

تاثیر نانوذره سلنیم، سلنیم معدنی و آلفاتوکوفرول در فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، مقدار سلنیم خون و افزایش وزن بره‌های نر ماکویی شیرخوار

وحید شایقی^۱، علی‌قلی رامین^{۲*}، سیامک عصری رضائی^۲ و علی حسن زاده^۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲۲

^۱ دانش آموخته دکتری تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

^۲ به‌ترتیب استاد و دانشیار گروه بیماری‌های درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

^۳ استاد گروه نانوفناوری، دانشکده علوم دانشگاه ارومیه

* مسئول مکاتبه: Email : Ali_amin75@yahoo.com

چکیده

زمینه‌مقدماتی: سلنیم و آلفاتوکوفرول از آنتی‌اکسیدان‌های ضروری در سلامتی، رشد و تولید هستند. هدف: تاثیر مکمل‌های سلنیم و آلفاتوکوفرول در فعالیت گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، غلظت سلنیم خون و ارتباط آن‌ها با افزایش وزن. روش کار: تعداد ۳۲ بره نر ماکویی شیرخوار در ۸ گروه ۴ راسی شامل شاهد، نانوذره سلنیم خوراکی ($ONanoSe$)، آلفاتوکوفرول ($ONanoSe$)، سلنیت سدیم خوراکی ($ONaSe$)، آلفاتوکوفرول ($NaSe$) تزریقی/آلفاتوکوفرول تزریقی، سلنیت سدیم تزریقی ($INaSe$) و آلفاتوکوفرول تزریقی انتخاب شدند. بره‌ها در روزهای ۱، ۴، ۷، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ توزین و خون‌گیری شدند. نتایج: میانگین GPX از ۵۳/۸ به ۱۷۴/۶ gr/Hb و سلنیم خون از ۱۹۰ به ۲۸۱/۸ $nmol/l$ رسید. بالاترین میزان GPX و سلنیم به‌ترتیب در $ONanoSe$ و $ONanoSe/$ آلفاتوکوفرول در آزمایش ۹۰ و پائین‌ترین برای هر دو شاخص در آلفاتوکوفرول در روز ۴ بود. میانگین GPX و سلنیم در بره‌های با مکمل‌های سلنیم بیشتر از شاهد و آلفاتوکوفرول بوده و سیر صعودی داشتند. تفاوت شاخص‌ها در دفعات نمونه‌گیری و بین گروه‌ها بجز گروه کنترل معنی‌دار بود ($P < 0.01$). درصد افزایش وزن در $ONanoSe$ بیشترین و آلفاتوکوفرول کمترین بود. تغییرات افزایش وزن روزانه از ۱۷۶ تا ۲۱۸ گرم برای $ONanoSe$ و $NaSe/$ آلفاتوکوفرول بود. تفاوت وزن در بین گروه‌ها معنی‌دار نبود ولی زمان نمونه‌گیری معنی‌دار بود. افزایش وزن با GPX و سلنیم بجز در آلفاتوکوفرول/ $ONaSe$ رابطه معنی‌داری نداشت. بین GPX/Se ، $ONaSe$ ، $INaSe$ و $ONanoSe/$ آلفاتوکوفرول در ماه‌های ۲ و ۳ رابطه‌ی معنی‌داری بود. نتیجه‌گیری نهایی: مکمل‌های سلنیم خصوصاً $ONanoSe$ فعالیت GPX و سلنیم را بیشتر از آلفاتوکوفرول افزایش دادند. اگرچه افزایش وزن در $ONaSe$ بیشتر بود اما ارتباطی با مکمل‌های سلنیم نداشت. رابطه $GPX/$ سلنیم مثبت و معنی‌دار بود. نهایتاً عمل‌کرد $ONanoSe$ نسبت به $ONaSe$ در شاخص‌های GPX ، سلنیم و افزایش وزن بطور غیر معنی‌داری بیشتر بود، خصوصاً در افزایش GPX بهتر از نوع معدنی و آلفاتوکوفرول بود لذا پیشنهاد می‌شود به‌عنوان جایگزین مناسب در درمان کمبود سلنیم به‌کار رود.

واژگان کلیدی: نانوذره سلنیم، آلفا توکوفرول، بره، گلوکاتایون پراکسیداز، افزایش وزن

مقدمه

سلنیم و آلفاتوکوفرول از آنتی‌اکسیدان‌های موثر در افزایش وزن بره‌ها هستند (شی و همکاران ۲۰۰۹). آن‌ها آسیب‌های اکسیداسیونی از جمله پراکسیدهای غشاء و داخل سلولی را کاهش داده یا حذف می‌کنند (الشهات و عبدولموم ۲۰۱۱). بنابراین موجب دوام و کارایی بیشتر سلول‌ها می‌شوند (ملامبو ۲۰۰۳). سلنیم عمل بیولوژیکی مرتبط با آلفاتوکوفرول دارد، جزء اصلی گلوکاتیون پراکسیداز است و در حذف اکسیدهای مضر عمل می‌کند. ترکیبات آلی سلنیم همچون سلنوپروتئین‌ها سبب تقویت سیستم ایمنی و عصبی می‌شوند (حبیبیان و همکاران ۲۰۱۳). کمبود آن‌ها باعث تضعیف ایمنی (موریهد و همکاران ۲۰۱۰)، ایجاد بیماری (وایت و ریویل ۲۰۰۷) و کاهش رشد (ایکرن و همکاران ۲۰۱۲) می‌شود. از طرفی نیاز دام به آلفاتوکوفرول بر مبنای نیاز دام برای حذف اکسیداسیون غشای سلولی است (جوشی و همکاران ۲۰۱۳) و منجر به خنثی شدن استرس اکسیداتیو می‌شود. لذا ترکیب توام سلنیم و آلفاتوکوفرول سلول‌ها را از آسیب استرس اکسیداتیو محافظت خواهد کرد (سلیمان و همکاران ۲۰۱۲).

استرس اکسیداتیو به عدم تعادل سیستم اکسیدانی، آنتی‌اکسیدانی و نهایتاً پیشرفت سیستم اکسیدانی بدن اتلاق می‌گردد (نوری ۲۰۱۲). سلنیم بصورت گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) از آنتی‌اکسیدان‌های مهم آنزیمی و آلفاتوکوفرول در فرم غیر آنزیمی به منزله سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مسئول حذف گونه‌های اکسیژن فعال هستند. اگر فعالیت GPX و مقدار آلفاتوکوفرول کاهش یابد افزایش پراکسید هیدروژن منجر به آسیب مستقیم بافتی و فعال شدن فاکتورهای هسته‌ای با مسیر التهابی می‌شود. به همین منظور مکمل‌های آلی مانند سلنومیتونین (شی و همکاران ۲۰۰۹)، معدنی مانند سلنیت سدیم (شی و همکاران ۲۰۱۱) و مخمر سلنیم (زیوم و همکاران ۲۰۱۲) به صورت خوراکی و یا تزریقی (محمود و همکاران ۲۰۱۳) به‌تنهایی و یا همراه

با آلفاتوکوفرول در دام‌های نوزاد و در حال رشد (ویگنولا و همکاران ۲۰۰۷) اثرات مناسب و قابل قبولی را نشان داده‌اند ولی برای رسیدن به رشد مطلوب، افزایش وزن، پیشگیری و درمان منتج از کمبود آن‌ها تحقیق برای یافتن ترکیبات جدید، با کارایی مناسب‌تر و اقتصادی‌تر و با حداقل عوارض جانبی ادامه دارد تا به حداکثر بازده اقتصادی در رشد و افزایش وزن دام‌ها برسند (شی و همکاران ۲۰۱۱). ترکیبات گوناگون سلنیم مقادیر متفاوتی از شاخص‌های استرس اکسیداتیو را ایجاد می‌کنند. این مقادیر می‌توانند در سلامتی سلول-های دامی تاثیرگذار باشند (هوانگ و همکاران ۲۰۰۹). لذا جایگزین نمودن نانومینرال‌ها مانند نانوزره سلنیم می‌تواند پاسخی مطلوب در دام داشته باشد.

