α-tokoferol (4.5. ábra) értékeket, valamint az agyszövet retinol (4.6. ábra), α-tokoferol (4.7. ábra) és FPAP-értékeit (4.8. ábra) mutatjuk be. Mind a májban, mind az agyszövetben az antioxidáns vegyületek magasabb koncentrációját mértük a tojásba beépült antioxidáns anyagok fogyasztását követően.

Az ábrákon feltüntetett csoportok értelmezése:
1.: emelt antioxidáns tartalmú tojás sárgáját fogyasztó egerek csoportja;
2.: szintetikus kiegészítőkkel kiegészítve a kontroll tojás sárgáját fogyasztó egerek csoportja;
3.: kontroll tojás sárgáját fogyasztó egerek csoportja.

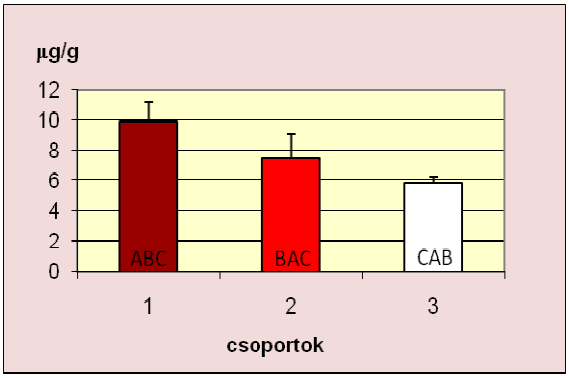
Az ábrákon a szignifikancia-jelölést az oszlopok alatti betűjelzések mutatják. Azonos betű előfordulása nem mutat szignifikáns különbséget.



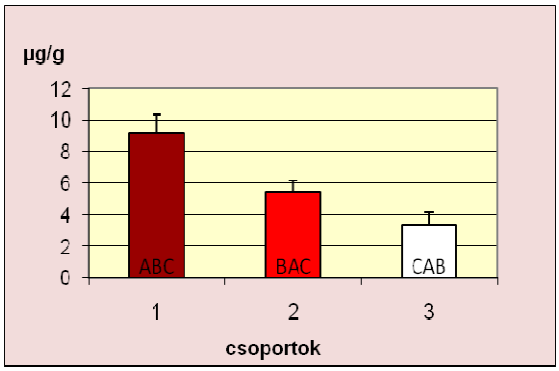
4. 2. ábra: A máj szelén-koncentrációja



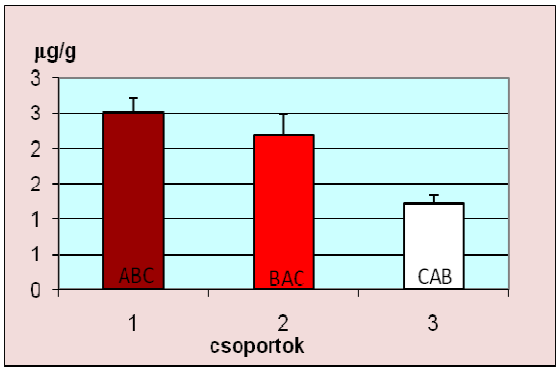
4. 3. ábra: A máj retinil palmität koncentrációja



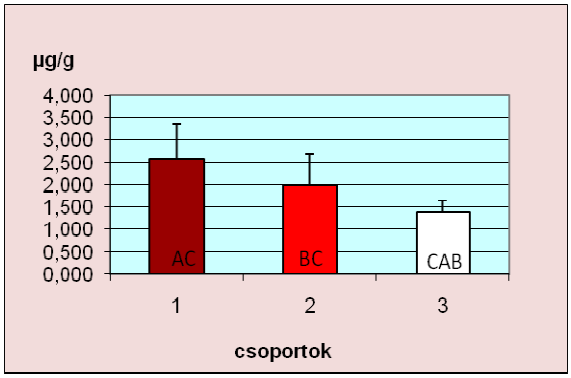
4. 4. ábra: A máj retinol-koncentrációja



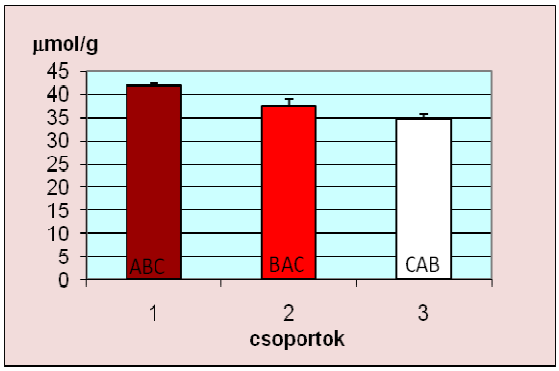
4. 5. ábra: A máj α-tokoferol koncentrációja



4. 6. ábra: Az agy retinol-koncentrációja



4. 7. ábra: Az agy α-tokoferol koncentrációja



4. 8. ábra: Az agy FRAP-értékei

Következtetések

A vizsgálatok eredményei alapján elmondható, hogy a kísérleti egerek májában magasabb volt a szelén-, α-tokoferol-, retinol-, retinil-palmitát-koncentráció abban az esetben, ha az egerek emelt antioxidáns tartalmú tojást kaptak takarmányként, mint amikor a szintetikus kiegészítőket adtuk hozzá a tojássárgájához (4.2.–4.5. ábrák).

Az egerek teljes agyának α-tokoferol-, és retinol-koncentrációja, valamint FRAP-értéke a természetes (tojásba beépült) antioxidáns-kiegészítés esetén volt a legmagasabb a

kontroll (kiegészítésben nem részesült) tojássárgáját fogyasztó csoporthoz viszonyítva (4.6.–4.8. ábrák).

Az eredmények alapján levonható az a következtetés, hogy az egerek jobban hasznosítják az antioxidáns anyagokat, ha azok természetes forrásból származnak, szerves kötésben vannak, vagyis a tojásba történt beépülés után kerülnek elfogyasztásra. Ezeket az eredményeket a humán élelmezésre vetítve megállapítható, hogy van mód arra, hogy szükség esetén szervezetünk antioxidáns státusát természetes anyagokkal, például ilyen hatású vegyületekkel dúsított tojás elfogyasztásával javíthassuk.

Az antioxidáns anyagoknak a bélcsatornából történő felszívódása eltérő lehet aszerint, hogy természetes táplálékban (tojás) vagy szintetikus formában jut a szervezetbe (West et al., 1998). A szelén beépülésével kapcsolatban megjegyzendő, hogy a tojás természetes szelén-tartalma, különösen a megnövelt szelén tartalmú tojás esetében feltehetően részben szeleno-metionin, részben pedig szeleno-cisztein formájában van jelen, míg a hozzáadott szelén kiegészítő (szelénnel dúsított élesztő) elsősorban szeleno-metionint tartalmaz (Połatajko et al., 2004). Ismert azonban az is, hogy az egyes szerves szelénvegyületek (szeleno-metionin, szeleno-cisztein, szeleno ciszteinil cisztein) eltérő mértékben szívódnak fel a bélcsatornából, illetve épülnek be a szelenoproteinekbe (Levander és Burk, 1996). Ez a jelenség is okozhat eltérést a tojásba beépült és a kémiai formulában adagolt szelén hasznosulása között.

A tojás víz-, szárazanyag-, fehérje- és zsírmennyisége, valamint az ezekkel összefüggő energiaszintje és makroelem-tartalma igen kis variabilitású (kvantitatív tényezők), de az ezeken belüli anyagok összetétele már kvalitatíve módosítható (Naber, 1979).

A tojás összes zsírtartalmán belül a lipid komponensek összetétele a madárfajok között jelentős eltéréseket mutat (Surai et al., 1999), de takarmányozással befolyásolható (Bárdos et al., 1993). A tojómadár lipidmechanizmusának és zsírban oldható vitamin-anyagcseréjének összefüggése lehetővé teszi a tojások ez utóbbi anyagokkal történő dúsítását is (Bárdos et al., 1996).

A széles körben elterjedt mikronutriens (vitamin és ásványi anyag) preparátumokkal szemben a tojásnak – saját teljes értékű tápanyag-komponensei mellett – elvitathatatlan előnye, hogy egy-egy faktor hasznosulását az *in ovo* környezet tényezői nagyban elősegítik (West et al., 1998).

