

基础医学

早期限饲对肉鸡脂质过氧化和抗氧化酶活性长期影响*

庄君英, 夏东, 杨晓静, 许雪萍, 倪迎冬, 李晓, 赵茹茜

Long-term effect of early feed restriction on lipid peroxidation and enzymatic antioxidant activity in broiler chicken

Abstract

AIM: To investigate the long-term effect of early post-hatch feed restriction (EFR, food provided every other day during first 2 weeks after hatching) on the lipid peroxidation and enzymatic antioxidant activity in broiler chicken, compare with the effect of late feed restriction (LFR, performed 2 weeks before slaughtering), and observe the changes of the concentrations of malonaldehyde (MDA), activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) in plasma, liver, pectoral and gastrocnemius muscle.

METHODS: The experiment was conducted at Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, State Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University from April to December in 2005. Experimental grouping: Totally 100 healthy chicken of one-day old were selected and randomly assigned into two groups: control group ($n=60$) and EFR group ($n=40$). Controlled chicken were fed to 50-day old, and 20 of them were selected as LFR group. Experimental management: EFR group: Feed restriction was performed every other day during first 2 weeks, followed by free feeding. LFR group: Free feeding at days 1-49 and feed restriction at days 50-63 were combined. Control group: Free feeding was managed only. Experimental evaluation: Body weight was recorded every week. At days 14 and 63, the concentrations of MDA, activities of SOD and GPX in plasma, liver and muscle were measured.

RESULTS: All 100 animals were involved in the result analysis. No significant changes were found for all the indices at 14 days of age between EFR group and control group. At 63 days of age, EFR chicken exhibited significantly higher serum MDA concentration and GPX activity compared with the control counterparts ($P < 0.05$), significantly lower liver SOD activity ($P < 0.05$). LFR chicken also showed significantly higher serum MDA concentration as well as SOD and GPX activities at 63 days of age, but significantly lower liver MDA concentration and pectoral muscle SOD activity compared with the control counterparts ($P < 0.05$). No change was observed in gastrocnemius muscle ($P < 0.05$). Compared with EFR group, serum GPX and SOD activities were increased, but liver MDA concentration was decreased in LFR group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Both EFR and LFR can increase lipid peroxidation and enzymatic antioxidant activity systematically in broiler chicken of 63 days old. EFR exerts long-term effect on lipid peroxidation and enzymatic antioxidant activity.

Zhuang JY, Xia D, Yang XJ, Xu XP, Ni YD, Li X, Zhao RQ. Long-term effect of early feed restriction on lipid peroxidation and enzymatic antioxidant activity in broiler chicken. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu 2007;11(38):7573-7576(China) [www.zglckf.com/zglckf/ejournal/upfiles/07-38/38k-7573(ps).pdf]

摘要

目的: 观察早期限饲(出雏后两周隔天饲喂)对肉鸡脂质过氧化作用和抗氧化酶活性产生的长期影响, 并通过与后期限饲(屠宰前两周隔天饲喂)比较, 观察不同阶段限饲对肉鸡血清、肝脏、胸肌、腓肠肌丙二醛浓度、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响。

方法: 实验主要于 2005-04/12 在南京农业大学农业部动物生理生化重点开放实验室完成。实验分组: 选取 1 日龄健康快三黄商品肉鸡 100 羽随机分为 2 组, 对照组 60 羽, 早期限饲组 40 羽。饲养至 50 日龄, 从对照组随机选取 20 羽作为后期限饲组。实验处理: 早期限饲组, 1~14 日龄进行隔日限饲, 以后自由采食。后期限饲组, 1~49 日龄自由采食, 50~63 日龄进行隔日限饲。对照组, 全程自由采食。实验评估: 记录每周体重, 检测 14 日龄对照组、早期限饲组, 63 日龄对照组、早期限饲组和后期限饲组血清、肝脏、胸肌、腓肠肌丙二醛浓度、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性。