پائین بودن دز مصرفی، میزان کم سمیت نانوزره سلنیم و تاثیر آن در سلامتی و میزان رشد دام‌ها از محاسن نانوزره در مقایسه با اشکال آلی و معدنی سلنیم هستند (ژانگ و اسپالهلز ۲۰۱۱). نانوزره سلنیم سبب افزایش تخمیر شکمبه (لو و همکاران ۱۹۹۶)، بهبود هضم غذا (وانگ ۲۰۱۱) و افزایش فعالیت آنزیمی و هضمی می‌شود (شی و همکاران ۲۰۱۱). همچنین سبب تقویت شاخص‌های هماتولوژی (صادقیان و همکاران ۲۰۱۲) و بیوشیمیایی (ژانگ و اسپالهلز ۲۰۱۱) خون شده در افزایش فعالیت تولیدمثلی موثر (یانگ و همکاران ۲۰۰۹) باشند. در میزان رشد و کیفیت بافت‌ها (زیو و همکاران ۲۰۰۵) و افزایش فعالیت GPX بهتر از سلنیت سدیم است (ملامبو ۲۰۰۳). علیرغم اطلاعات غیرمنسجم فوق هنوز تحقیق جامع و فراگیری که بتواند به‌صورت منسجم و مقایسه‌ای از مکمل‌های متفاوت سلنیم و توام با آلفاتوکوفرول در اشکال خوراکی و تزریقی بر روی شاخص‌های خاصی مانند GPX و افزایش وزن در بره-های نر شیرخوار و مستعد به کمبود سلنیم موجود نیست. نتایج حاصل مناسب‌ترین راهکار بهره‌مندی از سلنیم و آلفاتوکوفرول را ارائه خواهد داد. اهداف این پژوهش شامل: ۱- مقایسه غلظت سلنیم خون و فعالیت

GPX در بره‌های شیرخوار تجویز شده با مکمل‌های سلنیم و آلفاتوکوفرول بشکل خوراکی و تزریقی. ۲- ارزیابی میزان افزایش وزن، درصد افزایش وزن و میزان رشد روزانه. ۳- تعیین ارتباط بین تجویز مکمل‌های سلنیم و آلفاتوکوفرول با میزان فعالیت GPX و افزایش وزن بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۲ بره نر ماکویی و شیرخوار تا ۲ ماه سن با میانگین وزن ۱۰/۷ کیلوگرم انتخاب شدند. بره‌ها به ۸ گروه ۴ راسی شامل گروه‌های شاهد، نانوذره سلنیم خوراکی، نانوذره سلنیم خوراکی/آلفاتوکوفرول تزریقی، سلنیت سدیم خوراکی، سلنیت سدیم تزریقی/آلفاتوکوفرول تزریقی، سلنیت سدیم تزریقی و آلفاتوکوفرول تزریقی تقسیم شدند. میانگین و انحراف معیار وزن مجموع بره‌ها در گروه‌های ۸ گانه به‌ترتیب $11/0 \pm 3/5$ ، $10/0 \pm 3/6$ ، $11/1 \pm 4/1$ ، $11/0 \pm 5/0$ ، $10/1 \pm 7/6$ ، $10/1 \pm 7/8$ ، $9/0 \pm 7/3$ و $11/2 \pm 7/1$ کیلوگرم بود. بره‌ها از می‌ش‌های مادر جدا نگه‌داری می‌شدند و هر روز دو وعده صبح و عصر جهت تغذیه با شیر مخلوط می‌شدند. دام‌ها از نظر علایم حیاتی و بالینی شامل درجه حرارت بدن، ضربان قلب و تعداد تنفس در روز اول جهت سالم بودن بررسی و ثبت شدند.

بره‌ها تا ۹۰ آزمایش و روزهای ۱، ۴، ۷، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ (۶ بار) توزین و خونگیری شدند. بره‌ها در روز اول آزمایش وزن کشی و خونگیری شدند. نانوذره آماده شده در اندازه ۳۶ نانومتر به سوسپانسیون تبدیل شد و توسط دستگاه سونی‌کیت (اولتراسونیک هموژنیکسر انگلستان) یک‌نواخت گردید. دز پیشنهادی نانوذره سلنیم ۰/۱ میلی‌گرم بازاء هر کیلوگرم وزن زنده دام است که بدون عوارض می‌باشد (شی و همکاران ۲۰۱۱). با محاسبه وزن زنده بره میزان نانوذره سلنیم و سلنیت سدیم به ۷ قسمت تقسیم و هر روز تا ۷ روز تجویز

شد. بره‌های گروه ۱ آب مقطر دریافت کردند. دز انواع سلنیم در گروه‌ها مقدار ۰/۱ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن و آلفاتوکوفرول ۸ میلی‌گرم بازاء کیلوگرم وزن بود. مقدار ۲ میلی‌لیتر خون از ورید وداج در لوله‌های حاوی هپارین (۲ میلی‌لیتر) و بدون هپارین (۳ میلی‌لیتر) جمع‌آوری شد. لوله حاوی ۳ میلی‌لیتر در سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده، سرم آن‌ها جدا و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد جهت انجام آزمایش‌های احتمالی بعدی تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. میزان وزن خالص، درصد افزایش وزن اولیه و افزایش وزن روزانه (گرم) تا ۹۰ روز بررسی شد. برای محاسبه درصد افزایش وزن ابتدا وزن نهایی را از وزن اولیه کم کرده، ماحصل را به عدد ۱۰۰ ضرب و به وزن اولیه تقسیم می‌کنند.

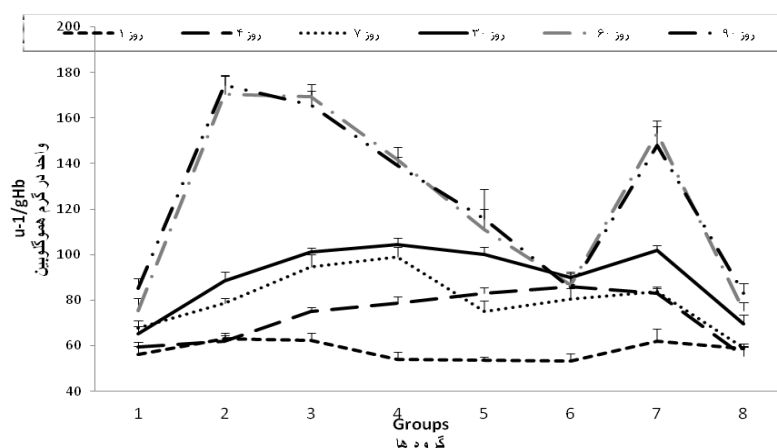
غلظت سلنیم خون به‌طریق جذب اتمی (شیماترو، AA6800، توکیو، ژاپن) بر حسب نانومول در لیتر خون و میزان فعالیت GPX خون با کیت تجارتي (GPX، بیورکس، انگلستان) در دستگاه اسپکتروفتومتری بر حسب واحد در گرم هموگلوبین خون تعیین شد. افزایش وزن بر حسب کیلوگرم و درصد افزایش وزن براساس وزن اولیه و افزایش وزن بر حسب گرم در روز محاسبه شد. میزان سلنیم شیر نیز همانند سلنیم خون از طریق جذب اتمی انجام پذیرفت. از نرم SPSS13 آزمون‌های Repeated measure ANOVA جهت مقایسه میانگین شاخص‌ها در گروه‌های ۸ گانه و براساس ۶ بار نمونه برداری (تاثیر زمان بر شاخص‌ها در گروه‌های ۸ گانه) استفاده شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان تفاوت معنی‌دار تلقی گردید. از آزمون ضریب همبستگی برای هر کدام از شاخص‌های تحت پژوهش در گروه‌های ۸ گانه به تفکیک و یا مرتبط باهم استفاده شد.

