Streszczenie

Wpływ seleninotriglicerydów na status zdrowotny i ekspresję wybranych genów kodujących enzymy uczestniczące w procesach antyoksydacyjnych u małych przeżuwaczy.

Słowa kluczowe: seleninotriglicerydy, jagnięta, koźlęta, SOD, GPX, ekspresja genów

Niedobór selenu stanowi wciąż aktualny problem zarówno w hodowlach owiec jak i kóz. Przyczynia się do powstawania zaburzeń układu immunologicznego, rozrodczego jaki i chorób, m.in. pokarmowej dystrofii mięśni. Dotyka ona głównie młodych zwierząt, w wieku 2-6 tygodni życia. Profilaktyka niedoboru tego pierwiastka obecnie opiera się na jego suplementacji preparatami iniekcyjnymi lub doustnymi, zawierającymi w składzie selen w postaci nieorganicznej lub organicznej. Formą organiczną selenu, która może być podawana zwierzętom w postaci doustnej są seleninotriglicerydy. Charakteryzują się one niską toksycznością, wysokim stopniem biodostępności oraz wchłaniania z przewodu pokarmowego.

Badania przeprowadzono na 12 jagniętach rasy kamienieckiej i 12 koźlętach rasy alpejskiej w wieku 10 dni. Zwierzęta podzielono na 2 grupy: kontrolną i doświadczalną. Grupa doświadczalna przez pierwsze 7 dni eksperymentu, była suplementowana doustnie roztworem seleninotriglicerydów w dawce 0,5 mg substancji czynnej na kg masy ciała badanego zwierzęcia. Następnie od wszystkich zwierząt pobrana została krew w 0 (przed podaniem roztworu seleninotriglicerydów grupie doświadczalnej), 1, 7, 14, 21 i 30 dniu doświadczenia. W 30 dniu doświadczenia jagnięta i koźlęta obu grup zostały poddane eutanazji w celu pobrania od nich próbek mięśni najdłuższego grzbietu, dwugłowego uda, mięśnia sercowego i wątroby.

W zakresie parametrów hematologicznych oznaczano poziom hemoglobiny, liczbę hematokrytową, liczbę krwinek czerwonych i białych oraz obliczono wskaźniki czerwonokrwinkowe (MCV, MCH i MCHC). Oznaczono także stężenie glukozy (GLUC), albumin (Alb), białka całkowitego (TP), kreatyniny (Crea), mocznika (Urea), aminotransferazy asparaginianowej (AST), fosfatazy zasadowej (ALP), gamma-glutamylotranspeptydazy (GGT) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy. U wszystkich zwierząt grupy kontrolnej i doświadczalnej oznaczono w surowicy stężenie selenu (Se). Ponadto zbadana została aktywność enzymatyczna peroksydazy glutationowej (GPX) oraz dysmutazy ponadtlenkowej (SOD). Pobrane próby tkanek mięśnia najdłuższego grzbietu (*m.longisimus dorsi*), mięśnia dwugłowego uda (*m. biceps femoris*) i mięśnia sercowego poddano analizie histopatologicznej

w barwieniu HE (metoda barwienia z hemotoksyliną – eozyną) oraz HBFP (metoda barwienia z fuksyną i kwasem pikrynowym). Pozyskane próbki mięśni dwugłowego uda, mięśnia sercowego jagniąt i koźląt oraz mięśnia najdłuższego grzbietu jagniąt poddano analizie genetycznej i oznaczono ekspresję mRNA wybranych genów kodujących enzymy, biorące udział w procesach antyoksydacyjnych u koźląt i jagniąt, tj. *GPX1, SOD1*.

W zakresie badań hematologicznych nie zauważono istotnych różnic w przypadku większości parametrów u koźląt i jagniąt suplementowanych seleninotriglicerydami, a grupą niesuplementowaną. Jedynymi wskaźnikami, które były istotnie wyższe ($p<0,05$) u grup doświadczalnych w porównaniu z kontrolnymi były: MCHC w 21 dniu doświadczenia u jagniąt i #LYMPH, MCV, MCH, HDW w 1. dniu u koźląt. Parametry biochemiczne badane w surowicy krwi zwierząt grup doświadczalnych i kontrolnych wykazały istotne różnice w zakresie aktywności AST u owcy kamienieckiej w 1. dniu doświadczenia, która była niższa w grupie doświadczalnej oraz GGT u koźląt, która była znacząco wyższa ($p<0,05$) w grupie kontrolnej w 7, 21 i 30 dniu. W 30 dniu doświadczenia wykazano również istotnie ($p<0,05$) wyższy wynik AST u koźląt.