Eredményeink azt mutatják, hogy az irodalmi forrásokhoz hasonlóan természetes mátrixban adagolt antioxidáns vegyületek (szelén, alfa-tokoferol, béta-karotin) hasznosulása jobbnak bizonyult, mint a kémiai formulában történő kiegészítés esetén. Hasonló eredményre jutottak Ben-Amotz és mtsai 1989-ben, amikor kísérletükben csirkéket természetes algából kivont karotinoidokkal és azok izomerjeivel etettek. A természetes eredetű karotinoidok hasznosulása jobbnak bizonyult a szintetikus béta-karotinénál.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- Az eredetileg vérplazma vasredukciós képességének kimutatására kifejlesztett FRAP-módszer adaptálható és alkalmazható tojás-, máj- és agyszövet antioxidáns kapacitásának mérésére is.
- Szerves kötésben lévő antioxidáns anyagok adagolásával a tojás beltartalma a takarmányba kevert mennyiséggel arányosan változtatható. A takarmány antioxidáns vegyületekkel történő kiegészítése után a tojásban nagy mennyiségű szerves kötésben lévő antioxidáns halmozódik fel, amely funkcionális élelmiszerként fogyasztható.
- A megnövelt antioxidáns-tartalmú és -kapacitású tojások keltethetősége és a kikelt csibék vitalitása szignifikáns mértékben javul.
- A nagy adagban (0,8 mg/ tak. kg.) etetett szerves kötésű szelén nem okoz toxikus tüneteket a japán fürj szervezetében.
- A szelén és az α-tokoferol kisebb (Se: 0,8 mg/tak. kg, α-tokoferol: 100 mg/tak. kg) és nagyobb (Se: 0,8 mg/tak. kg, α-tokoferol: 500 mg/tak. kg) koncentrációban is szinergista hatást gyakorol egymásra.
- A tojásba épült természetes mátrixban lévő antioxidáns vegyületek jobban hasznosulnak az egerekben, mint a vegyi formában adagolt antioxidánsok.
- A zsírban oldódó antioxidánsok (α-tokoferol, béta-karotin, szelén) növelik az agyszövet antioxidáns kapacitását egerekben.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A TOJÁS ANTIOXIDÁNS KAPACITÁSÁNAK MÉRÉSE JAPÁNFÜRJBEN

Kísérleti munkánk során a japánfürjek takarmányát antioxidáns tulajdonságú vegyületekkel egészítettük ki, majd tojás- és vérmintákat gyűjtöttünk a kísérleti állatokból. Szerves kötésben lévő szelénnel, α-tokoferollal, ß-karotinnal, valamint aszkorbinsavval egészítettük ki a kísérleti japán fürjek takarmányát. Mértük a tojások és a vérminták vasredukciós képességét, amely adatokat szolgáltat az antioxidáns kapacitás értékéhez, valamint megmértük a vizsgált anyagok raktározott koncentrációját a tojásban és a vérben. A kutatómunkát négy kísérlet alkotja, melyek során bebizonyosodott az emelt antioxidáns tartalmú tojás előállíthatósága a vizsgált antioxidáns anyagok tekintetében, az alkalmazott kiegészítők kölcsönhatásainak és dózisainak hatása a tojás antioxidáns kapacitására, valamint az alkalmazott mérési módszerek alkalmassága a kísérleti minták vizsgálatára. A tojás antioxidáns kapacitásának megnövekedése mellett megállapítható volt az emelt antioxidáns tartalmú tojás keltethetőségének javulása is. A záró kísérlet pedig azt igazolja, hogy a természetes mátrixba beépült antioxidáns anyagokat jobban hasznosítja az emlősök (egerek) szervezete, mintha kémiai formulában adagoljuk azokat.

7. SUMMARY

EVALUATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY IN JAPANESE QUAIL EGG YOLK

In the course of our experiment, compounds having antioxidant feature were added into the feed of Japanese quails; later egg samples and blood samples were collected from the experimental animals. The feed of the experimental Japanese quails was enriched by Selenium, α-tocopherol, ß-carotene and Ascorbic Acid, all in organic binding. Ferric-reducing ability of eggs and blood samples were evaluated, in order to provide us data on antioxidant capacity values; the stored quantity of examined materials were also measured in egg and blood. The research work consists of four experiments. During these experiments egg's capability for enrichment with the examined antioxidant compounds; the influence of both, interaction and applied doses of used supplements on the egg's antioxidant capacity; as well as the adequacy of applied measuring methods for the experimental samples have been verified. Besides the increase of egg's antioxidant capacity, it was to determine higher level of hatchability. The final experiment verifies that the antioxidant compounds were better utilized by the organism of mammals (mice) in case of incorporation into natural matrix than in case when they have been dosed in chemical form.

I. melléklet

IRODALOMJEGYZÉK

ACKER H. (1994): Mechanisms and meaning of cellular oxygen sensing in the organism. *Respir. Ph.*, 95; 1−10. pp.

ÁDÁM V. (2001): Orvosi biokémia. Budapest: Medicina Könyvkiadó Rt., 310. p.

AGARWAL S., RAO A.U. (1998): Tomato lycopene and low-density lipoprotein oxidation. *A human dietary intervention study. Lipids.* 33; 981−984. pp.

AJUYAH A.O., HARDIN R.T., SIM J.S. (1993): Effect of dietary fullfat flax seed with and without antioxidant on the fatty acid composition of major lipid classes of chicken meats. *Poult. Sci.*, 71; 125−136. pp.

ALBINA J.E., REICHNER J.S. (1998): Role of nitrits oxide in mediation of macrophage citotoxicity and apoptosis. *Cancer Metasis Rev.*, 17; 39−53. pp.

AL-HASANI S. M., PARRISH D. B. (1968): Vitamin A activity of ß-apo-carotenals in Coturnix coturnix japonica. *J. of Nutrition*, 94; 402−406. pp.

AL-HASANI S. M., PARRISH D. B. (1972): Forms of vitamin A and of Carotenoids in tissues, blood serum and yolk of eggs from Coturnix coturnix japonica fed ß-apo-carotenals. *J. of Nutrition*, 102; 1437−1440. pp.

AMES B.N., SHIGENAGA M.K., HAGEN T.M. (1993): Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 90; 7915−7922. pp.

ARTHUR J. R. (1990): Hepatic iodothyronine deiodinase: the role of selenium. *Biochem. J.*, 272; 537−540. pp.

ARUOMA O.I., KAUR H., HALLIWELL B. (1991): Oxygen free radicals and human diseases. *Am. J. R. Soc. Hlth.* 111; 172−177. pp.

ASADA K. (1999): The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*., 50; 601−639. pp.

ASMUS K. D., BONIFACIC M. (2000): Free radical chemistry. In: Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise. Sen C.K., Packer L., Hänninen O.P.(eds.), *Elsevier, Chapter* 1; 3–56. pp.

AYDEMIR T., ÖZTÜRK R., BOZKAYA L. A., TARHAN L. (2000): Effects of antioxidant vitamins A, C, E and trace elements Cu, Se on CuZn SOD, GSH-Px, CAT and LPO levels in chicken erythrocytes *Cell Biochemistry and Function* Volume 18 Issue 2; 109–115. pp.

BALOGH N., GAÁL T., RIBICZEYNÉ P. SZ., PETRI Á. (2001): Biochemical and antioxidant changes in plasma and erythrocytes of pentathlon horses before and after exercise. *Vet Clin Path*; 30 (4); 214–218. pp.

BARCLAY L.R. (1988): The cooperative antioxidant role of glutathione with a lipid-soluble and water-soluble antioxidant during peroxidation of liposomes initiated in the aqueous phase and in the lipid phase. *J. Biol Chem*., 263 (31); 16138−16142. pp.

BÁRDOS L., BUCHHOLCZ E. (1986): Examination of Multiple-form Enzymes in the Bovine Sera. *Bull.of the Univ.of Agric.Sci.*, Gödöllő; 85−90. pp.

BÁRDOS L., KISS ZS., SZABÓ CS., LOSONCZY S., CSUKA GY. (1999): Tojás, ami más: funkcionális élelmiszer, diagnosztikum és terapeutikum-forrás. *Állatteny Tak.* 48 (6); 793−795. pp.

BÁRDOS L., OPPEL K., PUSZTAI A. (1989): A vérplazma összfehérje, albumin IgG tartalmának mennyiségi vizsgálata házinyulak egyes életszakaszaiban. *Állatorvosi Közlemények - Phylaxia* Budapest, 25; 186−189. pp.