نتایج

براساس جدول ۱ میانگین فعالیت GPX در بین بره‌ها در قبل از تجویز مکمل‌های سلنیم و آلفاتوکوفرول ۵۳/۸

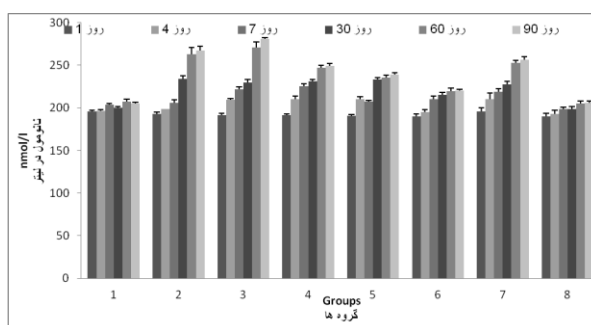
میانگین سلنیم خون بره‌ها از ۱۹۰ در قبل از تجویز مکمل‌های سلنیم و آلفاتوکوفرول به ۲۸۱/۱ نانومول در لیتر در ۹۰ روز رسید (جدول ۲). بالاترین میانگین سلنیم خون در نانوذره سلنیم خوراکی/ آلفاتوکوفرول و پائین‌ترین در گروه آلفاتوکوفرول بود. سلنیم خون در ۹۰ روز روند افزایشی داشته، به‌ترتیب در نانوذره سلنیم خوراکی/ آلفاتوکوفرول، نانوذره سلنیم خوراکی و سلنیت سدیم تزریقی، سلنیت سدیم خوراکی و سلنیت سدیم خوراکی/ آلفاتوکوفرول بود (شکل ۲).

بود که در ۹۰ آزمایش به ۱۷۴/۶ واحد در گرم هموگلوبین رسید. بالاترین فعالیت GPX در تمامی روزها در گروه نانوذره سلنیم خوراکی و پائین‌ترین آن در آلفاتوکوفرول بود. روند افزایش GPX به‌ترتیب در نانوذره سلنیم خوراکی/ آلفاتوکوفرول، سلنیت سدیم تزریقی و سلنیت سدیم خوراکی/ ویتامین E بود (شکل ۱). مقایسه میانگین GPX در بین گروه‌ها (ANOVA) پیام نمونه‌گیری (Repeated measure) تفاوت معنی‌داری ($P < 0.01$) را به‌جز روز اول نشان داد (جدول ۱).



شکل ۱- مقایسه فعالیت GPX خون در دفعات خونگیری متعاقب تجویز مکمل‌های سلنیم و ویتامین E در بین گروه‌ها

Fig 1- Comparison of blood GPX activity among groups and sampling times following administration of selenium components and α -tocopherol in lambs



شکل ۲- مقایسه غلظت سلنیم خون در طی ۶ بار نمونه‌گیری متعاقب تجویز مکمل‌های سلنیم و ویتامین E در گروه‌های ۸ گانه

Fig 2- Comparison of blood selenium concentration among groups and sampling times following administration of selenium components and α -tocopherol in lambs

جدول ۱- میانگین و خطای معیار تغییرات گلوتاتیون پراکسیداز^۱ خون در طی ۶ بار نمونه‌گیری در گروه‌های ۸ گانه در بره-های شیری (n=4)

Table 1- Mean comparison of blood glutathione peroxidase¹ activity among groups and sampling times in suckling lambs (n = 4)

گروه‌ها Groups	روز ۱ Day 1	روز ۴ Day 4	روز ۷ Day 7	روز ۳۰ Day 30	روز ۶۰ Day 60	روز ۹۰ Day 90	مقدار F F-value
شاهد Control	56.5±3.6 ^a	59.6±2.1	67.7±3.4	65.4±3.3	75.5±5.5	85.2±4.1	2.6
نانوسلنیم خوراکی Oral NanoSe	63.0±2.7 ^a	62.1±2.5 ^a	78.7±2.2 ^a	88.5±2.8 ^c	170.3±8.2 ^b	174.6±4.1 ^b	140.4 ^{**}
VitE نانوسلنیم خوراکی/ Oral NanoSe/VitE	62.4±3.2 ^a	75.1±1.7 ^a	94.6±5.4 ^b	101.2±1.6 ^b	169.3±5.5 ^c	165.9±6.8 ^c	104.5 ^{**}
سلنیت سدیم خوراکی Oral NaSe	54.0±3.4 ^a	78.8±2.6 ^a	99.0±4.5 ^b	104.5±.9 ^b	141.9±5.3 ^c	129.3±3.4 ^c	81.0 ^{**}
VitE سلنیت سدیم خوراکی/ Oral NaSe/VitE	53.8±1.2 ^a	83.2±2.4 ^a	75.2±4.5 ^b	100.1±3.3 ^a	111.0±8.9 ^c	115.6±3.1 ^d	11.4 ^{**}
تزریقی VitE سلنیت سدیم/ Inject NaSe/VitE	52.2±3.4 ^a	60.8±1.1 ^a	80.5±4.6 ^b	89.8±2.7 ^c	86.6±5.2 ^b	85.1±4.8 ^b	15.1 ^{**}
سلنیت سدیم تزریقی Inject NaSe	62.0±5.5 ^a	82.2±2.7 ^a	83.9±1.2 ^a	101.9±2.0 ^b	153.4±5.5 ^c	148.1±8.1 ^c	61.0 ^{**}
ویتامین E VitE	58.7±1.1 ^a	55.4±4.2 ^a	59.1±1.8 ^a	69.5±4.0 ^b	75.5±3.5 ^b	83.1±4.2 ^c	28.2 ^{**}
مقدار F F-value	1.62	20.3 ^{**}	12.3 ^{**}	24.7 ^{**}	43.7 ^{**}	20.6 ^{**}	

¹ = گرم در واحد هموگلوبین حروف متفاوت در هر ستون معنی‌دار است. ^{**} = (P<0.01)

1= U/g/Hb

Different letters in each column were different ^{**} = P<0.01

مقایسه میانگین افزایش وزن خالص، درصد افزایش وزن اولیه و افزایش وزن روزانه در گروه‌ها (ANOVA) اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ولی برحسب نمونه-گیری (Repeated measure) معنی‌دار بودند (P<0.01). آنالیز همبستگی وجود رابطه مثبت و معنی‌داری بین درصد افزایش وزن با GPX در ۳ ماه پس از دریافت سلنیت سدیم خوراکی/آلفاتوکوفرول را نشان داد. هم-چنین بین وزن خالص و GPX در نانوسلنیم خوراکی رابطه مشاهده شد. بیشترین ارتباط بین GPX/Se در گروه‌های سلنیت سدیم خوراکی، تزریقی در روز اول پژوهش، سپس ماه دوم و سوم در سلنیت سدیم تزریقی و خوراکی و نانوسلنیم خوراکی به همراه آلفاتوکوفرول مشاهده شد. ارتباط قوی بین GPX/Se

مقایسه میانگین سلنیم در بین گروه‌ها (ANOVA) و ایام نمونه‌گیری (Repeated measure) تفاوت معنی‌داری (P<0.01) را نشان داد (جدول ۲). میانگین درصد افزایش وزن روزانه بره‌ها در گروه سلنیت سدیم خوراکی بیشترین (۱۸۹٪) و آلفاتوکوفرول (۱۵۵٪/۹) کمترین بود اما اختلاف موجود معنی‌دار نبود (جدول ۳). بیشترین و کمترین افزایش وزن به ترتیب ۱۹/۶ و ۱۶ کیلوگرم در سلنیت سدیم خوراکی/آلفاتوکوفرول و نانوسلنیم خوراکی بود که تفاوت هم-چنان معنی‌دار نبود. حداکثر و حداقل افزایش وزن روزانه بر حسب گرم به ترتیب ۲۱۸ گرم در سلنیت سدیم خوراکی/آلفاتوکوفرول و ۱۷۶ گرم در نانوذره سلنیم خوراکی بود که از نظر آماری معنی‌دار نبود.

