تأثير الجرع دون السامة للسيلينيوم على الإجهاد التأكسدي في فروج اللحم

إنتصار عبدالهادي داؤد* الآء حسين علي
قطاع خاص كلية الطب البيطري / جامعة الموصل
*E-mail: Dr.entesar84@yahoo.com

الخلاصة

شملت الدراسة التحري عن تأثير الجرع دون السامة للسيلينيوم "السيلينيت" على الإجهاد التأكسدي في فروج اللحم عن طريق قياس مستوى جذر البيروكسي نيتريت السالب - ONOO في المصل وحساب مستوى الكلوتاثايون في نسيج الكبد والكلية حيث أستخدم 200 فرخ بعمر يوم واحد نوع روز Rose قسمت عشوائياً إلى أربعة مجاميع أعطيت المجموعة الأولى السيلينيوم "صوديوم سيلينيت" بمقدار الإحتياج الطبيعي والمجموعة الثانية أعطيت 0.02 ملغم سيلينيوم/كغم من العليقة والتي تمثل 30% من الجرعة المميتة الوسطية LD50 أما المجموعة الثالثة فقد أعطيت 0.04 ملغم سيلينيوم/ كغم من العليقة وهذا يمثل 60% من الجرعة المميتة الوسطية LD50 وكانت المجموعة الرابعة مجموعة سيطرة. وتم جمع عينات المصل وعينات الكبد والكلية في الأيام (14,24,34,44) يوم بعد التجريع.أشارت النتائج إلى حدوث إرتفاع معنوي في مستوى جذر البيروكسي نيتريت في أمصال أفراخ المجاميع المعاملة بالسيلينيوم وإنخفاض معنوي في مستوى الكلوتاثايون وكان هذا الإنخفاض متناسب طردياً مع زيادة الجرعة المعطاة من السيلينيوم وزيادة فترة الإعطاء حيث كان أعلى إنخفاض معنوي سجل في المجموعة المعاملة بجرعة 0.04 ملغم /كغم بعد مرور 24 يوماً من الإعطاء. وأستنتج من هذا البحث بأن إعطاء السيلينيوم للدجاج بجرعات عالية ولفترة زمنية طويلة يشجع حدوث الإجهاد التأكسدي.

كلمات مفتاحية : الإجهاد التأكسدي , السيلينيوم .

المقدمة

يعتبر السيلينيوم من أهم المعادن النادرة Trace minerals التي لايستطيع الجسم تصنيعها بل إنه يحصل عليها من الغذاء(1) وهو ضروري في النظام الغذائي للإنسان والحيوان(4,3,2) وتكون حاجة الجسم إليه بكميات ضئيلة لأداء وظائفه الحيوية (8,7,6,5).تختلف حاجة الحيوانات للسيلينيوم تبعاً لإختلاف انواعها وعلى مدى توفر معادن اخرى في اعلافها حيث يقدر الإحتياج الطبيعي من السيلينيوم في الدجاج 0.3 - 0.15 جزء بالمليون (10,9) أما في الخيول 0.10 ملغم/كغم من العلف وللأغنام 0.2 ملغم/كغم من العلف وفي أبقار الحلوب 0.3 ملغم/كغم من العلف وأبقار اللحم 0.2 ملغم/كغم من العلف.على الرغم من ان حاجة الجسم للسيلينيوم تكون ضئيلة لأداء وظائفه الحيوية إلا ان زيادته عن الحد الطبيعي يؤدي إلى ظهور أعراض وحالات تسمم (12, 11) وتعتمد شدة التسمم بالسيلينيوم او مركباته على الشكل الكيمياوي (13) والقابلية على الذوبان حيث ان الأشكال العضوية والغيرعضوية لها قابلية على الذوبان أكثر من السيلينيد والسيلينيوم كعنصر(12) وكذلك تعتمد على نوع وعمرالحيوان (14) وفترة التعرض (15) كما أن تواجد عناصر اخرى يزيد من احتمالية حدوث التسمم (18,17,16) إضافة إلى أن لطريقة إعطاء السلينيوم دورا هاما في احداث التسمم حيث ان إعطاءه عن طريق الحقن يكون اكثر سمية (19) لذا أصبح التعامل معه بشكل حذر لقلة الحد الفاصل بين المستوى الآمن والمستوى السمي (21,20) وأعتمد الشكل العضوي السيلينوميثيونين SeMet في الإضافات العلفية كونه أكثر إمتصاصاً وتراكماً في أنسجة جسم الحيوان من الشكل غير العضوي (23,22,17).لا توجد بيانات دقيقة توضح آلية حدوث التسمم بالسيلينيوم ولكن تشير البحوث إلى أن السبب ربمايعود إلى إستنزاف الكلوتاثايون وال"S-adenosyl methionine"مما يحديد مستوى الفاعلية الأنزيمية للكلوتاثايون (19) أوقد يرجع السبب إلى تفاعل السيلينيوم مع الثايول لإنتاج جذر السوبر أوكسايد (O_2^-) والذي بدوره يسبب أذى الخلية (25,24). ونظراً لأهمية السيلينيوم في النظام الغذائي والإضافات العلفية للدجاج (11) ولقلة الدراسات على التسمم بالسيلينيوم في الدجاج كانت هذه الدراسة التي تهدف الى دراسة الإجهاد التأكسدي الناتج عن التسمم بالسيلينيوم من خلال قياس جذر البيروكسي نيتريت في مصل الأفراخ وتقدير مستوى الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلية في الأفراخ بعد تجريعها السيلينيوم بجرع دون السامة.