BÁRDOS L., PUSZTAI A., SZABÓ CS., KERTI A., KARCHESZ K. (1993): Retinoid és ß-karotin tüszőbeépülésének vizsgálata japánfürjben. *MTA-Áo. Tud. Szakbiz. Akad. Besz.*, 20.(5); 12. p.
BÁRDOS L., SÓTÉR GY., KARCHESZ K. (1996): Effect of retinyl acetate, ascorbic acid and tocopherol supplementation of the feed on egg vitamin A content in japanese quail. *Acta Vet. Hung.*, 44; 213−218. pp.
BÁRDOS L. (1989): Plasma vitamin A composition and retinol-binding protein concentration during egg formation in laying hen. *International J. for Vitamin and Nutrition Research*, 59; 251−254. pp.
BÁRDOS L. (1994): A vitaminok anyagcseréje. 467−491. pp. In: HUSVÉTH F. (Szerk.): *A háziállatok élettana és anatómiája*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 653. p.
BAUM M. K. (1997): High risk of HIV-related mortality is associated with selenium deficiency. *Journal of Acquired Immune deficiency syndromes and Human Retrovirology*, 15(5); 370−374. pp.
BECK M. A. (1998): Dietary oxidative stress and the potential of viral infection. *Annual Review of Nutrition*, 18; 93−116. pp.
BELITZ H.D., GROSCH W., SCHIEBERLE R. (2007): Lehrbuch der lebensmittelchemie. *Springer* – Berlin, 161−251. pp.
BELYAVIN C.G., MARANGOS A.G. (1989): Natural products for egg yolk pigmentation. In: COLE D. J. A., HARESIGN W. (Szerk.): *Recent Developments in Poultry Nutrition*, Butterworths, 239−260. pp.
BEN-AMOTZ A. (1989): Bioavailability of a natural isomer mixture as compared with synthetic all-trans-beta-carotene in rats and chicks. *J. Nutr*., 119; 1013−1019. pp.
BENDICH A. (1992): The role of carotenoids in immune response. *Stichting Voeding Ned*., 53; 191−195. pp.
BENZIE I.F.F., STRAIN J.J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of „antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem*., 239; 70−76. pp.
BENZIE I.F.F., STRAIN J.J. (1999): Ferric Reducing/ Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration. *Methods in enzymology*. 299; 15–23. pp.
BERTÓK L., CHOW D. (2005): Natural immunity. *Elsevier Press*, London II. 132−138. pp.
BERZELIUS J. (1818): Selenium ein neuer metallartiger Körper, Lithon ein neues Alkali, Thorina eine neue Erde. *Annalen der physik N.F*. 29; 229−254. pp.
BESENFELDER U., SOLTI L., SEREGI J., MULLER M., BREM G. (1996): Different Roles for ß-Carotene and Vitamin-A in the Reproduction on Rabbits. *Theriogenology*, 45; 1583−1591. pp.
BIESALSKI H., GREIFF H., BRODDA K., HAFNER G., BASSLER K.H. (1986): Vitamin A determination in serum. *Ins. I. Vit. Nutr.Res.*, 56; 319−327. pp.
BJELAKOVIC G., NIKOLOVA D., GLUUD L.L., SIMONETTI R.G., GLUUD C.(2007): Mortality in Randomized Trials of Antioxidant Supplements for Primary and Secondary Prevention. *The Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 297; 842−857. pp.
BLOMHOFF R.(1994): Transport and metabolism of vitamin A. *Nutrition Reviews*, 52; 13−23. pp.
BOHM F., EDGE R., LAND E.J., MCGARVEY D.J., TRUSCOTT T.G. (1997): Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency. *J. Am. Chem. Soc*., 119; 621−622. pp.

BORGMAN R.F. (1964): Fatty Acid Composition as Influenced by Dietary Fatty Acids and Vitamin E Status in the Rabbit. *Journal of Food Science*, 29 (1); 20–24. pp.
BOROSS L., SAJGÓ M. (1993). A biokémia alapjai. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 590 p.
BRITTON G., LIAAEN-JENSEN S., PFANDER H. (szerk.)(1995): Carotenoids: Isolation and analysis. Volume 1A. *Birkhäuser Verlag*, Basel/Switzerland
BRITTON G. (1995a): Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J*., 9; 1551−1558. pp.
BRITTON G. (1995b): UV/Visible spectroscopy. In: *Carotenoids.* Volume 1B, 13−62. pp.
BRUBACHER G. B., WEISER H. (1985): The vitamin A activity of ß-carotene. *International J. for Vitamin and Nutrition Research*, 55; 5−15. pp.
BRÜGGEMANN J., TIEWS J. (1964): Über den Einfluß von NO2-Ionen und unteschiedlichen Umwelttemperaturen auf die Karotinumwandlung beim Küken. *Internationale Zeitschrift für Vitaminforschung*, 34; 233−240. pp.
BUETTNER G.R., JURKIEWICZ B.A. (1996): Chemistry and biochemistry of ascorbic acid. In: CADENAS E., PACKER L. (Szerk.): *Handbook of Antioxidants* (Vol 3), *Marcel Dekker*, New York, 91−116. pp.
BURCHAM P.C. (1998): Genotoxic lipid peroxidation products: their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts. *Mutagenesis*, 13; 287−305. pp.
BURTON G.W., INGOLD K.U. (1984): ß-Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science*, 224; 569−573. pp.
BURTON G.W. (1989): Antioxidant action of carotenoids. *J. Nutr*., (119); 109−111. pp.
BYERS T., PERRY G. (1992): Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Annu Rev Nutr*., 12; 139−159. pp.
CARR A.C., FREI B. (1999): Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J*., 13; 1007−1024. pp.
CASTRO L., FREEMAN B.A. (2001): Reactive oxygen species in human health and disease. *Nutrition*, 17; 161−165. pp.
CEDERBAUM A.I. (1989): Metals and oxygen free radical toxicity. *Free Rad. Biol. Med*., 7; 559−566. pp.
CHAMBERS I., HARRISON P. (1988): Oxy-Radicals in Molecular Biology and Pathology. *Alan R. Liss Inc.*, New York, 289−300. pp.
CHAN A.C. (1993): Partners in defence, vitamin E and vitamin C. *Can. J. Physiol. Pharmacol*., 71; 725−731. pp.
CHAN K.M., DECKER E.A. (1994): Endogenous skeletal muscle antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*., 34; 403−426. pp.
CHAN P.C., PELLER D.G., KESNER L. (1982): Copper (II)-catalysed lipid peroxidation in liposomes and erythrocyte membrane. *Lipids*, 17; 331−337. pp.
CHAN W.K. M., HAKKARAINEN K., FAUSTMAN C., SCHAEFER D.M., SCHELLER K.K., LIU Q. (1996). Dietary vitamin E effect on color stability and sensory assessment of spoilage in three beef muscles. *Meat Sci*., 42; 387−399. pp.
CHANCE B., SIES H., BOVERIS A. (1979): Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev*., 59; 527−605. pp.
CHATTERJEE P., BAGRI M. (1999): Effect of vitamin E supplementation on endurance exercise induced oxidative damage in sedentary females. *Indian Journal of Physiology and Allied Sciences*, 53 (3); 141−146. pp.
CHAVEZ E.R. (1989): Selenium nutrition of pigs. *Pig news and information*, 10; 167−171. pp.

CHEESEMAN K. H., (1993): Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol. Asp. Med.* 14; 191–197. pp.
CHEESEMAN K.H., COLLINS M., PROUDFOOT K., SLATER T.F., BURTON G.W., WEBBS A.C., INGOLD K.U. (1986): Lipid peroxidation in regenerating rat liver. *FEBS Lett.* 209; 191–196. pp.
CHERIAN G., SIM J.S. (1997): Egg yolk polyunsaturated fatty acids and vitamin E content alters the tocopherol status of hatched chicks. *Poult. Sci*., 76; 1753−1759. p.
CHERIAN G., SIM J.S. (2003): Maternal and posthatch dietary polyunsaturated fatty acids alter tissue tocopherol status of chicks. *Poult. Sci*., 82; 681−686. pp.
CHERIAN G., WOLFE F.W., SIM J.S. (1996): Dietary oils with added tocopherols: Effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. *Poult. Sci*., 75; 423−431. pp.
CHEW B.P. (1996): Importance of Antioxidant Vitamins in Immunity and Health in Animals. *Animal Feed Science and Technology*, 59; 103−114. pp.
CIACCIO M., VALENZA M., TESORIERE L., BONGIORNO A., ALBIERO L., LIVREA M.A. (1993): Vitamin A inhibits doxorubicin-induced membrane lipid peroxidation in rat tissues *in vivo*. *Arch. Biochem. Biophys*., 302; 103−108. pp.
CZIBULYÁS J., KOVÁCS J. (1976): A japánfürj tenyésztése és hasznosítása. Budapest: Mezőgazdasági Kiadó, 102. p.
CSUKA GY., BÁRDOS L., ÁGOTA G. (2005): Természetes antioxidáns anyagok (ß-karotin, E-vitamin és rozmaringőrlemény) adagolása az oxidált zsírok káros hatásainak kivédésére. Japán fürjekkel végzett modellkísérlet. *M. Á. L.*, 127; 413−421. pp.
DAM H., KOFOED N.G., PRANGE I., SØNDERGAARD E. (2005): Exudative diathesis produced by vitamin e-deficient diets without polyenoic fatty acids. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 14/8; 291−292. pp.
DAVIES K.K.A. (2001): The Spectrum of Responses of Oxidants in Proliferating Cells: Concentration, Concentration, Concentration. *Oxygen Society Annual Meeting, RTP, NC Nov*., 16−19. pp.
DAVIES M.B., AUSTIN J., PARTRIDGE D.A. (1991): Vitamin C: Its Chemistry and Biochemistry. *Royal Society of Chemistry*, Cambridge, UK, 155 p.
DAVIS C. D. (2007): Nutritional Interactions: Credentialing of Molecular Targets for Cancer Prevention. *Experimental Biology and Medicine*, 232(2); 176−183. pp.
DAVIS R.H., FEAR J. (1996): Incorporation of selenium into egg pro-. teins from dietary selenite. *British Poultry*, 37; 197−211. pp.
DEKKERS J.C., VAN DOORNEN L.J., KEMPER H.C. (1996): The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise induced muscle damage. *Sports Med*. 21; 213−238. pp.
DENBOW E. (2000): Gastrointestinal anatomy and physiology. In: WHITTOW G.C. (Szerk.): *Stukie's avian Physiology*. Academic press, New York, 299−326. pp.
DEUCHER G.P. (1992): Antioxidant therapy in the aging process. *Birkhauser verlag*, 62; 428−437. pp.
DI MASCIO P., KAISER S. et al. (1989): Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch. Biochem. Biophys*., 274; 532−538. pp.
DIEFENBACHER H. (1981): A béta-karotin takarmányozási szerepe és felhasználása. *Állategészségügyi és Takarmányozási Közlemények*, 39−42. pp.
DOBA T., BURTON G. W. (1985): Antioxidant and co-antioxidant activity of vitamin C. The effect of vitamin C either alone or in the presence of vitamin E or a water soluble vitamin E analogue, upon the peroxidation of aqueous multilamellar phospholipid liposomes. *Biochem. Biphys. Acta*, (835); 298−302. pp.

