

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



A BAROMFI IMMUNRENDSZERÉNEK TÁMOGATÁSA TERMÉSZETES EREDETŰ KAROTINOIDOKKAL

Szabó Csaba, Lakner Hajnalka, Jung Ivett, Kiss Zsuzsanna, Bárdos László

Szent István Egyetem, Állattudományi Alapok Intézet,
Állatételtani és Állategészségügyi Tanszék, 2103 Gödöllő, Páter Károly út 1.
szabo.csaba@mkk.szie.hu

Összefoglalás

Az immunrendszer sokrétűen szabályozott, más biológiai rendszerektől nem izolált, a szervezettel kapcsolatba kerülő, antigénekhez alkalmazkodni tudó mechanizmus. A rendszer felépítésének és szabályozásának számos részlete már ismert. Az immunfolyamatok komplex szabályozottságában, sokrétűségében, sejtjeinek bonyolult kölcsönhatásában szerepet játszó anyagok közül fontosak az ún. immunmodulánsok (fehérjék, PUFA, A-, C-, D- és E-vitaminok, karotinoidek, valamint ásványi anyagok, főleg mikroelemek). E sokoldalúan szabályozott rendszer működésébe nehéz egy ponton beavatkozni úgy, hogy azzal látványos változást érjünk el a baromfi immunválasz-készségében. A baromfi takarmányozásában törekedni kell a teljes biológiai értékű takarmány etetésére. Vizsgálataink területe azonban azok a természetes eredetű karotinoidek voltak, amelyek jelentősen befolyásolják a limfociták antigénindukált szaporodását. A gyorsan ható sejtes immunválasz során megtörténik a kórokozók aktív felderítése és makrofágokkal történő megsemmisítése. A B-limfocita eredetű plazmasejtek által termelt ellenanyagokon (immunglobulinok) alapszik a humorális immunválasz. A madárszérumban legjelentősebb immunglobulin frakciójának jelölésére IgY használatos az emlős IgG helyett. A megkülönböztetést az emlősökétől eltérő szerkezete és tulajdonságai indokolják. A tyúk szérumban IgY és a tojásba szekretált IgY összehasonlító vizsgálata során bebizonyosodott, hogy azok azonosak. Így a tojássárgája nagy IgY tartalma a maternális immunitás egyik fontos eleme. A szikanyagba szekretált IgY-t a fejlődő embrió felszívja és a kelés utáni 2-3 hétig bizonyos fokig már védett a fertőzések ellen. Mind a vérszérumban, mind a tojásban a szekretált ellenanyagok mennyiségét vizsgálataink szerint növelni lehet természetes eredetű karotinoidek adásával.

Kulcsszavak: természetes eredetű karotinoidek, immunrendszer, IgY, baromfi

Improvement of chicken immune system with natural carotenoids

Abstract

Complex regulation of immune system is not isolated from other systems. This is an adaptive responsive mechanism to antigens. The structure's and regulation's are already well-known. The most important substances which affect to this system are the immunomodulators (proteins, PUFA, A, C, D, E-vitamins, carotenes and some microelements). It is difficult to influence into immune system to create a significant change in the immune response of the chicken. Natural carotenoids were analyzed (beta-carotene and lycopene) in connection with immune response. These carotenoids can create a significant change in the antigen-induced proliferation of lymphocytes. In the way of the cellular immune response causative agent will be found and killed by macrophages. The humoral immune response is that plasma cells are produce antibodies (AB: immunoglobulin).

The most important AB fraction of avian species is immunoglobulin-Y (IgY) for the distinction of mammalian IgG. There are some crucial point of difference between IgG and IgY. The serum IgY is identical with yolk AB as it were proven in comparative studies. The IgY content of yolk is the most important factor of the immunity of newly hatched chicks. The developing embryo absorbs IgY and in the first 2-3 weeks post hatching period. This will be protecting the birds against infections. According to our experience it can be improved the level of antibodies both in the blood and in the egg by supplementing natural carotenoids in the fodder of layers.

Keywords: natural carotenoids, immune system, IgY, poultry



Irodalmi áttekintés

A baromfi immunrendszere és kapcsolata a karotinoidokkal

Annak ellenére, hogy a madarak immunrendszerének felépítése és szabályozottsága elég sok részletében már ismert, miszerint annak működése több tekintetben hasonló az emlősállatokéhoz, felépítése (pl. a jellemző nyirokszerv a *bursa cloacalis* (Fabricius-féle tömlő), a lymphoid sejthalmazok szerveződése, a CD-markerek, az MHC-antigének, továbbá az immunglobulinok szerkezete) jelentősen különbözik. A madarak immunrendszeréről azonban folyamatosan számos új felismerés lát napvilágot.