پس از ادغام نمونه‌گیری‌ها ($n=24$) در تمام گروه‌ها مشاهده شد. سلنیم خون با شاخص‌های وزن ارتباطی نداشت

مجموع میانگین سلنیم شیر بره‌ها $22/77 \pm 0/79$ و دامنه آن $13/76-29/41$ میکروگرم در لیتر به ترتیب در شاهد و سلنیت سدیم خوراکی/آلفاتوکوفرول بود. مقایسه میانگین سلنیم شیر مصرفی بره‌ها (ANOVA) در ۸ گروه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. بین سلنیم شیر با GPX و سلنیم خون و شاخص‌های وزن ارتباطی مشاهده نشد.

جدول ۲- میانگین و خطای معیار سلنیم خون ۱ در طی ۶ بار نمونه‌گیری در گروه‌های ۸ گانه در بره‌های شیری ($n=4$)

Table 2- Mean comparison of blood selenium¹ concentration among groups and sampling times in suckling lambs ($n = 4$)

گروه‌ها Groups	روز ۱ Day 1	روز ۴ Day 4	روز ۷ Day 7	روز ۳۰ Day 30	روز ۶۰ Day 60	روز ۹۰ Day 90	مقدار F F-value
شاهد Control	1.4 ^a 195.6±	1.4 196.2± ^b	1.6 ^a 203.8±	1.9 ^b 199.8±	2.9 ^a 207.1±	1.5 ^b 205.1±	66 ^{**}
نانوسلنیم خوراکی Oral NanoSe	2.5 ^a 192.9±	0.5 ^a 198.5±	3.5 ^a 205.9±	3.2 ^b 224.2±	7.8 263.1± ^c	267.2±5.1 ^c	55.8 ^{**}
VitE نانوسلنیم خوراکی Oral NanoSe/VitE	1.9 ^a 191.4±	1.9 ^a 209.3±	3.1 ^b 221.8±	3.8 229.4± ^b	6.5 ^c 270.5±	1.1 ^c 281.1±	100.4 ^{**}
سلنیت سدیم خوراکی Oral NaSe	1.8 ^a 191.3±	3.7 ^a 210.1±	2.7 ^b 225.5±	2.2 231.1± ^b	2.8 ^c 246.9±	2.7 ^c 249.2±	66.5 ^{**}
سلنیت سدیم- VitE خوراکی Oral NaSe/ VitE	1.8 ^a 190.7±	2.8 ^a 210.2±	1.7 ^a 207.2±	2.1 ^b 223.1±	3.4 ^b 235.2±	2.1 ^c 249.2±	60.7 ^{**}
سلنیت سدیم- تزریقی Inject NaSe/ VitE	2.4 ^a 190.2±	3.1 ^a 194.7±	3.6 ^b 210.2±	3.2 ^b 215.2±	3.6 219.3± ^b	1.7 220.4± ^b	18.5 ^{**}
سلنیت سدیم تزریقی Inject NaSe	4.3 ^a 195.8±	7.3 ^a 210.3±	3.4 ^b 218.8±	3.7 227.2± ^b	3.2 ^c 252.7±	3.7 ^c 256.4±	28.2 ^{**}
ویتامین E VitE	3.8 ^a 190.0±	4.3 ^a 192.9±	2.8 ^b 198.5±	2.8 198.9± ^b	2.9 205.1± ^c	1.6 ^c 206.2±	4.6 ^{**}
مقدار F F-value	0.77	4.5 ^{**}	11.6 ^{**}	19.4 ^{**}	309 ^{**}	105.8 ^{**}	

۱= نانومول در لیتر حروف متفاوت در هر ستون معنی‌دار است. $(P<0/01)^{**}$

Different letters in each column were different $** = P<0.01$

1= nmol/l

جدول ۳- مقایسه میانگین و خطای معیار درصد افزایش وزن ماهانه بره‌های شیری متعاقب تجویز مکمل‌های سلنیم و

ویتامین E در گروه‌های ۸ گانه (n=4)

Table 3- Mean comparison of percentage of weight gain from 1 to 90 days (Repeated measure) among groups in suckling lambs (n = 4)

گروه‌ها Groups	روز ۱ تا ۳۰ Day 1 to 30	روز ۳۰ تا ۶۰ Day 30 to 60	روز ۶۰ تا ۹۰ Day 60 to 90	روز ۱ تا ۶۰ Day 1 to 60	روز ۱ تا ۹۰ Day 1 to 90	مقدار F F-value
شاهد Control	57.6± 4.42 ^a	34.7±4.2 ^b	26.4± 4.4 ^c	111.9± 11.4 ^d	166.9± 10.9 ^d	57.4 ^{**}
نانوسلنیم خوراکی Oral NanoSe	50.4±7.42 ^a	42.4± 8.4 ^b	22.9± 5.7 ^c	112.4± 5.4 ^d	163.6±17.3 ^e	34.7 ^{**}
VitE نانوسلنیم خوراکی / Oral NanoSe/VitE	54.7±3.79 ^a	29.1± 5.8 ^b	24.2± 9.9 ^c	113.9±5.9 ^d	166.7± 15.5 ^e	21.2 ^{**}
سلنیت سدیم خوراکی Oral NaSe	67.8± 6.24 ^a	40.7± 3.2 ^b	22.7± 2.2 ^c	137.5± 10.9 ^d	189.0± 16.4 ^e	54.2 ^{**}
سلنیت سدیم - VitE خوراکی / Oral NaSe/ VitE	58.6±2.11 ^a	42.4± 5.9 ^b	20.0± 4.2 ^c	127.5± 5.1 ^d	165.3± 6.49 ^e	50.9 ^{**}
VitE سلنیت سدیم / VitE	59.4±3.75 ^a	32.1± 4.5 ^b	24.7± 5.1 ^c	110.9± 11.8 ^d	163.7± 21.7 ^e	25.6 ^{**}
تزریقی Inject NaSe/ VitE	57.4±5.84 ^a	41.1± 4.6 ^b	20.6± 2.4 ^c	122.4± 14.1 ^d	169.1± 15.2 ^e	29.2 ^{**}
سلنیت سدیم تزریقی Inject NaSe	50.3±7.63 ^a	43.2± 4.1 ^b	20.0± 3.2 ^c	115.2± 10.6 ^d	155.9± 13.9 ^e	40.9 ^{**}
ویتامین E VitE						
مقدار F	0.32	1.10	0.57	0.22	0.92	0.32
F-value						

^۱ = درصد افزایش وزن، ** = P<0.01، مقادیر در هر ستون معنی‌دار نیستند (P=NS)، مقادیر در هر ردیف معنی‌دار است

^۱ = Percentage of weight gain, ** = P<0.01, Values in in each columns were not different, Different letters in each columns were different

جدول ۴- ارتباط بین گلوٹاتیون پراکسیداز با سلنیم، وزن خالص و درصد افزایش وزن بره‌ها در قبل و پس از دریافت مکمل-

های سلنیم و ویتامین E (n=4)

Table 4. Correlations among glutathione peroxidase activity (GPX), selenium, total and percentage of weight gain before and after administration of selenium components and α -tocoferol in suckling lambs (n = 4)

گروه‌ها Groups	شاخص‌ها Parameters	سلنیم Selenium	وزن خالص Total weight gain	درصد افزایش وزن Total weight gain
قبل از تجویز Before treatment				
سلنیت سدیم خوراکی Oral NaSe	GPX	0.99**	-0.02	0.09
سلنیت سدیم تزریقی Injected NaSe	" "	0.95*	0.47	0.41
۲ ماه پس از تجویز 2 months after treatment				
سلنیت سدیم تزریقی Injected NaSe	" "	0.99**	-0.40	-0.39
۳ ماه پس از تجویز 3 months after treatment				
نانوسلنیم خوراکی Oral NanoSe	" "	0.96*	0.99**	-0.06
سلنیت سدیم خوراکی / VitE Oral NaSe/ VitE	" "	0.70	0.49	0.97*
سلنیت سدیم تزریقی / VitE Inject NaSe/ VitE	" "	0.95*	0.78	-0.74

** = P < 0.01

* = P < 0.05

بحث

مطابقت دارد. مطالعات تا دهه قبل از ظهور نانوذره سلنیم حکایت از بالا بودن فعالیت GPX توسط سلنیت سدیم نوع تزریقی و به نسبت کمتر سلنیت آلی داشت (هوانگ و همکاران ۲۰۰۹، چورفی و همکاران ۲۰۱۱) در صورتی که نتایج پژوهش حاضر برتری تاثیر نانوذره سلنیم در مقایسه با سلنیت سدیم را به صورت نسبی نشان می‌دهد.