DORMAN H.J.D., DEANS S.G., NOBLE R.C. AND SURAI P. (1995): Evaluation in vitro of plant essential oils as natural antioxidants. *J. Esssent. Oil Res.*, 7; 645−651. pp.
DORMANDY T.L. (1978): Free radical oxidation and antioxidants. *Lancet*., 25; 647−650. pp.
DRUMMOND J.C. (1939): Antioxidant effect of tocopherols. In: HEFFER W. (Szerk.): *Symposium on vitamin E food groups*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 27−29. pp.
DUKE G.E. (1984): Avian digestion. In: SWENSON M.J. (Szerk.): *Duke's Phisiology of domestic animals*. Comstock Publ. Ass., 312−321. pp.
DUTHIE D. (1996): Vitamin E (Tocopherols). In: GARROW J.S., JAMES W.P.T., (Szerk.): *Human Nutrition and Dietics. Fat soluble vitamins*, 9th ed., Churchill Livingstone, Longman Group, New York, 224−231. pp.
EGGERT R.O., PATTERSON E., AKERS W.J., STOKSTAD K.L.R. (1957): The role of vitamin E and selenium in the nutrition of the pig. *J. Anim. Sci*., 16; 1037. p.
EL-GORAB M., UNDERWOOD B.A. (1973): Solubilization of ß-carotene and retinol into aqueous solutions of mixed micelles. *Biochim. Biophys. Acta*., 306; 58−66. pp.
ELING T.E., THOMPSON D.C., FOUREMAN G.L., CURTIS J.F., HUGHES M.F. (1990): Prostaglanin H synthase and xenobiotic oxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 30; 1−45. pp.
ELMARIMI A. A., VÉN E., BÁRDOS L. (1989): Preliminary study on the effects of vitamin A and beta-carotene on growth and reproduction of female rabbits. *J. of Applied Rabbit Research*, 12; 163−166. pp.
ELSTNER E.F. (1987): Metabolism of activated oxygen species. In: DAVIES D.D. (Szerk.) *Biochemistry of Plants*. 11. Academic Press, London, 253−315. pp.
EPP O., LANDENSTEIN R., WENDEL A. (1983): The refined structure of the selenoenzyme glutathione peroxidase at 0,2 nm resolution. *Eur. J. Biochem*., 133; 51−69. pp.
ERCAL N., GURER-ORHAN H., AYKIN-BURNS N. (2001): Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Curr. Top. Med. Chem*., 1; 529−539. pp.
ERDÉLYI M., MÉZES M., VIRÁG GY. (1999): A szeléndependens glutationperoxidáz enzimek az állati szervezetben − I. Szerkezet, funkció és szabályozás. *Biokémia.* 23; 82−88. pp.
ETCHES R.J. (1996): Reproduction in poultry. *CAB International*, 318. p.
EVANS H.M., BISHOP L.S. (1922): Discovery of Vitamin-E. *J. Am. Med. Assoc*., 81; 889−892. pp.
EVANS H.M., EMERSON O.M., EMERSON G.A. (1936): The isolation from wheat germ oil of an alcohol, α-tocopherol, having the properties of vitamin E. *J. Biol. Chem.*, 113; 319−332. pp.
FALLON S., ENIG M.G. (1999): Tripping Lightly Down the Prostaglandin Pathways. *Price-Pottenger Nutrition Foundation Health Journal*, 20 3 (619); 574−763. pp.
FALUS A. (1998): Az immunológia élettani és molekuláris alapjai. Budapest: Semmelweis Kiadó, 166−171. pp.
FEHÉR J., VERECKEI A. (1985): Szabadgyök reakciók jelentősége az orvostudományban., Budapest: Medicina Könyvkiadó
FENTON H.J.H. (1894): Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *J. Chem. Soc. (Lond.)*, 65; 899−903. pp.
FERNANDES G. (1997): Beta-carotene supplementation: friend or foe? [editorial; comment]. *J. Lab. Clin. Med*., 129; 285−287. pp.
FERNHOLZ D. (1938): Vitamin E. *J. Am. Chem. Soc*., 60; 700. p.

FLOHÉ L., GÜNZLER W.A., SCHOCK H.H. (1973): Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett*., 32; 132–134. pp.
FODOR J. (1998): Az oxigén szabadgyökök, illetve antioxidánsok szerepe a szisztematikus növényi betegség rezisztenciában. *Doktori (PhD) értekezés.* GATE, Gödöllő, 120 p.
FODOR J., HIDEG E., KECSKES A., KIRALY Z. (2001): In vivo detection of tobacco mosaic virus-induced local and systemic oxidative burst by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Plant Cell Physiol*., 42; 247−251. pp.
FORCEVILLE X. (1998): Selenium, systemic immune response syndrome, sepsis, and outcome in critically ill patients. *Critical Care Medicine*, 26(9); 1536−1544. pp.
FOYER C.H., HALLIWELL B. (1976): Presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: proposed a role in ascorbic acid metabolism. *Plants* 133; 21–25. pp.
FRANKEL E. N. (1998): Lipid oxidation. *The Oily Press* 187−225. pp.
FRANKEL E.N. (1993): Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet*, (341); 454−457. pp.
FREEMAN B. (1994): Free radical chemistry of nitric oxide. *Chest*., 105; 79−84. pp.
FREI B., TRABER M. (2001): The new US dietary reference for vitamins C and E. *Redox Rep*., 6; 5−9. pp.
GAÁL T., BALOGH N., RIBICZEY SZ. P. (2000): Effect of heat-stress on some antioxidant parameters in developing chick embryo. *Klin. Kísérl. Lab. Med.* 27; 98. p.
GAÁL T., MÉZES M., NOBLE R.C., DIXON J., SPEAKE B.K. (1995): Development of antioxidant capacity in tissues of the embryo. *Comp. Biochem. Physiol*., 112; 711−716. pp.
GAÁL T., RIBICZEYNÉ-SZABÓ P., STADLER K., JAKUS J., REICZIGEL J., KÖVÉR P., MÉZES M., SÜMEGHY L. (2006): Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. *Comp. Biochem. Physiol.* 143B; 391−396. pp.
GAÁL T., VAJDOVICH P., SPEAKE B.K., NOBLE R.C., SURAI P.F., MÉZES M. (1996): Lipidperoxidáció az életkor függvényében. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 51; 165−169. pp.
GAMBLE S.C., WISEMAN A., GOLDFARB P.S. (1997): Seleniumdependentglutathione peroxidase and other selenoproteins: their synthesis and biochemical roles. *J. Chem. Technol. Biotechnol*., 68; 123−134. pp.
GERGELY J., ERDEI A. (2000): Immunbiológia. Budapest: Medicina Könyvkiadó Rt., 29−33. pp.
GINTER E., BOBEK P., JURCOVICOVA M. (1982): Role of ascorbic acid in lipid metabolism. In: SEITH P.A., TOBLERT B.M. (Szerk.): *Ascorbic acid, chemistry, metabolism and uses*. American Chemical Society, Washington, DC, 381−393. pp.
GLADYSHEV V.N., KRYUKOV G.V. (2001): Evolution of selenocysteine-containing proteins: significanceof identification and functional characteritation of selenoproteins. *Biofactors* 14; 87−92. pp.
GLASS C. K., WITZTUM J. L., (2001): Atherosclerosis: the road ahead. *Cell* 104; 503−516. pp.
GOLUMBIC C., MATTILL H.A. (1941): Antioxidants and the autooxidation of fats. The antioxigenic action of ascorbic acid in association with tocopherols, hydroquinones and related compounds. *J. Am. Chem. Soc*., (63); 1279−1280. pp.
GOUAZÉ V., MIRAULT M.E., CARPENTIER S., SALVAYRE R., LEVADE T., ANDRIEU-ABADIE N. (2001): Glutathione peroxidase-1 over-expression prevents