结果: 100 羽实验动物均进入结果分析。14 日龄早期限饲组肉鸡血清、肝脏、胸肌和腓肠肌丙二醛浓度、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性与对照组相比差异无显著性。63 日龄时早期限饲组血清丙二醛浓度和谷胱甘肽过氧化物酶活性均显著高于对照组($P < 0.05$), 肝脏超氧化物歧化酶活性显著低于对照组($P < 0.05$); 后期限饲组血清丙二醛浓度以及超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性均显著高于对照组($P < 0.05$), 而肝脏丙二醛浓度、胸肌超氧化物歧化酶活性显著低于对照组($P < 0.05$), 腓肠肌各项指标与对照组相比差异无显著性。后期限饲组血清谷胱甘肽过氧化物酶活性显著高于早期限饲组($P < 0.05$)。后期限饲组肝脏丙二醛浓度显著低于早期限饲组, 超氧化物歧化酶活性显著高于早期限饲组($P < 0.05$)。

结论: 早期及后期限饲均能增强 63 日龄肉鸡体内整体水平脂质过氧化作用和抗氧化酶活性, 早期限饲对肉鸡脂质过氧化作用和血清抗氧化酶活性的即时影响表现不明显, 但其影响可以持续到后期。

关键词: 限饲; 鸡; 脂质过氧化; 抗氧化酶活性

庄君英, 夏东, 杨晓静, 许雪萍, 倪迎冬, 李晓, 赵茹茜. 早期限饲对肉鸡脂质过氧化和抗氧化酶活性长期影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(38):7573-7576 [www.zglckf.com/zglckf/ejournal/upfiles/07-38/38k-7573(ps).pdf]

Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, State Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China

Zhuang Jun-ying, Studying for master's degree, Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, State Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China junying_zhuang@yahoo.com.cn

Correspondence to: Zhao Ru-qian, Doctor, Professor, Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, State Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu Province, China lapb@njau.edu.cn

Supported by: the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program), No. 2004CB117505*

Received: 2006-12-05
Accepted: 2007-03-02

南京农业大学农业部动物生理生化重点开放实验室,江苏省南京市 210095

庄君英,女,1981年生,江苏省江阴市人,汉族,南京农业大学在读硕士,主要从事动物生长调控方向方面的研究。junying_zhuang@yahoo.com.cn

通讯作者:赵茹茜,博士,教授,南京农业大学农业部动物生理生化重点开放实验室,江苏省南京市 210095
lapb@njau.edu.cn

国家重点基础研究发展计划项目“973”资助(2004CB117505)*

中图分类号:R392
文献标识码:B
文章编号:1673-8225(2007)38-07573-04

收稿日期:2006-12-05
修回日期:2007-03-02
(06-50-12-8774/M·Y)

课题背景:课题是国家基础研究发展计划项目“畜禽肉品质性状形成的营养代谢与调控机理”的子课题五“母体效应及新生期营养对畜禽胴体品质的影响及其机制”中一部分,主要是应用现代生物学研究手段,研究母体营养与早期发育环境对鸡摄食、生长、能量平衡、胴体和肉质形状的影响,并深入研究代谢程序化作用的信号传导途径,寻找生物调控的关键靶点。

0 引言

生命早期是一个关键时期,机体通过细胞、分子水平的适应能够对不利于发育的环境条件做出反应。这种对刺激的早期适应将持续改变机体的生理和代谢。近年来,对“营养程序化”^[1]作用的研究多集中在动物生长和人类代谢病发病机制上^[2-4],对机体的抗氧化系统是否也受营养的“程序化”调控方面的研究报道较少。机体的抗氧化系统与健康密切相关,生产者通过添加抗氧化剂来提高机体的抗氧化水平^[5-10],因此这方面的研究有着潜在的重要意义。

近年来,国内外许多学者在肉鸡生产中采用限饲来提高饲料转化率、改变肉鸡的胴体组成、减少代谢病的发病率、降低生长周期较长的肉种鸡的生长速度^[11-13]。限饲对机体氧化状态的影响主要集中在不同的限饲持续时间和限饲强度对抗氧化酶活性的即时影响^[14,15],出雏后早期限饲对肉鸡脂质过氧化和抗氧化酶活性的长期影响研究不多。