اگرچه اثرات آنتی‌اکسیدانی آلفاتوکوفرول ثابت شده (بریبیسکا و همکاران ۲۰۰۵) اما تزریق آن کمترین افزایش GPX را در این پژوهش نشان داد یعنی تاثیر آن نسبت به سلنیم بسیار کم و ضعیف ولی توأم با آن تاثیر بهتری داشت. نتیجه فوق با یافته‌های جوشی و

فعالیت GPX در بره‌های با مکمل سلنیم ۲/۲۵ برابر افزایش یافت که با گزارش زیو و همکاران (۲۰۰۵)، شی و همکاران (۲۰۱۱)، جوشی و همکاران (۲۰۱۳)، فوجی-هارا و اوردن (۲۰۱۴) و نجف‌نژاد و همکاران (۲۰۱۶) در پرندگان و دام‌ها بااستثنای مادیان‌ها (کارن و همکاران ۲۰۱۴) مطابقت داشت. افزایش فعالیت GPX نشان از تاثیر مستقیم مکمل‌های آلی، معدنی و نانوی سلنیم است. فعالیت GPX در نانوذره سلنیم خوراکی بیشتر از سلنیت سدیم بود که با نتایج شی و همکاران (۲۰۱۱) که تاثیر اشکال خوراکی نانوذره سلنیم را در مقابل سلنیت سدیم از نظر آنتی‌اکسیدانی و GPX مؤثرتر ذکر کرده

همکاران (۲۰۱۳) که افزودن آلفاتوکوفرول خوراکی یا تزریقی را برای جلوگیری و حذف استرس اکسیداتیو ضروری دانسته‌اند هم‌خوانی ندارد. آنزیم GPX از آنتی‌اکسیدان‌های اصلی و ضد استرس اکسیداتیو (زیو و همکاران ۲۰۰۹) وابسته به سلنیم است. GPX یا سلنوآنزیم مسئول حذف گونه‌های اکسیژن فعال بوده، سبب حذف هیدروژن پراکسید بازی می‌شود لذا کاهش آن التهاب و آسیب بافتی را سبب خواهد شد (شی و همکاران ۲۰۱۰). متعاقب تجویز مکمل‌های سلنیم فعالیت GPX به‌صورت صعودی افزایش یافته و تقریباً در سه ماه به اوج فعالیت خود می‌رسد (هومن-زیهانکا و همکاران ۲۰۱۳). در این پژوهش نانوذره سلنیم بیشتر از سلنیت سدیم، سلنیم/آلفاتوکوفرول بیشتر از سلنیم و فرم خوراکی بهتر از تزریقی GPX را بطور معنی‌داری در بین گروه‌ها و ایام نمونه‌گیری افزایش داد. شی و همکاران (۲۰۱۰) ذکر می‌کنند که نانوذره سلنیم قادر است فعالیت GPX را علاوه بر خون در کبد، بیضه، مایع منی و سایر بافت‌ها افزایش دهد که هم‌چنان از مزایای نانوذره نسبت به سلنیم معدنی است.

غلظت سلنیم خون در بره‌های دریافت کننده سلنیم ۱/۴۸ برابر یعنی کمتر از نصف GPX (۳/۲۴ برابر) افزایش یافت. چنین افزایشی هماهنگ با نتایج کارن و همکاران (۲۰۱۴) و هومن-زیهانکا و همکاران (۲۰۱۳)، بریسیسکا و همکاران (۲۰۰۵) و چورفی و همکاران (۲۰۱۱) است که افزایش سلنیم را پس از تجویز خوراکی و یا تزریقی مکمل‌های سلنیم گزارش کردند. افزایش مذکور در گروه نانوذره سلنیم/آلفاتوکوفرول بیشتر از سلنیت سدیم/آلفاتوکوفرول بود که با نظرات شی و همکاران (۲۰۱۰) که افزایش سلنیم را در خون و بافت‌ها نشان داده‌اند هم‌خوانی دارد. سلنیم به‌عنوان آنتی‌اکسیدان از آسیب سلولی ممانعت می‌کند (ملامبو ۲۰۰۳). نوع آلی آن شامل سلنوسیتستین و متیونین سبب تقویت سیستم ایمنی و عصبی شده (حبیبیان و همکاران ۲۰۱۳)، کمبود آن با کاهش رشد در نوزادان (شکرالهی و همکاران

۲۰۱۳) همراه است خصوصاً اگر کمبود سلنیم توام با فقدان آلفاتوکوفرول باشد (سلیمان و همکاران ۲۰۱۲). روند افزایش سلنیم در گروه‌ها کاملاً صعودی و در روز ۹۰ به حداکثر میزان رسید که در یافته‌های بریسیسکا و همکاران (۲۰۰۵) ۶۰ روز ذکر شده است. افزایش سلنیم در نانوذره سلنیم/آلفاتوکوفرول بیشتر از سایر گروه‌ها بود که کارآئی بهتر نانوذره سلنیم/آلفاتوکوفرول را نسبت به سایر ترکیبات سلنیم بدون آلفاتوکوفرول نشان می‌دهد. این یافته اولاً هماهنگ با نتایج شی و همکاران (۲۰۱۱) است که مکمل‌های نانوذره سلنیم را از نظر افزایش سلنیم بهتر از سلنیت سدیم بیان کرده‌اند. ثانیاً با گزارش چورفی و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد که تاثیر توام سلنیم/آلفاتوکوفرول در افزایش سلنیم را بهتر از مصرف جداگانه بیان کرده‌اند.

محققین تقویت و افزایش سلنیم خون را تحت تاثیر نوع سلنیم (معدنی، مخمر، آلی و نانوذره)، سن (نوزادان، بالغین)، جنس (نر و ماده)، سلنیم همراه یا بدون آلفاتوکوفرول و روش تجویز (مخلوط با غذا، خوراکی و تزریقی) بیان می‌کنند. تغییرات سلنیم خون بر اساس نوع تجویز ترکیبات سلنیم متفاوت است. بر اساس نتایج هوانک و همکاران (۲۰۰۹) میزان افزایش سلنیم خون در تجویز سلنیت سدیم بیشتر از سلنومتیونین بود. زیو و همکاران (۲۰۰۵) و یغمائی و همکاران (۲۰۱۷) افزایش سلنیم خون را در نانوذره سلنیم بیشتر از سلنیت سدیم عنوان کرده‌اند و سرانجام چورفی و همکاران (۲۰۱۱) افزایش سلنیم خون در تجویز توام سلنیم و آلفاتوکوفرول را بیشتر از تجویز جداگانه آن‌ها بیان کرده‌اند. نتایج این پژوهش که تجویز ترکیبات سلنیم به همراه آلفاتوکوفرول به روش خوراکی و تزریقی در بره‌های نر شیرخوار، کمتر از ۲ ماه سن و وزن نسبتاً پائین انجام شد با یافته‌های استیوارت و همکاران (۲۰۱۲) و کجوری و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد. نتایج فوق به‌همراه یافته‌های شی و همکاران (۲۰۱۱) که

اثرات سمی نانوذره سلنیم را در مقایسه با سلنیت سدیم کم و تحت‌حاد می‌دانند مجدداً کارگر بودن نانوذره بر نوع معدنی را نشان می‌دهد.