ceramide production and partially inhibits apoptosis in doxorubicin-treated human breast carcinoma cells. *Mol Pharmacol.* 60; 488−496. pp.
GRIFFITHS H.R. (2000): Antioxidants and protein oxidation. *Free Rad. Res*., 33; 47−58.pp.
GUIDERA J., KERRY J.P., BUCKLEY D.J., LYNCH P.B., MORRISSEY P.A. (1997): The effect on dietary vitamin E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat. *Meat Sci*., 45; 33−43. pp.
GURR M.I. (1999a): Nutritional Significance of Lipid Peroxidation. In: GURR M. I.: *Lipids in Nutrition and Health*. The Oily Press, Bridgwater, 97−118. pp.
GURR M.I. (1999b): The Nutritional and Biological Properties of the Polyunsaturated Fatty Acids. In: GURR M.I.: *Lipids in Nutrition and Health*. The Oily Press, Bridgwater, 119−151. pp.
GUYTON K. Z., KENSLER T. W. (1993): Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *British Medical Bulletin*, 49; 523−544. pp.
ĐORĐEVIĆ V., PAVLOVIĆ D., KOCIĆ G. (2000): Biohemija slobodnih radikala. *Sirius-print, Niš*, 308; 88−112. pp.
HABER F., WEISS J. (1934): The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proc. Roy. Soc. Lond. A*., 147; 132−151. pp.
HALLBERG L. (1981): Bioavailability of dietary iron in man. *Annu. Rev. Nutr.*, 1; 123−127. pp.
HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C. (1986): Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problem and concepts. *Arch. Biochem Biophys*, 246; 501−514. pp.
HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M.C. (1999): Free radicals in Biology and Medicine. *Oxford University Press*, Oxford, 617–783. pp.
HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M. (1989): Lipid peroxidation: a radical reaction. In: HALLIWELL B., GUTTERIDGE J.M. (Szerk.): *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2nd ed., *Claredon Press*, Oxford, 188−276. pp.
HALVEY O., SKLAN D. (1987): Inhibition of arachidonic acid oxidation by beta-carotene, retinol and alpha-tocopherol. *Biochim Biophys Acta*, 918; 304−307. pp.
HARPER E.J. AND FRITH N.(1999): Total plasma antioxidants in cats: normal ranges and influence of age. *The FASEB Journal*, 13 (446); 16. p.
HAWORTH W.N., HIRST E.L. (1933): Synthesis of ascorbic acid. *J. Soc. Chem. Ind. (London)*, 52; 645−647. pp.
HEDIGER M.A. (2002): New view at vitamin C. *Nat. Med.*, 8; 445−447. pp.
HENNIG A. (1972): Mineralstoffe – Vitamine – Ergotropika. *Deutsche Landwirtschaftsverlag*, Berlin, 312−322. pp.
HERBERT V., SHAW S., JAYATILEKE E. (1996): Vitamin C driven free radicals generation from iron. *J. Nutr*., 126; 1213−1220. pp.
HERBERT V. (1996): Introduction (Symposium: Prooxidant effects of antioxidant vitamins). *J. Nutr*., 126; 1197−1200. pp.
HORNSBY P. J., CRIVELLO J. F. (1983): The role of lipid peroxidation and biological antioxidants in the function of the adrenal cortex. Part. 1: A background review. *Molec. Cell. Endocrinol*, 30; 1−20. pp.
HORWITT M.K. (1991): Data Supporting Supplementation of Humans With Vitamin E. *The Journal of Nutrition*, 121 424−429. pp.
HUGHES D.A., WRIGHT A.J.A., FINGLAS P.M., PEERLESS A.C.J, BAILEY A.L., ASTLEY A.B., PINDER A.C., SOUTHON S. (1997): The effect of beta-carotene supplementation on the immune function of blood monocytes from healthy male nonsmokers [see comments]. *J. Lab. Clin. Med*., 129 309−317. pp.

IONOV I., SURAI P., SAKHATSKY N. (1994): Vitamins A and E content in avian egg yolk. *Journal for Ornithologie*, 135; 102. p.
IQBAL K., KHAN A., KHATTAK M.M.A.K. (2004): Biological significance of ascorbic acid (Vitamin C) in human health-a review. *Pakistan J. Nutr*., 3; 5−13. pp.
JACOB R., KUTNINK M., GRETZ D., DAROSZEWSKA M., BURTON, G. (1995): Effects of vitamin C nutriture on vitamin E status of healthy women. *FASEB J.*, 9 A 764. p.
JOHNSON C.S., STEINBERG F.M., RUCKER R.B. (1998): Ascorbic acid. In: RUCKER R.B, SULTIE J.W, MCCORMICK D.B, MACHLIN L.J (Szerk.): *Hand book of Vitamins.* Marcel Dekker Inc, New York, 529−585. pp.
JOSEPHY P.D. (1997): Oxigen activation. Molecular Toxicology. *Oxford Univ. Press, Oxford, UK*., 436−437. pp.
KAKUK T. (1981): A baromfi takarmányozásának alapjai. In: HORN P. (szerk): A baromfitenyésztők kézikönyve. Budapest: Mezőgazd. Kiadó, 137−191. pp.
KALLNER A., HARTMANN D., HORNIG D. (1981): On the requirement of ascorbic acid in man: steady-state turnover and body pool in smokers. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34; 1347−1355. pp.
KALLNER A., HORING D., HARTMAN D. (1982): Kinteics of ascorbic acid in humans. In: SEIB P.A., TOLBERT B.M. (Szerk.): *Ascorbic acid: Chemistry, metabolism and uses* Advances in Chemistry Series No.200, American Chemical Society, Washington, DC, 385−400. pp.
KAMAL-ELDIN A., APPELQVIST L.A. (1996): The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*., 31; 671−701. pp.
KARADASA F., PAPPASB A.C., SURAIC P.F., SPEAKE B.K. (2005): Embryonic development within carotenoid-enriched eggs influences the post-hatch carotenoid status of the chicken. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 141 (2); 244−251. pp.
KE Z., CLEMENT I. (2003): Synergy between Selenium and Vitamin E in Apoptosis Induction Is Associated with Activation of Distinctive Initiator Caspases in Human Prostate Cancer Cells. *Cancer Research*, 63; 6988−6995. pp.
KELLOF G.J., HAWK E.T., CROWELL J.A. (1996): Strategies for identification and clinical evaluation of promising chemopreventive agents. *Oncology (Huntington)*, 10; 1471−1484. pp.
KELLOF G.J., HAWK E.T., KARP J.E. (1997): Progress in clinical chemoprevention. *Semin. Oncol.*, 24; 241−252. pp.
KELLOF G.J., SIGMAN C.C., GREEENWALD P. (1999): Cancer chemoprevention: Progress and promise. *Eur. J. Cancer*, 35; 2031−2038. pp.
KERTI A., BÁRDOS L. (1997): Különböző mértékű A-vitamin ekvivalens ß -karotin takarmánykiegészítés hatása japánfürjtojások keltethetőségére. *Állatteny.Tak*., 46 (6); 515−524. pp.
KERTI A., BÁRDOS L. (1999): Storage of retinoids and beta-carotene in the genital organs of japanese quail. *Acta. Vet. Hung.*, 47; 95−101. pp.
KETTLE A. J., WINTERBOURN C.C. (1997): Myeloperoxidase: a key regulator of neutrophyl oxidant production. *Redox Report.*, 3; 3−15. pp.
KING A.J. UIJTTENBOOGAART T.G., de VRIES A.W. (1995): α-Tocopherol, β-Carotene and Ascorbic Acid as Antioxidants in Stored Poultry Muscle. *Journal of Food Science* Volume 60 Issue 5; 1009–1012. pp.
KIRÁLY Z., EL-ZAHABY H.M., KLEMENT Z. (1993): Effect of oxy free radicals on plant pathogenic bacteria and fungi and on some plant diseases. In:. MÓZSIK GY et al.

(eds.) *Oxygen Free Radicals and Scavengers in the Natural Sciences*., Budapest: Akadémiai Kiadó, 9−19. pp.
KISS I. (1981): Keltetési Ismeretek. In: HORN P. (szerk): *Baromfitenyésztők kézikönyve*. Budapest: Mezőgazda Kiadó, 192−235. pp.
KISS ZS., BÁRDOS L., SZABÓ CS., LENGYEL L., SZABÓ M. (2003): Effect of ß-carotene supplementation on plasma and yolk IgY levels induced by NDV vaccination in japanese quail. *Int. J. Vitam. Nutr. Res*., 73 (4); 285−289. pp.
KLASING K.C. (1998): Comparative Avian Nutrition. *University Press, Cambridge*, 277−299. pp.
KNIGHT J.A. (2000): Free radicals, antioxidants and the immune system. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 30 (2); 145−158. pp.
KONTUSH A., FINCKH B., KARTEN B., KOHLSCHUTTER A., BEISIEGEL U. (1996): Antioxidant and pro-oxidant activity of alpha-tocopherol in human plasma and low density lipoprotein. *J. Lipid Res*., 37; 1436−1448. pp.
KORMANN A. W., RISS G., WEISER H. (1989): Improved reproductive performance of rabbit does supplemented with dietary beta-carotene. *J. of Applied Rabbit Research*, 12; 15−21. pp.
KOVÁCS G., HUSVÉTH F., WÁGNER L., FARKASNÉ ZELE E., PÁL L., LENGYEL Z., DEÁK T. (2003): A takarmány összetételének hatása a tojássárgája A-, E-vitamin és koleszterintartalmára, valamint zsírsavösszetételére. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 52; 77−91. pp.
KRINSKY N. I., WANG X.-D., TANG G., RUSSELL R. M. (1994): Cleavage of ß-carotene to retinoids. In: LIVREA M.A, VIDALI G. (Szerk.): *Retinoids: From basic science to clinical applications*. Birkhäuser Verlag Basel/Switzerland. 21−28. pp.
KRINSKY N. I. (1993): Actions of carotenoids in biological systems. *Annu. Rev. Nutr*., 13; 561−587. pp.
KRINSKY N. I. (1994): The biological properties of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 66; 1003−1010. pp.
KUCUK O., SAHIN N., SAHIN K., GURSU M.F., GULCU F., OZCELIK M., ISSI M. (2003): Egg production, egg quality, and lipid peroxidation status in laying hens maintained at low ambient temperature (6 ºC) and fed a vitamin C and vitamin E-supplemented diet. *Czech Vet. Med*., 48; 33−40. pp.
LACHANCE P.-A., NAKAT Z., JEONG W.-S. (2001): Antioxidants: An integrative approach. *Nutrition*, 17; 835−838. pp.
LANGSETH L. (1995): Oxidants, antioxidants and disease prevention. *ILSI Europe Concise Monograph Series* 24 p.
LAPENNA D., DE GIOIA R. A., CIOFANI G., MEZZETTI A., UCCHINO S., CALAFIORE M., NAPOLITAMOO A. M., DI ILIO C, CUCCURULLO F. (1998): Glutathione-related antioxidant defences in human atherosclerotic plaques. *Circulation*, 97; 1930−1934. pp.
LATSCHA T. (1990): Carotenoids- their nature and significance in animal feeds. *Hoffmann- La Roche Ltd.* Basel.110 p.
LATSHAW J.D., OSMAN M. (1974): A Selenium and vitamin E response condition in the laying hen. *Poultry Sci.*, 53; 1704−1708. pp.
LAURIDSEN C., HOSGAARD S., MARTIN S. (1999): Influence of dietary rapeseed oil, vitamin E, and copper on the performance and antioxidative and oxidative status of pigs. *J. Anim. Sci*., 77; 906−916. pp.
LAWRENCE, R.A., BURK, R.F. (1978): Species, tissue and subcellular distribution of non-selenium dependent glutathione peroxidase activity. *J. Nutr*. 108; 211−215. pp.