A madarak immunglobulinjai különböznek az emlősökétől. Az IgY a madarak vérében és tojássárgájában is megtalálható monomer, amely funkcióját tekintve az antigénre adott „tartós” választ jelentő emlős IgG megfelelője. Az IgY a szérumban az immunglobulinok között a legnagyobb arányt (kb. 70 %) képviseli.

A madárszérum legnagyobb frakciójának jelölésére *Leslie és Clem* (1969) az IgG helyett javasolták az IgY-t. A megkülönböztetést és elnevezést ennek a jellemző immunglobulinnak az emlősökétől eltérő szerkezetével (pl.: a kapocs régió hiánya, ami miatt a molekula két karja mindig Y-t formál), előfordulási helyével (tojássárgájában is található, sárgája=yolk [ang.]), és eltérő tulajdonságával is indokolták. A madarak immunglobulinjának Fc-részéről hiányoznak a kötőhelyek. A H-lánc vagy hosszabb, vagy rövidebb, mint az emlősök IgG-jének esetében.

A tojómadár véreből a petefészektüszőkbe folyamatosan szekretálódik ez a madarakra jellemző fő ellenanyag típus. A tüszőkben az IgY koncentráció közel állandó, tehát a beépülés folyamatos. (*Szabó és Bárdos*, 2002).

A szervezet ellenálló képességét meghatározó ellenanyagok mennyisége a keringő vérben, valamint a tojásban is növelhető a takarmány karotinoid mennyiségének optimális beállításával. A karotinoidok pozitív hatást gyakorolnak a humorális immunválaszra. Megfigyelhető az ellenanyag termelő sejtek számának megemelkedése a karotinoidok hatására (*Kiss és mtsai*, 2003).

A provitamin hatású karotinok átalakulnak A-vitaminná a szervezetben. Már régóta ismert a látásban betöltött szerepük, szaporodásbiológiai funkciójuk, antioxidáns tulajdonságuk és a hámeredetű szövetekre gyakorolt hatásuk, így a limfociták szaporodásában és differenciálódásában is lényeges a jelenlétük (*Saphiro és Edelson*, 1985; *Lipman és Meykeus*, 1988; *Watson és Ribski*, 1988; *Dhur és mtsai*, 1991; *Merrill és mtsai*, 1991; *West és mtsai*, 1991).



Szabó és Bárdos (2003) vizsgálatai kimutatták hogy késleltetett immunválasz csökkenés tapasztalható mind A-vitamin hiány, mind túladagolás esetén, mivel a retinoidok a késői típusú immunválaszért felelős sejtfunkciókban regulátor szerepet töltenek be.

A karotinoidok és immunstimulatív hatásuk

A természetből eddig kb. 600-féle karotinoidot azonosítottak, amelyek közül az egyik leggyakoribb és a provitamin hatású β -karotin fordul elő, melynek antioxidáns hatása is ismert. A β -karotin mellett ma már egyre inkább a figyelem középpontjába kerülnek más karotinoidok is, mint például a lutein, a zeaxantin, a likopin és a kriptoxantin. A nem provitamin hatású karotinoidok közül, mint pl. a likopin és az alfa-karotin is szintén fokozzák a szervezet ellenálló képességét antioxidáns hatásuk miatt.

Az állatok β -karotin szintetizálására nem képesek, így folyamatos utánpótlásra szorul, viszont a táplálékkal bejutott egy részét metabolizálják. Az ember és néhány állatfaj (ló, szarvasmarha, tyúkfélék) vékonybélhámsejtjei a karotinoidokat metabolizálják, de 20-30%-át változatlan formában a keringésbe juttatják.

A karotinoidok szerkezetileg telítetlen izoprén-származékok, 40 C atomos molekulák. Konjugált kettős kötések tartalmazzák, emiatt színesek, színük a halvány sárgától a sötét vörösig terjedhet. Előfordulhatnak például zöld növényekben (α -karotin, β -karotin), kukoricában (β -zeakarotin, lutein, zeaxantin), sárgarépában (β -karotin, γ -karotin, lutein), tojássárgájában (lutein, kriptoxantin, β -karotin), paradicsomban (likopin, β -zeakarotin), stb.