بالاترین میانگین افزایش وزن روزانه در سلنیت سدیم خوراکی/آلفاتوکوفرول (۲۱۸ گرم) بود که از گزارش ویگنولا و همکاران (۲۰۰۷) که ۱۶۶ گرم ذکر شده بیشتر و نشان از تاثیر سلنیت معدنی/آلفاتوکوفرول بر رشد دام را دارد. کمترین میزان رشد در گروه آلفاتوکوفرول (۱۷۶ گرم) بود که حتی بیشتر از گزارش مولفین فوق است و نشان می‌دهد که آلفاتوکوفرول نیز در رشد موثر است. این یافته با پژوهش هورن و همکاران (۲۰۱۰) که آلفاتوکوفرول را در رشد گوساله بی‌تاثیر دانسته‌اند هم‌خوانی ندارد. افزایش روزانه وزن در مکمل‌های سلنیم/آلفاتوکوفرول اگرچه از نظر مقدار باهم متفاوت بوده ولی از نظر آماری معنی‌دار نیست و به صورت نسبی وزن را افزایش داده‌اند. افزایش نسبی وزن این بره‌ها با نتایج اکرن و همکاران (۲۰۱۲)، شی و همکاران (۲۰۱۱) که به‌طور نامحسوسی تا ۱۰ گرم در روز بود مطابقت دارد در صورتی‌که کویونکو و یرلیکایا (۲۰۰۷) و هو و همکاران (۲۰۰۷) افزایش وزن روزانه را متعاقب سلنیم/آلفاتوکوفرول معنی‌دار و برعکس مهری و همکاران (۲۰۱۱)، شکرالهی و همکاران (۲۰۱۳) آن را بی‌تاثیر دانسته‌اند مغایرت دارد.

زیلا و میکولوس (۲۰۱۳)، سلیمان و همکاران (۲۰۱۲)، بریبیسکا و همکاران (۲۰۰۵) و الشهات و عبدالمونم (۲۰۱۱) توصیه می‌کنند که در راستای افزایش رشد و وزن نوزادان تزریق سلنیم و یا مصرف آغوز میش‌های تزریق شده با سلنیم ضروری است. مکانیسم و فرآیند رشد در چنین حالتی از طریق تامین سلنیم برای سلنواآنزیم‌ها، حذف استرس اکسیداتیو و افزایش سیستم ایمنی در مقابل عفونت‌های گوارشی و تنفسی است (سلیمان و همکاران ۲۰۱۲). چنین فرآیندی با افزودن آلفاتوکوفرول تقویت نیز می‌شود. هم‌چنانکه در این پژوهش برههائی که سلنیم با آلفاتوکوفرول دریافت

کرده بودند وزن بالاتری از سلنیم به‌تنهایی داشتند. منابع افزایش وزن روزانه را تحت تاثیر وزن تولد، چندقلوزایی، وضعیت شیر، جنس، سن، تغذیه و تلقیح مرتبط دانسته و از ۹۰ تا ۱۸۰ گرم در روز گزارش کرده‌اند (محگوب و همکاران ۲۰۰۷، مهری و همکاران ۲۰۱۱) لذا بره‌های این پژوهش در وضعیت رشد استاندارد و مطلوب قرار دارند. در این پژوهش اگرچه رشد روزانه بره‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود ولی سلنیت سدیم خوراکی بیشترین رشد (۱۸۹٪) و آلفاتوکوفرول کمترین رشد (۱۵۶٪) را داشتند که نشانگر تاثیر احتمالی سلنیت سدیم خصوصاً فرم خوراکی آن در افزایش وزن بره‌ها می‌باشد.

مطالعات در مورد تأثیر مکمل‌های سلنیم در افزایش وزن دام‌ها فراوان است علیرغم ادعان محققین بر ضرورت سلنیم و آلفاتوکوفرول در رشد نوزادان (سیسلا و میکولوس ۲۰۱۳)، اما چنین افزایشی (لو و همکاران ۱۹۹۶) همانند این پژوهش برای سلنیت سدیم و نانوذره سلنیم مشاهده نشده و به‌صورت جزئی بوده و معنی‌دار نیست. شی و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر نانوذره سلنیم را در افزایش نسبی وزن نشان داد که با این پژوهش مطابقت دارد. درصد افزایش وزن در سلنیت سدیم به‌صورت جزئی بیشتر از نانوذره سلنیم بود که با نتایج لوو همکاران (۱۹۹۶) مطابقت دارد. در این تحقیق اگرچه نانوذره سلنیم/آلفاتوکوفرول نتوانست به رشد بالاتری از سلنیت سدیم برسد ولی به‌طور معنی‌داری کمتر نیز نبود. لذا احتمال دارد که با افزایش طول مدت پژوهش به ۶ ماه و تعداد دام‌ها به ۱۰ راس هدف فوق محقق گردد. هم‌چنین اگرچه سلنیت سدیم به همراه آلفاتوکوفرول افزایش وزن روزانه بالائی را نشان داد ولی در بررسی درصد افزایش وزن اولیه کمترین رشد را داشت و گویای آن است که آلفاتوکوفرول بصورت انفرادی در رشد موثر نیست ولی توأم با سلنیم نتیجه مطلوبی را خواهد داشت.

سلنیم و سلنیت سدیم نه تنها یکسان است بلکه نانوذره سلنیم به صورت جزئی بیشتر از سلنیت سدیم هم می‌باشد و می‌تواند جایگزین مطلوبی برای سلنیت سدیم باشد.

نتیجه این‌که مکمل‌های سلنیم خصوصاً نانوذره سلنیم فعالیت GPX و سلنیم خون را بیشتر از آلفاتوکوفرول افزایش دادند. اگرچه افزایش وزن بره‌ها در سلنیت سدیم خوراکی جزئی بیشتر بود اما فاقد ارتباط با مکمل‌های سلنیم بود. بین GPX و سلنیم خون رابطه مثبت و مستحکمی مشاهده شد. سلنیم شیر با شاخص-های GPX، سلنیم و وزن رابطه‌ای نداشتند. نهایتاً عمل-کرد نانوذره سلنیم در قیاس با سلنیت سدیم در شاخص‌های GPX، سلنیم و افزایش وزن اگرچه بطور معنی‌داری بیشتر از سلنیت سدیم نبود ولی به موازات آن بود، خصوصاً در حذف استرس اکسیداتیو کارآیی مناسب‌تری را نسبت به نوع معدنی و آلفاتوکوفرول داشت لذا می‌تواند جایگزینی مناسب برای سلنیت سدیم باشد.