LEESON S., CASTON L.J. (2003): Vitamin Enrichment of Eggs. *J. Appl. Poult. Res.*, 12; 24−26. pp.
LEESON S., WALSH T. (2004): Feathering in commercial poultry I. Feather growth and composition. *World's Poultry Science Journal*, 60; 42−51. pp.
LENGYEL L., SZABÓ M., KISS ZS., BÁRDOS L. (2001): Utilization of antioxidants from natural and synthetic matrices: Annual Symposium of the European Academy of Nutritional Sciences, Budapest, 2001. aug. 24−25. - *Táplálkozás–Allergia-Diéta*, 6. (3−4.); 19. p.
LESGARDS J.F., DURAND P., LASSARE M. (2002): Assessment of lifestyle effects on the overall antioxidant capacity of healthy subjects. *Environ Health Persp.*, 110; 479−486. pp.
LEVANDER, O. A., BURK R. F. (1996): Selenium. *In: ZIEGLER, E. E., FILER, L.J.* eds.: Present Knowledge in Nutrition,. *ILSI Press*, Washington, *D.C.*, 320−324. pp.
LEVIN M. (1986): New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *New Engl. J. Med.*, 31; 892−902. pp.
LI R.K., COWAN D.B., MICKLE D.A.G., WEISEL R.D., BURTON G.W. (1996): Effect of vitamin E on human glutathione peroxidase (GSH-PX1) expression in cardiomyocytes. *Free. Radic. Biol. Med.*, 21; 419−426. pp.
LISK D. J. (1994): Enrichment of selenium in allium vegetables for cancer prevention. *Carcinogen*. 15; 1881−1885. pp.
LIVREA M. A., PACKER L. (1994): Vitamin A as an antioxidant in vitro and in vivo. In: LIVREA M. A., VIDALI G. (eds).: Retinoids: From Basic Science to Clinical Applications. *Bikhäuser Verlag.*, Basel/Switzerland. 293–303. pp.
LIVREA M.A., TESORIRRE I., FRIESLEBEN H.J. (1996): Vitamin A as an antioxidant. In: CADENAS E, PACKER L. (Szerk.): Handbook of antioxidants. *Marcel Dekker*, New York, 371−405. pp.
MAHAN D.C. (1995): The role of organic selenium in non-ruminant diets. *Technical Symposium. University of Minnesota*, 9−23. pp.
MAKROPOULOS W. (1997): Selenium deficiency and thyroid function in acute renal failure. *Renal Failure*, 19 (1); 129−136. pp.
MARASCHIELLO C., ESTEVE E., GARCÍA-REGUEIRO J.A. (1998): Cholesterol oxidation in meat from chickens fed α-tocopherol and β-carotene supplemented diets with different unsaturation grades. *Lipids*., 33; 705−713. pp.
MARK S. D. (1998): Do nutritional supplements lower the risk of stroke or hypertension? *Epidemiology*, 9 (1); 9−15. pp.
MATHEWS-ROTH M. (1982): Antitumor activity of beta -carotene, canthaxanthin and phytoene. *Oncology*, 39; 33−37. pp.
MATSUO M., KANEKO T. (2000):. The chemistry of reactive oxygen specieses and related free radicals. In: RADÁK ZS.(szerk.): Free Radicals in Exercise and Aging. *Human Kinetics*, (1); 1−34. pp.
MCKAY P.B., KINGS M.M. (1980): Vitamin E: Its role as a biological free radical scavenger and its relationship to the microsomal mixed-function oxidase system. In: MACHLIN L.J. (Szerk.): *Vitamin E, a comprehensive treaties*. Marcel Dekker Inc. New York, 357−371.pp.
MCKAY D.L., PERRONE G., RASMUSSEN H., DALLAL G., HARTMAN W., CAO G., PRIOR R.L., ROUBENOFF R., BLUMBERG J.B. (2000): The Effects of a Multivitamin/Mineral Supplement on Micronutrient Status, Antioxidant Capacity and Cytokine Production in Healthy Older Adults Consuming a Fortified Diet. *Journal of the American College of Nutrition*, 19 (5); 613−621. pp.

MEYDANI M. (2001): Vitamin E and Atherosclerosis: Beyond Prevention of LDL Oxidation, *Journal of Nutrition*, 131; 366−368. pp.
MÉZES M., SURAI P., SÁLYI G., SPEAKE B.K., GAÁL T., MALDJIAN A. (1997): Nutritional metabolic diseases of poultry and disorders of the biological antioxidant defense system. *Acta Vet. Hung.*, 45; 349−360. pp.
MÉZES M. (1987): Investigations of vitamin E transport of different age groups of domestical fowl. *Bull. Univ. Agric. Sci.* Gödöllő, 59−64. pp.
MÉZES M. (1999): Új eredmények az antioxidáns vitaminok hatásairól a baromfi-takarmányozásban. *Állatteny. Takarm.*, 48; 808−811. pp.
MIHAILOVIC M. B. (1998): Blood and plasma selenium levels and GSH-Px activities in patients with arterial hypertension and chronic heart disease. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 17 (3−4); 285−289. pp.
MILLS G.C. (1957): Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.*, 229; 189−197. pp.
MINOTTI G. (1993): Sources and role of iron in lipid peroxidation. *Chem. Res. Toxicol*. 6; 134−146. pp.
MOLENAAR I., HULSTAERT C.E., HARDONK M.J. (1980): Role in function and ultrastructure of cellular membranes. In: MACHLIN L.J. (Szerk.): *Vitamin E: A comprehensive treatise*. Marcel Dekker, New York, 372−389. pp.
MOSER U., BENDICH A. (1990): Vitamin C. In: MACHLIN L.J. (Szerk.): *Handbook of Vitamins*. Marcel Dekker, New York, Ch5.
MULLER D.P.R. (1987): Free radical problems of the newborn. *Proc. Nutr. Soc.*, 46; 69−75. pp.
NABER E.C. (1979): The effect of nutrition on the composition of eggs. *Poultry Sci.*, 58; 518−528. pp.
NAIDU K.A. (2003): Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutr. J.*, 2; 7. p.
NEGORO S., HARA H.(1992): The effect of taurine on the age-related decline of the immune response in mice: the restorative effect on the T cell proliferative response to costimulation with ionomycin and phorbol myristate acetate**.** *Adv Exp Med Biol*, 315; 229−239. pp.
NIKI E., MATSUO M. (1992): Vitamin E in health and disease. *Marcel Dekker*, New York, 248; 121−130. pp.
NIKI E., TSUCHIYA J., TANIMURA R., KAMIYA Y. (1982): Regeneration of vitamin E from alpha-chromanoxyl radical by glutathione and vitamin *C. Chem. Lett*., 27; 789−792. pp.
NIKI E. (1987): Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phys. Lipids*., 44; 227−253. pp.
NIKI E. (1991): Vitamin C as an antioxidant. *World Rev. Nutr. Diet*., 64; 1−30. pp.
NOBLE R.C., COCCHI M. (1990): Lipid metabolism and the neonatal chicken. *Prog. Lipid Res.* 29; 107−140. pp.
NOCTOR G., FOYER C.H. (1998): Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*., 49; 249−279. pp.
OLDFIELD J.E. (1997): Observation on the efficiacy of various forms of selenium for livestock: a review. *Biomed. Environ Sci*., 10 (2−3); 280−291. pp.
OLSON R.E. (1999): Water soluble vitamins. In: MUNSON P.L., MUELLER R.A., BRESSE G.R. (Szerk.): *Principles of Pharmacology.* Chapman and Hall, New York, Ch 59.