Mint természetes festékek, igen elterjedtek a természetben és ezért használják őket élelmiszer színezékek előállítására is.

Állatokon végzett kísérletek és humán epidemiológiai vizsgálatok bizonyították, hogy a β -karotin, és egyéb nem provitamin hatású karotinoidok adagolása is a B- és T-lymphociták fokozott proliferációjában nyilvánult meg (Bendich és Shapiro, 1988, Ágota, 2000). Állatkísérletekben a cytotoxikus T-sejtek, a természetes killer sejtek és a makrofágok aktivitásának fokozását is észlelték (Bendich, 1992).

A karotinoidok mind a sejtműködés, mind a környezeti stresszorok következtében termelődött intra- és extracelluláris szabad gyökök eltávolítása során látnak el fontos szerepet. Ezzel kapcsolatban fenntartják az immunrendszer szerkezetének épségét (Britton, 1995, Chew, 1996, Ágota 2000). A β -karotin adagolás követően, a nem provitamin hatású karotinoidokhoz hasonlóan a T- és B-lymphociták, a makrofágok és az ölüsejtek válaszképességét fokozódott.



A mechanizmus sejteti a karotinoidok immunitásnövelő képességét, antioxidánsként és szabad oxigén befogóként történő viselkedést, amely egyébként az A-vitaminra nem jellemző (Bendich, 1992, Sies, 1990).

Coridan és mtsai (2001) azt valószínűsítik, hogy a likopin immunmoduláns hatása is közvetett módon érvényesül, azaz az immunkompetens sejteket az oxidatív károsodástól óvja. Ezt igazolja az, hogy a lymphociták oxidatív stabilitását két hétig tartó napi 25 mg likopin (paradicsompürében) mintegy 50%-al növelte (Porrini és Riso, 2000).

Természetes eredetű karotinoidok a vadon élő madarak általános ellenálló képességének javulását eredményezte, amelyet a véresejtsüllyedés csökkenésével, a csontok növekedésének gyorsulásával és a tollasodás ütemének növekedésével jellemeztek (Biard és Surai, 2007).

Anyag és módszer

Kísérleti állatok

Vizsgálatunk során egyrészt saját keltetésű japán fürjeből 4 egyenlő létszámú csoportot kialakítva vizsgáltuk a különböző mértékű β -karotin kiegészítés hatására adott antigén indukált immunválasz reakciót, másrészt mélyalmon tartott tojóhibridekből kialakított kísérleti csoportokban a takarmányba adagolt természetes likopin forrás immunstátuszra gyakorolt hatását mértük meg kísérleti és iparszerű feltételek mellett. A japán fürj csoportokat természetes megvilágítás mellett, négyzetes tojóketrecekben helyeztük el, míg a tojóhibridek elhelyezése egy tojástermelésre szakosodott telephelyen történt. A takarmány és ivóvíz ellátás ad libitum történt, a tojásgyűjtés folyamatos volt. Vérvételt a négy hetes kísérlet elején és végén végeztünk.

Immunizálási protokoll

Fürjek esetében 25 μ g tyúk IgY/fürj (saját kionású antigén, Szabó és mtsai, 1998) Freund complet ill. az ismétlő oltásnál incomplet adjuvánssal. Az antigént a mellizomba több helyere fecskendeztük. Tojóhibridek esetében Nobilis Salenvac T vakcinát. (formalinnal előlt Salmonella enteritidis, S. typhimurium, Intervet Int. B.V.) 0,5 ml/állat p.o. adagban alkalmaztunk.

Takarmánykiegészítők:

A β -karotinos kísérletben:

- Kontroll csoport: Normál, a technológiában előírt A-vitamin tartalmú táp etetése



- BC csoport: Normál, a technológiában alkalmazott táp A-vitamin tartalmának retinol ekvivalens (RE)* mennyiségben β -karotinnal történő helyettesítése (10 kg tápban 1,8 g β -karotin).
- 2,5x BC csoport: Normál, a technológiában alkalmazott táp A-vitamin tartalmának retinol ekvivalens (RE)* mennyiségben β -karotinnal történő 2,5-szeres kiegészítése (10 kg tápban 4,5 g β -karotin).
- 5x BC csoport: Normál, a technológiában alkalmazott táp A-vitamin tartalmának retinol ekvivalens (RE)* mennyiségben β -karotinnal történő 5-szörös kiegészítése (10 kg tápban 9 g β -karotin).