本实验采用隔日限饲法(即一天禁食一天自由采食),观察出雏后2周和屠宰前2周限饲对肉鸡脂质过氧化作用和抗氧化酶活性的影响,并探讨这种作用是否存在“程序化”效应,即早期限饲对肉鸡脂质过氧化作用和抗氧化酶活性的长期影响。

1 材料和方法

设计:随机对照观察实验。

单位:南京农业大学农业部动物生理生化重点开放实验室。

材料:实验主要于2005-04/12在南京农业大学农业部动物生理生化重点开放实验室完成。选取1日龄健康快三黄商品肉鸡100羽(由太仓温氏有限公司提供)。丙二醛、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

设计、实施、评估者:实验设计为第七作者,第一、二、三、四、五作者参与实验实施。

方法:1日龄健康快三黄商品肉鸡100羽随机分为2组,对照组60羽,早期限饲组40羽。饲养至50日龄,从对照组随机选取20羽作为后期限饲组。1~28日龄笼养,28日龄转

群,29~63日龄平养。按常规温度饲养,1~7日龄舍温控制在35℃左右,8~14日龄控制在30℃左右,以后逐渐降至24℃并保持至试验结束。

试验处理:早期限饲组,1~14日龄进行隔日限饲,以后自由采食。后期限饲组,1~49日龄自由采食,50~63日龄进行隔日限饲。

对照组,全程自由采食。整个试验期间自由饮水,日常光照,饲料均采用商品颗粒料。按照肉鸡常规免疫程序对鸡群免疫。试验至63日龄结束。记录每周体质量,14日龄对照组、早期限饲组($n=20$)、63日龄对照组、早期限饲组和后期限饲组($n=20$),最终每组选取10只进行各项指标测定。屠宰采血;鸡断颈处死后取肝脏、一侧胸浅肌和腓肠肌外侧头,液氮速冻后于-70℃保存。

检测指标:丙二醛采用硫代巴比妥酸法测定;总超氧化物歧化酶活性的测定应用黄嘌呤氧化酶法;谷胱甘肽过氧化物酶活力采用测定还原性谷胱甘肽法。

主要观察指标:丙二醛水平、总超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活性。

统计学分析:由第一作者采用SPSS 11.1进行统计分析,结果以平均数 \pm 标准误($\bar{x} \pm SE$)表示,差异显著性采用单因素方差分析,用LSD法确定同组间不同日龄或同一日龄不同组间差异显著性。 $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义, $P < 0.01$ 表示差异有非常显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 1日龄健康快三黄商品肉鸡100羽全部进入结果分析,中途无缺失。

2.2 限饲对肉鸡体质量的影响 如图1所示,早期限饲组整个试验阶段体质量均极显著低于对照组($P < 0.01$)。后期限饲组在限饲一周后(第8周)体质量显著低于对照组($P < 0.05$),至63日龄时体质量差异不显著。

2.3 限饲对肉鸡血清丙二醛浓度、总超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响 14日龄时对照组和早期限饲组之间血清丙二醛水平、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性差异无显著性,但到63日龄时,早期限饲组血清丙二醛浓度和谷胱甘肽过氧化物酶活性显著高于对照组($P < 0.05$),后期限饲组

血清丙二醛浓度以及超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。后期限饲组血清谷胱甘肽过氧化物酶活性显著高于早期限饲组 ($P < 0.05$) (见表 1)。

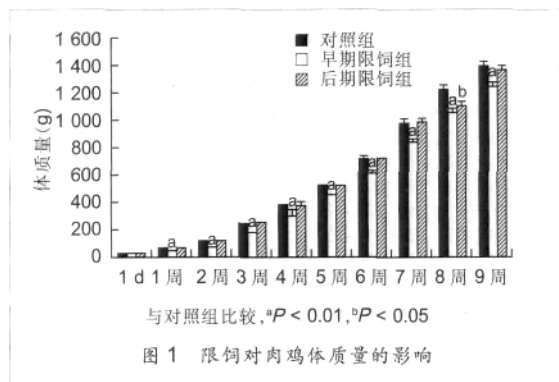


表 1 限饲对肉鸡血清丙二醛浓度、总超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响 ($\bar{x} \pm SE, n=10$)