ORTEGA1 R.M., REQUEJO A.M., LÓPEZ-SOBALER A.M., ANDRÉS P., NAVIA B., PEREA J.M., ROBLES F. (2002): Cognitive Function in Elderly People Is Influenced by Vitamin E Status. *The American Society for Nutritional Sciences J. Nutr*., 132; 2065−2068. pp.
PACIFICI R.E, DAVIDES K. (1991): Protein, lipid, and DNA repair systems in oxidative stress: the free radical theory of againg revisited. *Gerontology*, 37; 166−180. pp.
PACKER L. (1992): New horizons in vitamin E research- the vitamin E cycle, biochemistry, and clinical applications, *Birkhauser Verlag*, Basel, 1−16. pp.
PÁL L., DUBLECZ K., HÚSVÉTH F., WÁGNER L., BARTOS Á., KOVÁCS G. (2002): Effects of dietary fats and vitamin E parameters of egg yolk. *Archiv für Geflügelkunde*, 6; 251−257. pp.
PALOZZA P., KRINSKY N. I. (1994): Antioxidant properties of carotenoids. In: LIVREA M. A., VIDALI G. (Szerk.): *Retinoids: From Basic Science to Clinical Applications*. Birkhäuser Verlag Basel/Switzerland, 35−41. pp.
PALOZZA P., KRINSKY N.I. (1992): β-carotene and α-tocopherol are synergistic antioxidants. *Arch. Biochem. Biophys*., 297; 184−187. pp.
PALOZZA P., LUBERTO C., CALVIELLO G., RICCI P., BARTOLLI G.M. (1997): Antioxidant and prooxidant role of beta-carotene in murine normal and tumour thymocytes: effects of oxygen partial peressure. *Free Rad. Biol. Med*., 22; 1065−1073. pp.
PAOLICCHI A., PEZZINI A., SAVIOZZI M., PIAGGI S., ANDREUCCETTI M., CHIELI E., HALVALDI G., CASINI A.F. (1996): Localization of a GSH-dependent dehydroascorbate reductase in rat tissues and subcellular fractions. *Arch. Biochem. Biophys*., 333; 489−495. pp.
PAPPENHEIMER A.M., GOETSCH M. (1931): A cellular disorder in chicks, apparently of nutritional origin. *J. Exp Med*., 53; 11−26. pp.
PARSONS M. J., KU P.K., MILLER E.R. (1985): Lysine Availability in Flash-Dried Blood Meals for Swine. *Journal of Animal Science*, 60; 1447−1453. pp.
PAUST J. (1991): Recent progress in commercial retinoids and carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, 63; 45−58. pp.
PERILLO B., OMBRA M.N., BERTONI A., CUOZZO C., SACCHETTI S., SASSO A., CHIARIOTTI L., MALORNI A., ABBONDANZA C., AVVEDIMENTO E.V. (2008): DNA oxidation as triggered by H3K9me2 demethylation drives estrogen-induced gene expression. *Science*, 319; 202-206.pp.
PETO R., DOLL R., BUCKLEY J.D., SPORN M.B. (1981): Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates? *Nature*, 290; 201−208. pp.
PETROVIČ V., BOLDIŽÁROVÁ FAIX S., MELLEN M., ARPÁŠOVÁ H., LENG L. (2006)*:* Antioxidant and selenium status of laying hens fed with diets supplemented with selenite or Se-yeast. *J. Anim. Feed Sci.*, 15; 435−445. pp.
PLACER Z.A., CUSHMAN L., JOHNSON B.C. (1966): Estimation of products of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.*, 16; 359−364. pp.
POŁATAJKO, A., SLIWKA-KASZYNSKA, M., DERNOVICS M., RUZIK R., RUIZ ENCINAR, J., SZPUNAR, J. (2004)*:* A systematic approach to selenium speciation in selenized yeast. *J. Anal. Atom. Spectr.* 19; 114−120. pp.
POLEZHAEV A.A., VOLKOV E.L. (1981): On the possible mechanism of cell cycle synchronisation. *Biol.Cybern.* 41; 81−89. pp.
PORTER W.L. (1992): Paradoxical behaviour of antioxidants in food and biological systems. *Toxicol. Ind. Health*., 9; 93−122. pp.

POWIS G., GASDASKA J.R., BAKER A. (1997): Redox signaling and the control of cell growth and death. *Adv. Pharmacol*., 38; 329−359. pp.
PRYOR W.A. (1982): Free radical biology: xenobiotics, cancer, againg. *Ann. New York Acad. Sci*., 293; 1−22. pp.
PRYOR W.A. (1986): Oxy-radical and related species: their formation, lifetimes, and reactions. *Ann. Rev. Physiol*., (48); 657. p.
PUSZTAI A., BÁRDOS L. (1995): Béta-karotin- és retinil-acetát-kezelés hatása a vérplazma retinoid- és béta-karotin-szintjére, valamint a petefészek in vitro progeszteronszekréciójára japán fürjben. *Magy. Áo. Lapja*, 50 (6); 353−355. pp.
RAIMONDI L., LOCATELLI C., BIASINI A., POCECCO M. (2004): Iron harmful in an anemic baby. *Quaderni acp*., 11 (1); 36−37. pp.
RICE D., KENNEDY S. (1988): Vitamin E: function and effects of deficiency. *Br. Vet. J*., 144; 482−496. pp.
RICE-EVANS C.A., BRUCHDORFER K.R. (1992): Free radicals, lipoproteins and cardiovascular dysfunction. *Mol. Aspects Med*., 13; 1−111. pp.
RIKANS L.E., HORNBROOK K.R. (1997): Lipid peroxidation, antioxidant protection and aging. *Biochem. Biophys. Acta*., 1362; 116. p.
ROJAS-HIDALGO E., OLMEDILLA B. (1993): Carotenoids. *International J. for Vitamin and Nutrition Research*, 63; 265−269. pp.
ROTRUCK J.T., POPE A.L., GANTHER H.E., SVANSON A.B., HAFEMAN D.G., HOEXTRA W.G. (1973): Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Sci.*, 179; 588−590. pp.
RUSSEL J., REITER, JUAN R., CALVO, MALGORZATA, KARBOWNIK, WENBO Q.I., DUN XIAN TAN (2000): Melatonin and it's relation to the immune system and anflammation, *Ann. N.y. Acad. Sci*., 917; 376−386. pp.
SACHECK J.M., BLUMBERG J.B. (2001): Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition*., 17; 809−814. pp.
SASAKI K., KITAGUCHI Y., KOGA K., NARITA R., FUKUDA T., AOYAGI Y. (2001): Dehydroascorbic acid reduction in several tissues and cultured hepatocytes of the chicken. *Biosci. Biotechnol. Biochem*., 65; 2255−2290. pp.
SAUBERLICH H.E. (1990): Ascorbic acid. In: BROWN M.L. (Szerk.): *Present knowledge in Nutrition*. *Nutrition* Foundation, Washington DC. 279−286. pp.
SCHRAUZER G. N., SACHER J. (1994): Selenium in the maintenance and therapy of HIV-infected patients. *Chem.-Biol. Interact*., 91; 199−205. pp.
SCOTT R. (1998): The effect of oral selenium supplementation on human sperm motility. *British Journal of Urology*, 82 (1); 76−80. pp.
SERBINONVA E.A., PACKER L. (1994): Antioxidant properties of tocopherol and tocotrienol. *Methods Enzymol*., 234; 354−367. pp.
SHEAA T.B., ROGERSA E., ASHLINED D., ORTIZA D., NANCY DUARTED N., THOMAS A.,WILSON B.E., ROBERT J., NICOLOS B., SHEDF M.-S. (2002): Vitamin E Deficiency Does Not Induce Compensatory Antioxidant Increases In Central Nervous System Tissue Of Apolipoproteine-Deficient Mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, 4; 1−6. pp.
SHEN H.M., PERVAIZ S. (2006): TNF receptor superfamily-induced cell death: redox-dependent execution, *FASEB J*., 20 (10); 1589−1598. pp.
SHEWFELT R.L., PURVIS A.C. (1995): Toward a comprehensive model for lipid peroxidation in plant tissue disorders. *Hort. Sci*., 30; 213−218. pp.
SIES H. (szerk) (1991): Oxidative stress-oxidants and antioxidants. *London Academic Press*, 82; 291−295. pp.