A likopinos kísérletben:

- Kontroll csoport: sárgító mentes tojótakarmány
- Likopinos csoport: a tojótakarmányhoz kevertük a természetes eredetű paradicsom kivonatot (KÉKI, 2007)

Analízisek:

- A vér ellenanyagtartalmának mérése (ELISA és HAG módszerekkel)
- A tojás ellenanyagtartalmának mérése ELISA módszerrel
- A tojássárgája színének elbírálása (YCF – DSM, ill. objektív színmérés – Sheen készülékkel, karotinoid analízis – HPLC módszerrel).
- A tojás és vérminták karotinoid profiljának (HPLC) és lipid összetételének (TG, koleszterin) meghatározása.

Eredmények és értékelés

A β -karotinos kísérletben az egyes takarmányozási csoportok közötti különbségek egyértelműen mutatkoznak. A IgY-analízisek alapján megállapítottuk, hogy a legerőteljesebb immunválasz a BC csoportban volt tapasztalható, ahol A-vitaminnal egyenértékű β -karotint fogyasztottak az állatok. Ettől kisebb mértékű immunválasz tapasztalható a 2,5x BC_csoportban, ahol a β -karotin kiegészítés 2,5-szeres volt. Még kisebb volt az ellenanyagszint a kontroll csoportban, a normál takarmányozás mellett, valamint a legkisebb az 5x BC csoport ellenanyagszintje volt, ahol a β -karotin 5-szöröse volt az A-vitaminnal egyenértékű provitaminnak. Az 5-szörös β -karotin kiegészítés a szérumban lecsökkentette az ellenanyagszintet a többi csoporthoz képest, míg a tojásban ezt kifejezetten megemelte.



A likopinos kísérletünkben is kialakultak a takarmányozási csoportok közötti különbségek az immunizálást követően. A szérumban mért, és nagyobb immunválaszt jelző össz-IgY titer a likopint fogyasztó csoportban szignifikánsan mérhető volt. A tojássárgájából kimutatott IgY szintekben az első két hétben nem volt egyértelmű különbség, azonban a kezelés későbbi időszakában mért IgY titerekben már szignifikáns növekedés mutatkozott a kontroll csoporthoz képest.

Az immunmoduláns karotinoidok hatásmechanizmusának egyes részletei még nem teljesen tisztázottak, de annyi bizonyosnak látszik, hogy a sejt ciklikus nukleotidjaira (cAMP, cGMP) hatnak. A paradicsomtermékek és melléktermékek felhasználása, amely hazai körülmények között takarmányozási szempontból legnagyobb likopin forrás lehet, csökkenti a limfocita DNS-ének károsító hatásokkal szembeni érzékenységét (Riso és mtsai, 1999).

A likopin bevitele növeli a vérszérum és ugyanakkor a limfociták likopin koncentrációját is. A limfocitákban megemelkedett antioxidáns így csökkenti a sejtek DNS-ének sérüléseit, ami az aktivitásuk megemelkedéséhez vezet (Heber és Yi Lu, 2002). A vér likopin szintjének megemelkedését mi is regisztráltuk, így az előbbi gondolatsorba illeszthetők a tyúkokban ill. fürjekben nyert eredményeink is.

Következtetések és javaslatok

A fertőző betegségekkel szembeni immunitás természetes úton való kialakulása, a takarmány összetevők helyes koncentrációinak megválasztása, illetve annak vakcinázással, mesterséges úton történő támogatása, a kialakuló immunstátuszt eredményezi. Ez különösen jelentős a baromfitartásban és tenyésztésben, ahol esetenként extrém méretű populációk koncentrálnak. Ilyen körülmények között az immunrendszer működésének zavara, csökkenő és/vagy időben megnyúló válaszreakciói akár nagyarányú mortalitást, jelentős termelés kiesést ezzel hatalmas gazdasági veszteséget is okozhat. A kísérletünkben vizsgált karotinoidok bizonyítottan hozzájárulnak a megfelelő immunstátusz kialakításához. Az antigénekre adott humorális immunválasz fürjekben és tojókban egyértelműen mérhető volt. A takarmányozásbeli különbségek pedig mind a β -karotin, mind a likopin javára kimutathatók voltak.