Wyniki badań stężenia selenu w surowicy krwi u jagniąt i koźląt wykazały, że suplementacja roztworem seleninotriglicerydów powoduje istotny ($p<0,05$) wzrost stężenia selenu w 1, 7, 14, 21 i 30 dniu doświadczenia. Podobnie u koźląt suplementowanych seleninotriglicerydami zaobserwowano znacząco wyższe stężenie selenu w surowicy grupy doświadczalnej w porównaniu z grupą badaną ($p<0,05$) w 1, 7, 14, 21 i 30 dniu doświadczenia. Najwyższe stężenie selenu w grupie doświadczalnej zanotowano w 7 dniu doświadczenia zarówno w przypadku jagniąt, jak i koźląt.

Ponadto u koźląt zaobserwowano istotnie wyższą ($p<0,05$) aktywność GPX w 1, 7, 14, 21 i 30 dniu doświadczenia. Podobnie aktywność SOD była istotnie wyższa ($p<0,05$) w przypadku koźląt suplementowanych seleninotriglicerydami. Podobnie u jagniąt wykazano istotnie wyższą aktywność GPX i SOD po suplementacji seleninotriglicerydami. Badania poziomu selenu w surowicy koźląt i jagniąt wykazały istotnie wyższą ($p<0,05$) koncentrację tego pierwiastka w przypadku grup doświadczalnych.

Badaniem histopatologicznym, w barwieniu HE, tkanki mięśniowej mięśnia najdłuższego grzbietu (*m. longisimus dorsi*) oraz mięśnia dwugłowego uda (*m. biceps femoris*), w przypadku 4 z 6 koźląt grupy kontrolnej oraz 4 z 6 jagniąt grupy kontrolnej, wykazano

odcinkowe szkliwienie sarkoplazmy z zanikiem poprzecznego prążkowania. Nie zaobserwowano takich zmian w mięśniu sercowym, a także w żadnej z prób pobranych od zwierząt należących do grup doświadczalnych. Barwieniem HBFP u tych samych 4 koźląt i 4 jagniąt należących do grupy kontrolnej, stwierdzono zmiany charakteryzujące się rozległą martwicą całych włókien mięśniowych z rozpadem sarkoplazmy i zanikiem poprzecznego prążkowania oraz obecnością pobudzonych komórek miogenicznych i komórek fagocytarnych. Nie zaobserwowano takich zmian w grupach doświadczalnych ani w mięśniu sercowym. W 1 z 6 badanych jagniąt grupy kontrolnej oprócz odcinkowego szkliwienia z zanikiem poprzecznego prążkowania, w pojedynczych włóknach mięśniowych zaobserwowano także odcinkową martwicę włókien z rozpadem grudkowym sarkoplazmy i naciekiem makrofagów, limfocytów, pojedynczych eozynofilii, w próbkach mięśnia najdłuższego grzbietu jak i mięśnia dwugłowego uda.

Analiza ekspresji genu *GPX1* i *SOD1* nie wykazała istotnych różnic statystycznych między grupami. Po suplementacji seleninotriglicerydami zauważono nieznaczny wzrost ekspresji genu *GPX1* w przypadku mięśnia dwugłowego uda (*m.biceps femoris*) i wątroby u koźląt oraz podobny wzrost ekspresji genu *SOD1* w przypadku badanych fragmentów wątroby u koźląt, a także m. najdłuższego grzbietu (*m. longisimus dorsi)*, wątroby i mięśnia sercowego u jagniąt. W przypadku m. najdłuższego grzbietu, m. sercowego i wątroby u jagniąt, a także mięśnia sercowego u koźląt obserwowano nieznaczny spadek aktywności ekspresji genu *GPX1*. Podobnie spadek ekspresji genu *SOD1* zaobserwowano w przypadku mięśnia dwugłowego uda jagniąt i m. dwugłowego uda oraz serca u koźląt. W przypadku m. dwugłowego uda u jagniąt poziom ekspresji *GPX1* pozostawał na poziomie porównywalnym do grupy kontrolnej.