المواد وطرائق العمل

أفراخ التجربة:

أستخدم في التجربة (200) فرخ فروج اللحم عرق روز Rose بعمر يوم واحد تم الحصول عليها من مفقس شركة الأمين في منطقة الشلالات في محافظة نينوى.

2- تقدير جذر البيروكسي نيتريت في مصل الدم :Estimation of Peroxynitrite radical in the serum

تم تقدير جذر البيروكسي نيتريت في مصل الدم المأخوذ من الأفراخ المقتولة في الأيام

(44,34,24,14) بالاعتماد على الطريقة المحورة المستخدمة من الباحث Vanuffelen وجماعته (1998) التي تتضمن نيترة Nitration الفينول من جذر بيروكسي نيتريت -ONOO وتكوين نايتروفينول الذي يمتص عند طول موجي قدره 412 نانوميتر.

إن كمية النايتروفينول المتكونة في مصل الدم تعكس مستوى تركيز جذر البيروكسي نيتريت المتول في المصل.

3- تقدير مستوى الكلوتاثايون في الأنسجة Determination glutathione level of tissue:

تم تقديرتركيز الكلوتاثايون في أنسجة الكبد والكلى بإستخدام الطريقة المتبعة من قبل (Moron *et al.*, 1979) .

تصميم التجربة:

أجريت التجربة في بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري- جامعة الموصل "تربية أرضية" حيث قسمت الأفراخ عشوائيا بواقع أربعة مجاميع وتضمنت كل مجموعة (50) فرخآ.

- عوملت المجموعة الأولى بمادة سيلينيت الصوديوم وبمقدار الإحتياج الطبيعي (0.3 ملغم/كغم) من وزن العليقة.
- وعوملت المجموعة الثانية بمادة سيلينيت الصوديوم بمقدار(0.02 ملغم/كغم) من العليقة وهذا المقدار يمثل (30%) من الجرعة المميتة الوسطية LD50 الذي تم الحصول عليه بإستخدام طريقة الصعود والنزول up and down المتبعة من قبل دكسون Dixon (1980) .
- أما المجموعة الثالثة فقد عوملت بمادة سيلينيت الصوديوم وبمقدار(0.04ملغم/كغم) من العليقة وهذا يمثل (60%) من الجرعة المميتة الوسطية حيث تم إذابة سيلينيت الصوديوم في حجم من الماء إعتمادآ على وزن كل فرخ في المجموعة وتجريعها للأفراخ يوميآ منذعمر يوم واحد وحتى عمر 44 يومآ.
- في حين عدت المجموعة الرابعة مجموعة سيطرة وتم تقديم الماء العادي (ماء الحنفية الاعتيادي) والعلف الخالي من مادة سيلينيت الصوديوم لهذه المجموعة طيلة فترة التجربة.

تم جمع عينات المصل بعد قتل الأفراخ في الأيام (44,34,24,14) حيث تم وضع عينات الدم بأنابيب اختبار زجاجية نظيفة ومعقمة وتم فصل المصل بعد ذلك حفظ بالتجميد تحت درجة حرارة(-20) مْ لحين إجراء الاختبارات كما تم جمع عينات من الكبد والكلية وحفظت في المحلول الملحي الفسلجي Phosphate Buffered Saline (PBS) (%0.9). وحفظت بالتجميد تحت درجة حرارة (-20) مْ لحين إستخدامها في إختبار تحديد مستوى الكلوتاثايون في الأنسجة.