Irodalomjegyzék

Ágota G. (2000): β -karotin felszívódásának, transzportjának és tojásba épülésének vizsgálata, különös tekintettel a koleszterin anyagforgalommal való kölcsönhatására, Gödöllő.



- Bendich, A.* (1992): The role of carotenoids in the immune response. *Voeding*, 53. 191-194.
- Bendich, A.* (1988): The safety of β -carotene, *Nutr. Cancer*, 11. 207-214.
- Biard, C., Surai, P.F., Möller, A.P.* (2007): An analysis of pre-andpost hatching maternal effect mediated by carotenoids in blue tit. *J. Evol. Biol.*, 1. 326-339.
- Britton, G.* (1995): Structure and properties of carotenoids in relation to function, *FASEB J.*, 9. 1551-1558.
- Chew, B.P.* (1996): Importance of Antioxidant Vitamin in Immunity and Health in Animals, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 59. 103-114.
- Coridan, B.M., Donoghue, M.O., Hughes, D.A., Morrissey, P.A.* (2001): Low-dose supplementation with lycopene or beta-carotene does not enhance cell mediated immunity in healthy free-living elderly humans. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 55. 627-635.
- Dhur, A., Galan, P. and Herberg, S.* (1991): Vitamin A deficiency and immunity. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 11. 1-19.
- Griffin, H.D.* (1992): Manipulation of egg yolk cholesterol: A physiologist's view. *World Poultry Sci.*, 48. 101-112.
- Heber, D., Lu, Q.* (2002): Overview of Mechanisms of Action of Lycopene *Exp. Biol. Med.*, 227. 920-923.
- Kiss Zs., Bárdos L., Szabó Cs., Lengyel L., Szabó M.* (2003): Effect of Carotene Supplementation on Plasma and Yolk IgY Levels Induced by NDV Vaccination in Japanese Quail, *Int. J. Nutr. Res.*, 73. 4. 285-289.
- Leslie, G., Clem, L.W.* (1969): Cit.: *Losonczy S., Batke J.* (1997): Madarak tojásszék eredetű, specifikus immunglobulinjainak felhasználása az állatorvosi immundiagnosztikában és immunterápiában. *Magy. Állatorv. Lapja*, 119. 339-343.
- Lippman, S.M., Meyskens, E.L.* (1988): Vitamin A derivatives in the prevention and treatment of human cancer. *J. Am. Clin. Nutr.*, 7. 269-284.
- Merrill, A.H., Jr., Foltz, A.T. and McCormick, D.B.* (1991): Vitamins and cancer. In: *Cancer and Nutrition* (Eds Alfin-Slater, R.B. and Kritchevsky, D.), Plenum, New York, 261-320.
- Porrini, M., Riso, P.* (2000): Women after a Short period of Tomato consumption. *J. Nutr.*, 130. 189-192.
- Riso, P., Pinder, A., Santangelo, A., Porrini M.* (1999): Does tomato consumption effectively increase of lymphocyte DNA to oxidative damage? *Am. J. Nutr.*, 69. 712-718.
- Shapiro, P.E., Edelson, R.L.* (1985): Effect of retinoids on the immune systems. In: *Retinoids: New Trends in Research and Therapy* (Ed. Saurat, J.), Karger, Basel, 225-235.
- Sies, H.* (1990): Carotinoide. *Deutsches Ärzteblatt-Ärztliche Mitteilungen*, 87. 5.



- Szabó Cs., Bárdos L.(2003): A retinoid ellátottság és az immunválasz közötti összefüggés vizsgálata japán fűrjben, EU Konform Mezőgazdaság és Élelmiszerbiztonság, SZIE, Gödöllő.
- Szabó Cs., Bárdos L., Losonczy S., Karchesz K. (1998): Immunglobulin (IgY) kivonása és tisztítása tyúk és fűrjtojásból MTA-Áo.tud. Biz. Akadémiai Beszámolók – Élettan, Biokémia, Kórélettan, 25. 5. 4.
- Szabó M, Bárdos L. (2003): Tojástermelés ellenanyagtermelés céljából. Baromfi, 3. 54-56.
- Watson, R.R., Rybski, J.A. (1988): Immunological response modification by vitamin A and other retinoids. In: Nutrition and Immunology, Alan Liss, New York, 87-99.
- West, C.E., Rombout, J.H.W.M., Van Der Zijpp, A.J. and S.R. (1991): Proc. Nutr. Soc., 50. 251-262.