در این پژوهش بین شاخص‌های وزن بره با GPX و سلنیم خون در بین گروه‌ها در ۹۰ روز ارتباطی یافت نشد تنها ارتباط قابل ذکر بین وزن کامل و GPX در نانوسلنیم خوراکی در ماه سوم پژوهش بود که با نتایج یغمایی و همکاران (۲۰۱۷) که بین وزن با GPX در بره-های ماده غیر شیرخوار دریافت‌کننده نانوذره سلنیم ارتباط ذکر کرده‌اند مطابقت داشته و گزارش دیگری موجود نیست در صورتی‌که ارتباط قوی بین سلنیم و GPX به واسطه دارا بودن سلنیم در ساختار GPX در همه گروه‌ها مشاهده شد. ضریب وابستگی در گروه شاهد و آلفاتوکوفرول کمتر از مکمل‌های سلنیم بود که با نتایج سایر محققین که بین سلنیم و GPX ارتباط قوی را ذکر کرده‌اند هم‌خوانی دارد (جونپیر و همکاران ۲۰۰۶، وایت و ریویل ۲۰۰۷، هوانگ و همکاران ۲۰۰۹، وانگ ۲۰۱۱، یغمایی و همکاران ۲۰۱۷) اما تفاوت این پژوهش با سایر یافته‌ها وجود ضریب همبستگی تا ۹۸٪ در نانوذره سلنیم و به نسبت کمتر در سلنیت سدیم است و نشانگر این‌که میزان فعالیت GPX در نانوذره

منابع مورد استفاده

- Bribiesca JER, Tórtora JL, Huerta M, Hernández LM, López R and Crosby MM, 2005. Effect of selenium-vitamin E injection in selenium-deficient dairy goats and kids on the Mexican plateau, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria Ezooiecnica 57.
- Chorfi Y, Girard V, Fournier A and Couture Y, 2011. Effect of subcutaneous selenium injection and supplementary selenium source on blood selenium and glutathione peroxidase in feedlot heifers. Canadian Veterinary Journal 52:1089–1094.
- Csilla P and Miklós M, 2013. Myths and facts about the effects of nano-selenium in farm animals – Mini-Review. European Chemical Bulletin 2 (12):
- Eekeren SG, van N and Wim G, 2012. Effect of vitamin E and selenium and different types of milk on health and growth of organic goat kids. Tackling the Future Challenges of Organic Animal Husbandry, 2nd OAHC, Hamburg/Trenthorst, Germany.
- El-Shahat KH and Abdel monem UM 2011. Effects of Dietary Supplementation with Vitamin E and /or Selenium on Metabolic and Reproductive Performance of Egyptian Baladi Ewes under Subtropical Conditions World Applleid Science Journal 12: 1492-1499.
- Fujihara T and Orden EA, 2014. The effect of dietary vitamin E level on selenium status in rats. Journal of Animal Physiololg and Animal Nutrition 98: 921–927.
- Habibian M, Ghazi S, Moeini MM and Abdolmohammadi A 2013. Effects of dietary selenium and vitamin E on immune response and biological blood parameters of broilers reared under thermoneutral or heat stress conditions. International Journal of Biometeorology 58: 741-749.

- Horn MJ, Van Emon ML, Gunn PJ, Eicher SD, Lemenager RP, Burgess J, Pyatt N and Lake SL, 2010. Effects of maternal natural (RRR α -tocopherol acetate) or synthetic (all-rac α -tocopherol acetate) vitamin E supplementation on suckling calf performance, colostrum immunoglobulin G, and immune function. *Journal of Animal Science* 88: 3128-3135.
- Hu C, Wang X, Zhang S, Xin H and Xia M, 2007. Effect of Nano-Selenium on Growth Performance and Immune Function of Weanling pigs. *Bulletin Sci Tech* 2007; 2:1-5.
- Humann-Ziehanka E, Renkob K, Muellerc AS, Roehriga P, Wolfsena J and Gantera M, 2013. Comparing functional metabolic effects of marginal and sufficient selenium supply in sheep. *Journal of Traace Element Medical Biology* 27: 380–390.
- Joshi A, Kataria N, Kataria AK, Pandey N, Asopa S, Sankhala LN, Pachaury R and Khan S, 2013. Stress related variations in serum vitamin E and C levels of Murrah buffaloes. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 9: 28-34.
- Juniper DT, Givens DI and Bertin G, 2006. Examination of selenium dose response in young lambs receiving an organic selenium. Supplement – Sel-Plex. Alltech's 22nd Annual Symposium, April 24-26.
- Huang Y, Sun Y, Zhou J and Guo L 2009. Effects of Organic Selenium Sources on Lamb's Growth Performance and Its Antioxidative Activities. *Animal Husbandary Feed Science*
- Karren BJ, Thorson JF, Cavinder CA, Hammer CJ and Coverdale JA, 2014. Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals. Selenium concentrations and glutathione peroxidase. *Journal of Animal Science* 88: 3 991-997
- Kojouri GA, Sadeghian S and Mohebbi A, 2012. Effects of Oral Consumption of Selenium Nanoparticles on Chemotactic and Respiratory Burst Activities of Neutrophils in Comparison with Sodium Selenite in Sheep. *Biology trace element Research*, 146: 160-166,
- Koyuncu M and Yerlikaya H, 2007. Effect of selenium-vitamin E injections of ewes on reproduction and growth of their lambs. *South African Journal of Animal Science*, 37: 233-236.
- Lu Y, Wang X and Dong X, 1996. Effects of Selenium Supplementation in Diet on the Ruminal Digestion and Metabolism of Goats. *Acta Agricultural University Henanensis* 23: 32-38.
- Mahgoub RO, 2007. Effects of low concentrations of dietary cobalt on liveweight gains, haematology, serum vitamin B12 and biochemistry of Omani goats. *The Veterinary Journal*, 173: 131–137.
- Mahmoud GB, Abdel-Raheem SM and Hussein HA, 2013. Effect of combination of vitamin E and selenium injections on reproductive performance and blood parameters of Ossimi rams. *Small Ruminant Research* 113: 103-108.
- Mlambo SS, 2003. Active biomonitoring (ABM) of the Rietvlei Wetland System using antioxidant enzymes, non-enzymatic antioxidants and histopathology as biomarkers. URI: <http://hdl.handle.net/10210/1192>
- Mohri M, Ehsani A, Norouzian MA, Bami MH and Seifi HA, 2011. Parenteral Selenium and Vitamin E Supplementation to Lambs: Hematology, Serum Biochemistry, Performance, and Relationship with Other Trace Elements *Biological Trace Element Research* 139: 308-316.
- Muirhead TL, Wichtel JJ, Stryhn H and McClure JT, 2010. The selenium and vitamin E status of horses in Prince Edward Island. *Canadian Veterinary Journal* 51: 979–985.
- Najafnejad B, Aliarabi H and Tabatabaei MM, 2016. Effects of different varies sources of selenium on some hemato-logical parameters and antioxidant responses in Holeshtein dairy cows. *Journal of Food Animal Science* 26: 45-57.
- Noori S, 2012. An Overview of Oxidative Stress and Antioxidant Defensive System. *Open Access Scientific Reports*, 8 <http://dx.doi.org/10.4172/scientificreports.413>, 8(1): 1-8.
- Sadeghian S, Kojouri GA and Mohebbi A, 2012. Nanoparticles of Selenium as Species with Stronger Physiological Effects in Sheep in Comparison with Sodium Selenite. *Biological Trace Element Research* 146: 302-308.
- Shi L, Yang R, Yue W, Wu J, Zhao P and Lei X, 2009. Comparision of Nano-Selenium and Methionine-Selenium on Growth and Selnium Content in Blood and Tissue of Boer Goats Lamb. *Acta Ecologiae Animalis Domastici*, 21:31-39.