النتائج

جدول رقم (1) يوضح مستوى جذرالبيروكسي نيتريت في مصل افراخ المجاميع المعاملة (مايكرومول /لتر)

الأيام / المجاميع	14	24	34	44
مجموعة السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	3.34 ± 0.37 b C	3.61 ± 0.58 a C	3.00 ± 0.32 b B	2.85 ± 0.18 a C
مجموعة الإحتياج الطبيعي 0.3 ملغم/كغم من العليقة	4.23 ± 0.40 c BC	6.11 ± 0.31 b B	6.66 ± 0.37 a B	5.85 ± 0.26 a B
مجموعة 0.02ملغم سيلينيوم/كغم عليقة	5.03 ± 0.35 d B	6.62 ± 0.71 c B	15.46 ± 0.44 b A	17.36 ± 0.36 a A
مجموعة 0.04 ملغم سيلينيوم/كغم عليقة	6.54 ± 0.36 b A	18.77 ± 0.46 a A	——	——

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي.

عدد الأفراخ ثمانية أفراخ في كل مجموعة.

الإشارة —— تعني نفوق الأفراخ في المجموعة الثالثة للأيام 34و44 على التوالي.

الأحرف الكبيرة المختلفة عمودياً تعني فرق معنوي بين المجاميع لليوم الواحد عند مستوى معنوية ($P<0.05$).

الأحرف الصغيرة المختلفة أفقياً تعني فرق معنوي في الأيام للمجموعة الواحدة عند مستوى معنوية ($P<0.05$).

الجدول رقم (2) يوضح مستوى الكلوتاثايون في نسيج الكبد للأفراخ المعاملة بسيلينيت الصوديوم(غم /نسيج رطب)

الأيام / المجاميع	14	24	34	44
مجموعة السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	0.033 ± 0.028 a A	0.33 ± 0.027 b A	0.033 ± 0.027 bc A	0.033 ± 0.028 a A
مجموعة الإحتياج الطبيعي 0.3 ملغم/كغم من العليقة	0.029 ± 0.025 a A	0.027 ± 0.023 b AB	0.027 ± 0.023 a AB	0.029 ± 0.024 b B
مجموعة 0.02ملغم سيلينيوم/كغم عليقة	0.026 ± 0.022 a B	0.026 ± 0.021 a B	0.024 ± 0.020 b B	0.025 ± 0.024 b C
مجموعة 0.04 ملغم سيلينيوم/كغم عليقة	0.035 ± 0.029 a BC	0.023 ± 0.020 b BC	———	———

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي.
عدد الأفراخ ثمانية أفراخ في كل مجموعة.
الإشارة ——— تعني نفوق الأفراخ في المجموعة الثالثة للأيام 34و44 على التوالي.
الأحرف الكبيرة المختلفة عمودياً تعني فرق معنوي بين المجاميع لليوم الواحد عند مستوى معنوية ($P<0.05$).
الأحرف الصغيرة المختلفة أفقياً تعني فرق معنوي في الأيام للمجموعة الواحدة عند مستوى معنوية ($P<0.05$).

الجدول رقم (3) يوضح مستوى الكلوتاثايون في نسيج الكلية للأفراخ المعاملة بسيلينيت الصوديوم (غم /نسيج رطب)

الأيام / المجاميع	14	24	34	44
مجموعة السيطرة العليقة القياسية+ماء اعتيادي	0.033 ± 0.028 a A	0.031 ± 0.025 b A	0.030 ± 0.025 c A	0.029 ± 0.025 a A
مجموعة الإحتياج الطبيعي 0.3 ملغم/كغم من العليقة	0.028 ± 0.024 a AB	0.029 ± 0.025 a b A	0.028 ± 0.023 b B	0.029 ± 0.24 ba B
مجموعة 0.02ملغم سيلينيوم/كغم عليقة	0.029 ± 0.025 a B	0.027 ± 0.024 ab B	0.025 ± 0.020 b C	0.022 ± 0.023 b C
مجموعة 0.04 ملغم سيلينيوم/كغم عليقة	0.029 ± 0.019 a B	0.021 ± 0.024 b C	———	———

القيم معبر عنها بالمعدل ± الخطأ القياسي.
عدد الأفراخ ثمانية أفراخ في كل مجموعة.
الإشارة ——— تعني نفوق الأفراخ في المجموعة الثالثة للأيام 34و44 على التوالي.
الأحرف الكبيرة المختلفة عمودياً تعني فرق معنوي بين المجاميع لليوم الواحد عند مستوى معنوية ($P<0.05$).
الأحرف الصغيرة المختلفة أفقياً تعني فرق معنوي في الأيام للمجموعة الواحدة عند مستوى معنوية ($P<0.05$).

