



education organization research

**POLSKI ODDZIAŁ ŚWIATOWEGO STOWARZYSZENIA WIEDZY
DROBIARSKIEJ
THE POLISH BRANCH OF WORLD'S POULTRY SCIENCE ASSOCIATION**

**XXIX MIĘDZYNARODOWE SYMPOZJUM DROBIARSKIE PB WPSA
„Nauka praktyce – praktyka nauce”**

**XXIX INTERNATIONAL POULTRY SCIENCE SYMPOSIUM PB WPSA
“Science to Practice – Practice to Science”**

PROGRAM PROGRAMME

**18 – 20. 09. 2017 r.
Tarnowo Podgórne, Poland**

Ocena zmian epigenetycznych u indyków otrzymujących w diecie różne formy i dawki manganu

E. Cholewińska¹, K. Ognik¹, Jan Jankowski², Krzysztof Kozłowski²

¹Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Katedra Biochemii i Toksykologii, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

²Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Drobiarstwa, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

SŁOWA KLUCZOWE: indyki, mangan, metylacja DNA, 8-hydroksodeoksyguanozyna

WSTĘP

Mangan jest mikroelementem wchodzącym w skład enzymu dysmutazy ponadtlenkowej. Izoforma Mn-SOD występująca w mitochondrium stanowi pierwszą barierę chroniącą DNA przed oksydacyjnym działaniem reaktywnych form tlenu. Jedną z najczęściej analizowanych oksydacyjnie zmodyfikowanych zasad azotowych DNA o właściwościach mutagennych jest 8-hydroksydeoksyguanozyna (8-OHdG). Jest też możliwe, że zwiększony poziom 8-OHdG może mieć związek ze zmienionym wzorem metylacji DNA i w ten sposób indukować reakcje nowotworzenia. Celem badań było ustalenie czy forma i dawka manganu zastosowana w diecie indyków ma wpływ na hamowanie procesu oksydacji i metylacji DNA.

MATERIAŁ I METODY

Jednodniowe indyczki Hybrid Converter w liczbie 1080 przydzielono po 18 osobników do 60 kójców. Doświadczenie prowadzono na 6 grupach w 10 powtórzeniach, w układzie dwuczynnikowym z 3 dawkami manganu (10, 50 i 100 mg/kg) oraz 2 źródłami – manganu tlenkiem manganu (MnO) i nanocząstkami manganu (NP-Mn₂O₃). W 98 dniu życia pobrano krew od 8 sztuk z każdej grupy w celu oznaczenia wskaźników świadczących o zmianach epigenetycznych. Globalną metylację DNA oznaczono metodą ELISA przy użyciu zestawów diagnostycznych firmy Qiagen i Sigma-Aldrich. 8-hydroksydeoksyguanozynę (8-OHdG) oznaczono metodą ELISA przy użyciu zestawów diagnostycznych firmy Cell Biolabs Inc.

WYNIKI I DYSKUSJA

W stosunku do grupy z najmniejszym dodatkiem Mn (10 mg/kg), zastosowanie dawki (100 i 50 mg/kg) pokrywającej w 100 lub 50% zapotrzebowanie indyków na ten pierwiastek, zmniejszyło ($P=0,001$) procent metylacji cytozyny w DNA. We krwi indyków z grupy Mn - 10 mg/kg stwierdzono wyższą ($P<0,001$) zawartość 8-OHdG w odniesieniu do indyków z grup Mn - 50 mg/kg i Mn - 100 mg/kg. Zmniejszenie dawki Mn w diecie indyków spowodowało liniowe zwiększanie zawartości 8-OHdG we krwi, opisane wysoko istotnym równaniem regresji ($R^2 = 0.965$). Nie odnotowano różnic w oksydacji guanozyny i metylacji cytozyny DNA w przypadku zastosowania różnych form Mn w diecie indyków.

WNIOSKI

Stwierdzono, że dawka Mn zastosowana w ilości 50 mg/kg w diecie indyków równie skutecznie jak dawka 100 mg/kg zabezpiecza DNA przed procesem metylacji. Jednakże zmniejszenie dawki Mn osłabia hamowanie procesu oksydacji DNA.

Badania były wykonane w ramach programu Biostrateg "GUTFEED - innovative nutrition in sustainable poultry production" (No. 267659/7/NCBR/2015).

Evaluation of epigenetic changes in turkeys receiving different forms and doses of manganese in the diet

E. Cholewińska¹, K. Ognik¹, Jan Jankowski², Krzysztof Kozłowski²

¹*University of Life Sciences in Lublin, Faculty of Biology, Animal Breeding and Bioeconomy, Department of Biochemistry and Toxicology, Akademicka 13, 20-950 Lublin, Poland*

²*University of Warmia and Mazury, Faculty of Animal Bioengineering, Department of Poultry Science, Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, Poland*

KEY WORDS: turkey, manganese, DNA methylation, 8-hydroxyguanosine

INTRODUCTION

Manganese is a trace element included in the enzyme superoxide dismutase. The mitochondrial Mn-SOD isoform is the first barrier to protect DNA from the oxidative action of reactive oxygen species. One of the most studied of mutagenic oxidatively-modified DNA nucleobases is an 8-hydroxyguanosine (8-OHdG). It is also possible that an increased level of 8-OHdG may be related to the altered DNA methylation pattern and thereby induce tumorigenic reactions. The aim of the study was to determine whether the form and the dose of manganese used in the diet of turkey has an effect on the inhibition of the oxidative process and DNA methylation.

MATERIAL AND METHODS

A total of 1080 one-day-old Hybrid Converter female turkeys were randomly placed in 60 pens with 18 birds per pen. Turkeys were divided into 6 groups with 10 replicates per group, in a two-factorial design with 3 dietary inclusion levels of Mn (10, 50 and 100 mg/kg) and 2 dietary sources of MnO – manganese oxide and Mn₂O₃ nanoparticles. At 98 days of age, blood samples were collected from 8 birds per group to determine the concentration indicators of epigenetic changes. Global DNA methylation was determined using ELISA tests produced by Qiagen i Sigma-Aldrich. 8-hydroxyguanosine (8-OHdG) was determined using ELISA test produced by Cell Biolabs Inc.

RESULTS AND DISCUSSION

Compared to the group with the smallest addition of Mn (10 mg/kg), using dose 100 and 50 mg/kg of Mn covering 100 or 50% of turkey demand for this element, decreased ($P = 0.001$) percent of cytosine methylation in DNA. In the blood of Mn-10 mg/kg turkeys, a higher ($P < 0.001$) content of 8-OHdG was observed compared to Mn-50 mg/kg and Mn-100 mg/kg turkeys. Reduction of Mn dose in the turkey diet resulted in a linear increase in the 8-OHdG content in the blood, as described by the highly significant regression equation ($R^2 = 0.965$). There were no differences in the oxidation of guanosine and cytosine DNA methylation in the case of application of different forms of Mn in diet turkeys.

CONCLUSIONS

It was found that the dose of Mn 50 mg/kg used in turkey diet as effective as the 100 mg/kg dose protects the DNA from methylation. However, reducing the dose of Mn weakens the inhibition of DNA oxidation.

The study was conducted of the Biostrateg program entitled “GUTFEED - innovative nutrition in sustainable poultry production” (No. 267659/7/NCBR/2015).