日龄	组别	丙二醛 ($\mu\text{mol/L}$)	总超氧化物 歧化酶 ($\mu\text{kat/L}$)	谷胱甘肽 过氧化物酶 (mkat/L)
14 日龄	对照组	4.58 \pm 0.59	1 838.78 \pm 58.23	15.37 \pm 1.94
	早期限饲组	4.46 \pm 0.49	2 224.65 \pm 40.44	16.18 \pm 1.59
63 日龄	对照组	3.12 \pm 0.21	3 613.73 \pm 71.65	30.69 \pm 2.70
	早期限饲组	4.29 \pm 0.33 ^a	3 823.32 \pm 52.12	39.10 \pm 2.16 ^a
	后期限饲组	3.78 \pm 0.29 ^a	4 224.39 \pm 73.62 ^a	48.10 \pm 2.14 ^{ab}

与 63 日龄对照组比较, $^aP < 0.05$, 与 63 日龄早期限饲组比较, $^bP < 0.05$

2.4 限饲对肉鸡肝脏丙二醛浓度、总超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响

14 日龄时对照组和早期限饲组之间肝脏丙二醛水平、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性均没有显著差异,但到 63 日龄时,早期限饲组肝脏超氧化物歧化酶活性显著低于对照组 ($P < 0.05$),后期限饲组肝脏丙二醛浓度显著低于对照组,超氧化物歧化酶活性显著高于早期限饲组 ($P < 0.05$) (见表 2)。

表 2 限饲对肉鸡肝脏丙二醛浓度、总超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响 ($\bar{x} \pm SE, n=10$)

日龄	组别	丙二醛 (mmol/g)	总超氧化物 歧化酶 ($\mu\text{kat/g}$)	谷胱甘肽 过氧化物酶 ($\mu\text{kat/g}$)
14 日龄	对照组	2.22 \pm 0.30	7 834.9 \pm 24.16	100.85 \pm 1.17
	早期限饲组	1.66 \pm 0.26	6 898.21 \pm 537.77	121.02 \pm 0.67
63 日龄	对照组	1.98 \pm 0.21	6 488.80 \pm 229.21	98.85 \pm 7.00
	早期限饲组	1.48 \pm 0.22	5 345.07 \pm 272.89 ^a	107.69 \pm 7.17
	后期限饲组	0.62 \pm 0.14 ^{ab}	6 389.44 \pm 442.26 ^b	115.19 \pm 4.50

与 63 日龄对照组比较, $^aP < 0.05$, 与 63 日龄早期限饲组比较, $^bP < 0.05$

2.5 限饲对肉鸡胸肌、腓肠肌丙二醛浓度、总超氧化物歧化酶活性的影响 对照组和早期

限饲组胸肌丙二醛水平和超氧化物歧化酶活性在 14 日龄和 63 日龄差异无显著性。后期限饲组胸肌超氧化物歧化酶活性与对照组和早期限饲组相比显著下降 ($P < 0.05$),而丙二醛水平差异不显著 (表 3)。63 日龄腓肠肌丙二醛水平和超氧化物歧化酶活性在三个组之间差异均不显著 (表 4)。

表 3 限饲对肉鸡胸肌丙二醛浓度、总超氧化物歧化酶活性的影响 ($\bar{x} \pm SE, n=10$)

日龄	组别	丙二醛 (mmol/g)	总超氧化物歧化酶 (mkat/g)
14 日龄	对照组	1.01 \pm 0.09	622.47 \pm 34.17
	早期限饲组	0.78 \pm 0.11	618.79 \pm 35.67
63 日龄	对照组	0.58 \pm 0.07	791.66 \pm 42.68
	早期限饲组	0.48 \pm 0.04	827.00 \pm 43.34
	后期限饲组	0.68 \pm 0.14	544.78 \pm 52.70 ^a

与 63 日龄对照组比较, $^aP < 0.05$

表 4 限饲对 63 日龄肉鸡腓肠肌丙二醛浓度、总超氧化物歧化酶活性的影响 ($\bar{x} \pm SE, n=10$)