المناقشة

أوضحت الدراسة وجود الإرتفاع المعنوي في مستوى جذر البيروكسي نيتريت في أمصال كافة أفراخ المجاميع المعاملة بالسيلينيوم "صوديوم سيلينيت" مقارنة مع مجموعة السيطرة وفي جميع الفترات (14 و24 و34 و44) يوماً وتباينت شدتها مع مقدار الجرعة المعطاة من مادة الصوديوم سيلينيت Na_2SeO_3 وطول فترة الإعطاء حيث تناسبت طردياً مع زيادة الجرعة وزيادة فترة الإعطاء وقد يعود سبب هذا الإرتفاع في مستوى جذر البيروكسي نيتريت السالب -ONOO إلى أن تأثير إعطاء السيلينيوم لفترة

طويلة ينتج عنه توليد الجذور الحرة Free radicals (24). كما سجلت الدراسة إنخفاض معنوي في مستوى مضادات الأكسدة والمتمثلة بالكلوتاثايون في كل من نسيج الكبد والكلية وكان هذا الإنخفاض متناسب طردياً مع زيادة الجرعة المعطاة من السيلينيوم وزيادة فترة الإعطاء حيث كان أعلى إنخفاض معنوي سجل في المجموعة المعاملة بجرعة 0.04 ملغم /كغم بعد مرور 24 يوماً من الإعطاء وتختلف هذه النتيجة مع ماذكره (27,24) بأن زيادة إعطاء السيلينيوم تؤدي إلى إرتفاع مستوى الكلوتاثايون في نسيج الكبد في حين تتفق مع ماذكر من قبل (28,26). ويعزى إنخفاض مستوى الكلوتاثايون إلى ميكانيكية تأثير السيلينيوم في إختزال الكلوتاثايون (29) حيث أن تفاعل الشكل الغيرعضوي للسيلينيوم مع مركبات الثايول يؤدي إلى إختزال الكلوتاثايون وتكوين مركب Seleno-diglutathione والذي بدوره يعيق وظيفة أنزيم الكلوتاثايون بيروكسيديز في التخلص من بيروكسيد الهيدروجين وحماية الخلايا الحية من أذى الجذور الحرة (24).

المصادر

1- Schrauzer, G. N. 2000. Nutritional selenium supplements: Product types, quality,and safety. *Journal of the American College of Nutrition*, 20:1-4

2- Rayman MP. The importance of selenium to human health. Lancet 2000;356:233–41.

3- Rayman MP. The argument for increasing selenium intake. Proc Nutr Soc 2002;61:203–15

4- Edens, F. W., and Gowdy, K. M. 2005. Involvement of the thioredoxin reductase system in the maintenance of cellular redox status. In: *Nutritional Biotechnology in the Food and Feed Industry*. Proc. Alltech's 20th Ann Symposium. T. P. Lyons, T. P., and Jacques, K. A., eds. Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp 369-382.

5- Tietz, N.V. (1999). Textbook of clinical chemistry. Saunders, W.B. Co. Philadelphia., 2 : 1047-1049

6- Hamilton,S.J.,2004.Review of Selenium toxicity in the aquatic food chain. Science of the Total Enviroment, 326: 1-31.

7- NRC (National Research Council),2005. Selenium: mineral tolerance of animals. Washington, D.C.: National Academy Press, pp:328.

8- Abdel – Tawwab,M.,M.A.A.Mousa and fayza E. Abbass,2007. Growth performance and physiological respose of African catfish, Clarias gariepinus (B.) Fed organic Selenium prior to the exposure to environmental Copper toxicity. Aquaculture, 272: 335-345.

9- National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.*

10- AAFCO. (2003). *Official Publication. Association of American Feed Control Officials Incorporated, Olympia, WA.*

11- Surai P.F. (2002): Selenium in poultry nutrition. 1. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. Worlds Poult.Sci. J., 58, 333–347

12- Synder,J.L.R.(2009), Genomic Analysis of the Influence of Selenium Sources in Broiler Chickens Challenged with an Enteric Avian Reovirus., A thesis submitted to the Graduate Faculty of North Carolina State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science

13- Hoffman, D.J., Heinz, G.H., LeCaptain, L.J., Eisemann, J.D., Pendleton, G.W., 1996. Toxicity and oxidative stress of different forms of organic selenium and dietary protein in mallard ducklings. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 31,120–127.