SIES H., STAHL W. (1992): Antioxidant function of vitamins: Vitamin E and C, Beta-carotene, and other carotenoids. *Ann.N.Y. Acad.Sci*., (669); 7−20. pp.
SIES H.(1990): Carotinoide. *Deutsches Ärzteblatt - Ärztliche Mitteilungen*, 87; 5. p.
SINKOVITSNÉ H.I. (1968): A Galliformes rendbe tartozó néhány madárfaj, fajta, illetve hibrid gázanyagcseréje és redoxpotenciál értékei az embrionális életszakaszokban. *Egyetemi Doktori értekezés*, Gödöllő.
SMIRNOFF N., WHEELER G.L. (1999): Ascorbic acid metabolism in plants. In: BRYANT J.A., BURRELL M.M., KRUGER N.J. (Szerk.): *Plant Carbohydrate Biochemistry* Oxford: Bios Scientific Publishers, 215−229. pp.
SMIRNOFF N. (1996): The function and metabolism of ascorbic acid in plants. *Ann. Bot. (London)*, 78; 661−669. pp.
SOMORJAI GY., PETHES GY. (1984): A szarvasmarha vérszérum összkarotin- és béta-karotin-tartalmának mérésével kapcsolatos módszertani tapasztalatok. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 39; 33−36. pp.
SONG S., SANCHEZ-RAMAS J. (2000): DNA damage repair and antioxidant system in brain regions: a correlative study. *Free Rad. Biol. Med*., 28; 779−785. pp.
STEINHART H., VOLLMAR M., SAILER C. (1993): Pro- and antioxidative effect of ascorbic acid and L-tryptophan in the system Fe^{3+}/ascorbic acid/ O_2. *J. Agr. Food Chem*., 41; 2275−2277. pp.
STOCKER R., FREI B. (1991): Oxidative stress: Oxidants and antioxidants; *Academic Press*, London, 213−243. pp.
STRYER L. (1988): Glutathione peroxidase. In: STRYER, L. (Szerk.): *Biochemistry*. W. H. Freeman and Company, New York, 593. p.
SUGIYAMA M. (1994): Role of cellular antioxidants in metal-induced damage. *Cell. Biol. Toxicol*., 10; 1−22. pp.
SUN Q.A., KOMURA S., OHISHI N., YAGI K. (1996): Alpha class isoenzymes of glutathione-S-transferase in rat liver cytosol possess glutathione peroxidase activity toward phospholipid hydroperoxide. *Biochem. Mol. Biol. Int*., 39; 343−352. pp.
SUPPLEE W.C. (1966): Feather abnormality in poults fed a diet deficient in vitamin E and selenium. *Poult Science*, 45 (4); 852−4. pp.
SURAI P.F., IONOV I.A., KUKLENKO T.V., KOSTJUK I.A., MACPHERSON A., SPEAKE B.K., NOBLE R.C., SPARKS N.H. (1998): Effect of supplementing the hen's diet with vitamin A on the accumulation of vitamins A and E, ascorbic acid and carotenoids in the egg yolk and in the embryonic liver. *Br. Poult. Sci*., 39; 257−263. pp.
SURAI P.F., KUKLENKO T.V. (2000): Effects of vitamin A on the antioxidant systems of growing chicken. *Asian-Austr. J. Anim. Sci*., 13; 1290−1295. pp.
SURAI P.F., NOBLE R.C., SPEAKE B.K. (1996): Tissue-specific differences in antioxidant distribution and susceptibility to lipid peroxidation during development of the chick embryo. *Biochim. Biophys. Acta*., 1304; 1−10. pp.
SURAI P.F., SPARKS N.H.C. (2000): Tissue-specific fatty acid and α-tocopherol profiles in male chickens depending on dietary tuna oil and vitamin E provision. *Poult. Sci*., 79; 1132−1142. pp.
SURAI P.F., SPARKS N.H.C. (2001): Designer eggs: from improvement of egg composition to functional food. *Trends in Food Science and Tehnology*, 12 (1); 7−16. pp.
SURAI P.F., SPEAKE B.K., NOBLE R.C., MÉZES M. (1999): Species-specific differences in the fatty acid profiles of the lipids of the yolk and of the liver of the chick. *J. Sci. Food Agric.*, 79; 733−736. pp.
SURAI P.F. (2002a): Natural antioxidants in avian nutrition and reprduction. *Nottinhgam University Press*, Nottingham, 615. p.

SURAI, P.F. (2002b): Antioxidant protection in the intestine: a good beginning is the half the battle. *In: Lyons, T.P., Jaques, K.T. eds.: Mainstream the niche. Proc.Alltech's 18th Annual Conference, Nottingham University Press*, Nottingham, 301−321. pp.
SURAI, P.F. (2006): Selenium in poultry nutrition. In: Selenium in nutrition and health. *Nottingham University Press*, Nottingham, 363−444. pp.
SURE B. (1924): Dietary requirement for reproduction. II. The existence of a specific vitamin for reproduction. *J. Biol. Chem*., 58; 693−709. pp.
SVIRBELY J.L., SZENT-GYORGYI A. (1932) : The chemical nature of vitamin C. *Biochem J*., 26; 865−870. pp.
TAGWERKER F. J., STREIFF K., BRUBACHER G. (1962): Carotenoids in poultry nutrition. *Proceedings of the 12th World's Poultry Congress*, 177−181. pp.
TANAKA K., HASHIMOTO T., TOKUMARU S., IGUCHI H., KOJO S. (1997): Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inheritently scorbutic rats. *J. Nutr*., 127; 2060−2064. pp.
TAPPEL A.L. (1968): Will antioxidant nutrients slow aging processes. *Geriatrics*., 23; 97−105. pp.
TOMPA A., SZENDE B. (2002): Megelőző orvostudomány: biomonitorozás és kemoprevenció. *Magyar Onkológia*, 46; 147−153. pp.
TOMPA A. (2005): A környezeti ártalmak rákkeltő hatása. *Onkológia*, 8; 971−976. pp.
TOMPA A. (2003): A környezeti ártalmak és a daganatos betegségek megelőzése, *Magyar Tudomány*, 11; 10−13. pp.
URSINI F., MAIORINO M., HOCHSTEIN P., ERNSTER L. (1989): Microsomal lipid peroxidation: mechanisms of initiation. The role of iron and iron chelators. *Free Rad. Biol. Med*., 6; 31−36. pp.
VAN GOLDE J.C., BORM P.J., WOLFS M.C., RHIJNSBURGER E.H., BLANCO C.E. (1998): Induction of antioxidant enzyme activity by hyperoxia (60% O_2) in the developing chick embryo. *J. Phys*., 509; 289−296. pp.
VARGA M., REMPORT Á., CZEBE K., PÉTER A., TORONYI É., SÁRVÁRY E., FEHÉRVÁRI I., SULYOK B., JÁRAY J. (2008): A cytomegalovírus-fertőzés rizikófaktorai, hatásai és a megelőzés lehetőségei transzplantációt követően, *Orvosi Hetilap*,149; 551−558. pp.
VERNIE L. N. (1984): Selenium in carcinogenesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 738; 203−217. pp.
VILAS N.N., BELL R.R., DRAPER H.H. (1976): Influence of dietary peroxides, selenium and vitamin E on glutathione peroxidase of the gastrointestinal tract. *J. Nutr*., 106; 589−596. pp.
VOGTMANN H., PRABUCKI A. L.(1970): Zur Bestimmung der Carotinoide im Eidotter von Hühnereiern. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*,. 144; 101−104. pp.
WARDMAN P., CANDEIAS L.P. (1996): Fenton chemistry: an introduction. *Radiat. Res*., 145; 523−531. pp.
WATKINS T., LENZ P., GAPOR A., STRUCK M., TOMEO A., BIERENBAUM M. (1993): γ-Tocotrienol as a hypocholesterolemic and antioxidant agent in rats fed atheorgenic diets. *Lipids*., 28; 1113−1118. pp.
WATKINS T.R., BIERENBAUM M.L. (2001): Dietary polyunsaturated fat in cardiovascular disease: boon or bane? In: Omega-3 Fatty Acids.
WEBER M., MÉZES M. (2001): E-vitamin kiegészítés hatása a pulykahús Evitamin tartalmára és oxidatív stabilitására. *A Baromfi*, 4; 60−63. pp.
WEEKS M.E. (1968): Discovery of the Elements, *Journal of Chemical Education*, 305−317. pp.

WELLS, W.W., XU D.P. (1994): Dehydroascorbate reduction. *J. Bioenerg. Biomembr.* 26; 369−377. pp.
WEST C.E., CASTENMILLER J.J.M. (1998): Quantification of the “SLAMENGHI” factors for carotenoid bioavilability and bioconversation. *Internat.J.Vit.Nutr.Res.,* 68; 371−377. pp.
WHEELER G.L., JONES M.A., SMIRNOFF N. (1998): The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature (London),* 393; 365−369. pp.
WHITEHEAD C.C., KELLER T. (2003): An update on ascorbic acid in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 59; 161−184. pp.
WHITEHEAD C.C., PORTSMOUTH J.I. (1989): Vitamin requirements and allowances for poultry. In: Haresign W. and Cole D.J.A., eds. Recent Advances in Animal Nutrition. *Butterworths,* London, 35−86. pp.
WHO (1996): Trace elements in human nutrition and health. (Prepared in collaboration with the Food and Agricultural Organization of the United Nations and with the International Atomic Energy Agency). 1−343. pp.
WILCE M.C.J., PARKER M.W. (1994): Structure and function of glutathione-S-transferases. *Biochim. Biophys. Acta*., 1205; 1−18. pp.
WILHELM J. (1990): Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Univ. Carol. Med. Monogr*., 137; 1−53. pp.
WILSON W.O., ABBOTT U.K., ABPLANALP H. (1961): Evaluation of coturnix (Japanese quail) as a pilot animal for poultry. *Poultry Sci.*, 40 (3); 651−657. pp.
WINTERBOURN C.C. (1995): Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicol. Lett*., 82/83; 969−974. pp.
WLODEK L. (2002): Beneficial and harmful effects of thiols. *Pol. J. Pharmacol*., 54; 212−223. pp.
WOODALL A., BRITTON G., JACKSON M.J. (1996): Dietary supplementation with carotenoids: effects on alpha−tocopherol levels and susceptibility of tissues to oxidative stress. *Br. J. Nutr*., 76; 307−317. pp.
YIN M.C., FAUSTMAN C., RIESEN J.W., WILLIAMS S.N. (1993): α- Tocopherol and ascorbate delay oxymyoglobin and phospholipid oxidation in vitro. *J. Food Sci*., 58; 1273−1281. pp.