日龄	组别	丙二醛 (mmol/g)	总超氧化物歧化酶 (mkat/g)
63 日龄	对照组	1.32 \pm 0.08	872.51 \pm 92.35
	早期限饲组	1.66 \pm 0.26	831.33 \pm 89.52
	后期限饲组	1.66 \pm 0.13	949.52 \pm 57.84

与 63 日龄对照组比较, $^aP < 0.05$

3 讨论

在本实验中早期限饲引起营养缺乏导致肉鸡的体质量降低,这种影响一直持续到上市日龄 (63 d),与以往实验^[16, 17]得到的结果相吻合;后期限饲在第 1 周同样降低了肉鸡的体质量,但 63 日龄体质量与正常饲喂肉鸡体质量已没有显著差异。这些结果表明早期限饲后的补偿生长并没有赶上对照组,而后期限饲的补偿生长已赶上对照组。

超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶是动物机体的主要抗氧化酶,它们的含量和活性影响机体内的活性氧自由基水平以及脂质过氧化终末代谢产物丙二醛含量。研究表明,限饲对机体氧化状态的影响可能是双向的:一方面通过限制营养成分和能量的摄入,造成机体代谢发生异常,机体储存的脂肪、蛋白等被大量利用,产生大量氧自由基,从而容易发生氧化应激;另一方面,限饲降低了动物的生长速度和体质量,使得动物基础代谢率降低,缓解了机体代谢性缺氧的状态,显著降低了脂质过氧化^[15]。

相关链接:近年来,国内外许多学者在肉鸡生产中采用限饲来提高饲料转化率,改变肉鸡的胴体组成、减少代谢病的发病率、降低生长周期较长的肉种鸡的生长速度。机体的抗氧化系统与健康密切相关,生产者通过添加抗氧化剂来提高机体的抗氧化水平,而限饲对机体氧化状态的影响主要集中在不同的限饲持续时间和限饲强度对抗氧化酶活性的即时影响。因此这方面的研究有着潜在的重要意义。

应用要点:实验表明限饲可以增强抗氧化酶活性,但对脂质过氧化作用和抗氧化酶活性后期限饲表现比早期限饲明显,推测可能由于早期机体的抗氧化系统正处于发育过程,母源性非特异性抗氧化物如维生素 E、C 等较多,使超氧化物歧化酶对早期限饲反应较“迟钝”,因此,早期限饲即时影响不大,但其影响可以持续到后期。而后期限饲可以直接影响机体的组织蛋白,使得机体有氧化代谢能力加强,抗氧化系统代偿性增高。

1~14日龄隔日限饲降低了肉鸡基础代谢率,缓解了机体代谢性缺氧的状态,提高了血清超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性,但由于机体加强了对脂肪和蛋白的利用,有氧代谢能力加强,血清丙二醛水平反而升高。这表明限饲虽然增强了肉鸡体内抗氧化酶的活性,在一定程度上减少氧自由基的产生,减轻了肉鸡体内的脂质过氧化作用,但并没有扭转限饲导致的机体加强对脂肪和蛋白的利用,导致总体上脂质过氧化作用的增强。此外,本实验还发现63日龄限饲对肉鸡血清抗氧化酶活性的影响表现得比14日龄明显,且后期限饲比早期限饲影响要大。

早期限饲组63日龄肝脏超氧化物歧化酶活性显著低于对照组,肝脏是禽类脂代谢最主要的器官,超氧化物歧化酶活性降低,在一定意义上可以降低胰岛素受体的敏感性^[18],使脂肪代谢向分解方向进行,以达到机体需要。

早期限饲与后期限饲都是同样限饲的方式和持续时间,只是限饲日龄不同,但对脂质过氧化作用和抗氧化酶活性后期限饲表现比早期限饲明显,推测可能由于早期机体的抗氧化系统正处于发育过程,母源性非特异性抗氧化物如维生素E、C等较多,使超氧化物歧化酶对早期限饲反应较“迟钝”,因此,早期限饲即时影响不大,但其影响可以持续到后期。而后期限饲可以直接影响机体的组织蛋白,使得机体有氧代谢能力加强,抗氧化系统代偿性增高。