14- Raisbeck, M. F., 2000. Selenosis. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 16:465-480.
15- Kim, Y. Y., and D. C. Mahan. 2001. Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing-finishing pigs. J Anim Sci 79: 942-948.
16- Choct, M., Naylor, A.J. & Reinke, N., 2004. Selenium supplementation affects broiler growth performance, meat yield and feather coverage. Br. Poult. Sci. 45, 677-683.
17- Payne, R. L. and Southern, L. L. (2005).*Comparison of inorganic and organic selenium sources for broilers. Poult. Sci. 84:898–902.*
18- Petrovič V., Boldižárová K., Faix Š., Mellen M., Arpášová H., Leng Ľ., 2006. Antioxidant and selenium status of laying hens fed with diets supplement with selenite or Se-yeast. J. Anim. Feed Sci. 15, 435-445
19- Spallholz, J. E., and D. J. Hoffman. 2002. Selenium toxicity: Cause and effects in aquatic birds. Aquat Toxicol 57: 27-37.
20- Lin, Y.H. and S.Y.Shiau, 2005. Dietary Selenium requirements of juvenile grouper Epinephelus malabaricus. Aquaculture, 250: 356-363.
21- Jordan, F., Pattison, M., Alexander, D., and Faragher, T., (2008).Poultry disease. 6th ed., Nutritional disorders, P: 533.
22- Edens FW, Gowdy KYM. Selenium sources and selenoproteins in pratical poultry production. Proceedings of 20th Alltech´s Annual Symposium; 2004; Lexington, KY. p.35.
23- Utterback, P. L., C. M. Parson, I. Yoon and J. Butler. 2005. Effect of supplementing selenium yeast in diets of laying hens on egg selenium content. Poult. Sci. 84:1900-1901.
24- K. BALOGH, Mária WEBER, Márta ERDÉLYI and M. MÉZES,2004.Department of Nutrition, Szent István University, H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1, Hungary
25- Wycherly, J. B., M. A. Moak, M. J. Christensen (2004): High dietary intake of sodium selenite induces oxidative DNA damage in rat liver. Nutr. Cancer 1, 78-83.
26- Caffrey, P. B. and Frenkel, G. D. (1991): Selenite cytotoxicity in drug resistant and nonresistant human ovarian tumor cells. Cancer Res. 52, 4812–4816.
27- Kuchan, M. J. and Milner, J. A. (1991): Influence of intracellular glutathione on selenite-mediated growth inhibition of canine mammary cells. Cancer Lett. 57, 181–186.
28- Yan, L., Yee, J. A., Boylan, L. M. and Spallholz, J. E. (1991): Effect of selenium compounds and thiols on human mammary tumor cells. Biol. Trace Elem. Res. 30, 145–162.
29- Ganther, H. E. (1986): Pathways of selenium metabolism including respiratory excretory products.J. Am. Coll. Toxicol. 5, 1–5.

Effect of Subtoxic Doses of Selenium on The Oxidative Stress In Broiler Chickens

E.A.Dawood
*Private sector
A.H.Ali
Coll. of Vet. Med./Unive. of Mosul
*E-mail: Dr.entesar84@yahoo.com

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of subtoxic doses of selenium "Selenate" on the oxidative stress in broiler chickens by determining the level of Peroxynitrite radical ONOO- in serum and glutathione in liver and kidney tissue.Two hundred one day old broiler chicks type Rose have been used . The birds were divided randomally into 4 groups. The first group was fed the normal requirement 0.3mg/kg of diet. The second group was fed 0.02 mg/kg of diet and this represented 30% of the median lethal dose LD50.The third one was fed 0.04 mg/kg of diet and this represented 60% of the median lethal dose LD50.The last group served as control.Results of this study indicated the presence of significant increase of ONOO- in the serum and also signifigant decrease in the level of glutathione in both liver and kidney tissues .The variation of these criteria was proportional synergestically with the amount fed and the length of exposure .The lowest figures were in the 3rd group fed 0.04 mg/ kg of diet, 24 days after oral administration. From results of this study it was concluded that high doses of selenium for long period of time induce an increase in oxidative stress.