本实验表明限饲可以增强抗氧化酶活性,早期限饲对肉鸡脂质过氧化作用和血清抗氧化酶活性的即时影响表现不明显,但其影响可以持续到后期,既存在“程序化”的作用。有研究表明,早期限饲可引起血清中生长轴相关激素及甲状腺激素含量的变化^[19-21]。因此推测某些与生长或代谢相关的调节系统,如生长轴与甲状腺轴,可能参与了早期限饲影响机体氧化还原状态这一过程,而其具体作用机制是否与肌纤维类型或者与肌肉所含不饱和脂肪酸成分的变化有关,尚待进一步的研究。

4 参考文献

- 1 Lucas A. Programming by early nutrition: an experimental approach. *J Nutr* 1998;128(2 Suppl):401S-406S
- 2 Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002;82(1):47-95
- 3 Bardon S, Benelli C, Bernard-Gallon D, et al. Dietary fatty acids and cancer: potential cellular and molecular mechanisms. *Bull Cancer* 2005; 92(7):697-707
- 4 Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, et al. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 2004;52:794-804
- 5 梁培育,李浩勇,许海波,等.黄芪拮抗镉诱导的大鼠脂质过氧化作用[J].中国公共卫生,2004,20(2):189-190
- 6 王桂云,郭新民,黄芪对衰老小鼠一氧化氮、自由基及细胞凋亡的影响[J].牡丹江医学院学报,2004,25(4):14-15
- 7 耿爱莲,李保明,房于明,等.辅酶Q10对腹水症敏感肉鸡肝线粒体功能及抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2006,18(2):86-92
- 8 杨宏斌,温洁,温伟业.党参复方制剂对蛋鸡抗氧化作用及生产性能的影响[J].山西农业科学,2006,34(2):66-69
- 9 文贵辉,张彬.微量元素硒在动物中研究与应用[J].中国饲料,2004,11(1):9-11
- 10 袁缨,黄艳玲.饲料硒、锗对肉仔鸡体内抗氧化功能的影响[J].营养学报,2004,26(1):74-76
- 11 Balog JM, Anthony NB, Cooper MA, et al. Ascites syndrome and related pathologies in feed restricted broilers raised in a hypobaric chamber. *Poult Sci* 2000;79(3):318-323
- 12 Acar N, Sizemore FG, Leach GR, et al. Growth of broiler chickens in response to feed restriction regimens to reduce ascites. *Poult Sci* 1995; 74(5):833-843
- 13 McGovern RH, Feddes JJ, Robinson FE, et al. Growth performance, carcass characteristics, and the incidence of ascites in broilers in response to feed restriction and litter oiling. *Poult Sci* 1999;78(4):522-528
- 14 Pascual P, Pedrajas JR, Toribio F, et al. Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). *Chem Biol Interact* 2003;145(2):191-199
- 15 Pan JQ, Tan X, Li JC, et al. Effects of early feed restriction and cold temperature on lipid peroxidation, pulmonary vascular remodelling and ascites morbidity in broilers under normal and cold temperature. *Br Poult Sci* 2005;46(3):374-381
- 16 Zubair AK, Leeson S. Changes in body composition and adipocyte cellularity of male broilers subjected to varying degrees of early-life feed restriction. *Poult Sci* 1996;75(6):719-728
- 17 Lippens M, Room G, De Groote G, et al. Early and temporary quantitative food restriction of broiler chickens. 1. Effects on performance characteristics, mortality and meat quality. *Br Poult Sci* 2000;41(3):343-354
- 18 Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002;82(1):47-95
- 19 Dewil E, Darras VM, Spencer GS, et al. The regulation of GH-dependent hormones and enzymes after feed restriction in dwarf and control chickens. *Life Sci* 1999;64(16):1359-1371
- 20 Kuhn ER, Herremans M, Dewil E, et al. Thyrotropin-releasing hormone (TRH) is not thyrotropic but somatotropic in fed and starved adult chickens. *Reprod Nutr Dev* 1991;31(4):431-439
- 21 Morishita D, Sasaki K, Wakita M, et al. Effect of fasting on serum insulin-like growth factor-I (IGF-I) levels and IGF-I-binding activity in cockerels. *J Endocrinol* 1993;139(3):363-370