- Shi L, Yang R, Yue W, Xun W, Zhang C, Ren Y, Shi Le and Lei F, 2010. Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. *Animal Reproduction Science* 118: 248–254.
- Shi L, Xun W, Yue W, Zhang C, Ren Y, Shi Le, Wang Q, Yang R, Lei F, 2011. Effect of sodium selenite, Se-yeast and nano-elemental selenium on growth performance, Se concentration and antioxidant status in growing male goats. *Small Ruminant Research* 96: 49-52.
- Shokrollahi B, Mansouri M and Amanlou H, 2013. The Effect of Enriched Milk with Selenium and Vitamin E on Growth Rate, Hematology, Some Blood Biochemical Factors, and Immunoglobulins of Newborn Goat Kids. *Biological Trace Element Research* 153: 184-190.
- Soliman EB, Abd El-Moty AKI and Kassab AY, 2012. Combined effect of vitamin E and selenium on some productive and physiological characteristics of ewes and their lambs during suckling period. *Egyptian Journal of Sheep Goat Science* 7: 31- 42.
- Stewart WC, Bobe G, Vorachek WR, Pirelli GJ, Mosher WD and Van Saun RG, 2012. Organic and inorganic selenium: II. Transfer efficiency from ewes to lambs. *Journal of Animal Science* 90: 577-584.
- Vignola G, Lambertin Li, Giammarco M, Pezz Pi and Mazzone G, 2007. Effects of Se supplementation on growth rate and blood parameters in lambs. *Italian Journal of Animal Science* 6: 383.
- Wang LSA, 2011. Recent Advances of Nano-selenium in Animal Nutrition. *China Anim Husband Vet Med*. 31:21-27.
- White CL and Rewell L, 2007, Vitamin E and selenium status of sheep during autumn in Western Australia and its relationship to the incidence of apparent white muscle disease. *Journal of Experimental Agriculture* 47: 535–543.
- Xu B, Xia M, Hu C and Xu Z, 2005. Effect of nano-selenium on tissue selenium content and GSH-PX activity of broilers. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 25(1): 113-121.
- Xun W, Shi L, Yue W, Zhang C, Ren Y and Liu Q, 2012. Effect of High-Dose Nano-selenium and Selenium–Yeast on Feed Digestibility, Rumen Fermentation, and Purine Derivatives in Sheep. *Biological Trace Element Research* 150: 130-136.
- Yaghmaei P, Ramin AG, Asri-Rezaei S and Zamaniet A, 2017. Evaluation of glutathione peroxidase activity, selenium, copper, zinc, iron concentrations and weight gain following administration of selenium nano-particles in lambs. *Veterinary Research Forum VRF* 8: 133-137.
- Yang R, Shi L, Yue W, Xun W, Zhang C, Ren Y, Zhao P and Lei X, 2009. Effect of nanometer-selenium on the development of reproductive function in prepubertal male Boer goat. *Scientia Agricultura Sinica*, 42:2923-2929.
- Zhang J and Spallholz JE, 2011. Toxicity of Selenium Compounds and Nano-Selenium Particles. General, Applied and Systems Toxicology (book), Wiley Online Library, DOI: 10.1002/9780470744307. gat243, John Wiley & Sons, Ltd.PP: 49-75.

Effects of nano selenium particles, mineral selenium and α -tocopherol on glutathione peroxidase activity, blood selenium level and weight gain in suckling lambs

V Shayeghi¹, AG Ramin², S Asri-Rezaei² and A Hassanzadeh³

Received: June 21, 2017 Accepted: October 14, 2017

¹PhD Candidate, Vet Graduated, Vet College, Urmia University, Urmia, Iran,

²Professor and Associate Professor, respectively, Department of Int Med & Clinl Pathol, Vet college, Urmia Univ, Urmia, Iran,

*Corresponding author: Email: Ali_Ramin75@yahoo.com

Introduction: Selenium and α -tocopherol are considered as the main antioxidants necessary for growth of lambs (Shi et al 2010). They are responsible for reducing and eliminating body cells and their membranes from peroxides and oxidative stress (El-Shahat et al 2011). Selenium activate the body immunity and nervous system results in the prevention of diseases and low weight gain (Eekeren et al 2011). α -tocopherol eliminates peroxides from cell membrane and protects from oxidative stress (Joshi et al 2013). The administration of selenium components and α -tocopherol as orally or injection, individually or together has shown the acceptable response to growth, diseases control and treatment in lambs (Vignola et al 2007). Despite progress in resolving Se/ α -tocopherol deficiency, efforts have been made to introduce new selenium compounds with high efficiency and low side effects to enhance animals' production (Shi et al 2011). The priorities of nanoselenium are low dose administration, low toxicity and suitable effect on health and growth rate. Nanoselenium is efficient for production, reproduction performances and immunity system (Yang et al 2009). Despite a greater knowledge of NanoSe in animals, there is a lack of unity and intensive study with regard to the main relevant parameters such as age, gender, various selenium compounds with α -tocopherol, route of administration and their interrelationships with weight gain in one unit study. The objectives were to find the effect of selenium components and α -tocopherol on blood GPX, selenium and their relationships with weight gain in lambs.

Materials and methods: Thirty-two suckling male lambs were classified in 8 groups of 4 lambs including control, oral nanoselenium (ONanoSe), ONanoSe/ α -tocopherol, oral sodium selenite (ONaSe), ONaSe/ α -tocopherol, sodium selenite injection/ α -tocopherol (INaSe/VitE), INaSe and VitE injection. Lambs were weighed and bled days 1, 4, 7, 30, 60 and 90. Recommended dose for NanoSe with no side effects is 0.10 mg kg⁻¹ of live weight (Shi et al 2011). The amount of NanoSe and NaSe was calculated based on the weight of each lamb and was divided into seven parts, administered daily up to seven days. The dose for α -tocopherol is 8 mg kg⁻¹ injected separately or with selenium components. Growth rate was calculated as total (Kg), percentage (%) and daily weight gain (gr/day). Blood GPX activity, blood and milk selenium concentration were measured by spectrophotometer and atomic absorption methods. Data were analyzed by ANOVA, repeated measure correlation methods.

Results and Discussion: Blood GPX activity increased 3.25-fold in lambs receiving selenium components and was consistent with the findings of Xu et al (2005) and Najafnejad et al (2016) in animals. Increase in GPX activity is an indication of organic, inorganic and nano-particles of selenium components in lambs. GPX activity in lambs receiving oral NanoSe was greater than in NaSe groups. This result is supported by Shi et al's findings (2011) which mentioned that the antioxidant and GPX activity of oral NanoSe is more effective than NaSe. Although the antioxidant effects of α -tocopherol are confirmed by scientists, in this study it had the lowest effects on GPX activity in lambs, which means that its effect on GPX was very low and weaker than selenium but together with selenium, it had suitable increase in GPX activity (Bribiesca et al 2005). This finding was not supported by Joshi et al's results (Joshi et al 2013) which mentioned that injection or oral α -

tocopherol is necessary to eliminate and prevent the oxidative stress effects in animals. GPX or selenoenzyme plays an important role against oxidative stress (Huang et al 2009, Yang et al 2009). Blood selenium concentration reached to 1.48-fold at the end of study, nearly one and half times less than GPX changes in lambs receiving selenium components. Similar findings were reported by Bribiesca et al (2005) who concluded that blood selenium increased following consumption of oral or selenium injection components. An increase in blood selenium in lambs with NanoSe/ α -tocopherol was higher than in NaSe/ α -tocopherol which is consistent with Shi et al's findings (Shi et al 2010) which referred to high selenium level in blood and tissues following NanoSe consumption. Blood selenium increased rapidly and continuously and reached to the highest level at 90 days but in Bribiesca et al's finding (2005) it was 60 days. An increase in blood selenium in lambs with NanoSe/ α -tocopherol was more than other selenium components and/or with α -tocopherol, indicates that permanence and performance of new selenium compounds had priority over the old selenium (organic and inorganic) supplementation. This finding is supported by the reports of Shi et al. (2010) and Chorfi et al (2011) who concluded that NanoSe compounds increase selenium and GPX level more effectively than NaSe and the efficiency of selenium/ α -tocopherol together instead of being used separately in animals. The highest daily mean weight gain was in NaSe/ α -tocopherol which was greater than that reported by Vignola et al (2007) and indicates the efficiency of NaSe/ α -tocopherol on weight gain of lambs. The lowest weight gain observed in α -tocopherol group that was even higher than reported by Vignola et al (2007), means that α -tocopherol had an effect on growth rate. This was not in agreement with Horn et al (32) who mentioned that α -tocopherol did not have an effect on calf growth rate. Studies on the effects of selenium on growth and weight gain were controversial and mostly did not have a significant effect on weight gain. Hu et al (2007) reported significant increase in weight gain following selenium/ α -tocopherol, but Mohri et al (2011) showed no effect on weight gain. No correlation was observed between lambs receiving selenium compounds and α -tocopherol with blood GPX, selenium and weight gain indices in groups except for total weight gain/GPX which was positive in oral NanoSe group. This was consistent with Yaghmaei et al's finding (2017) reported for female lambs. However, the rate of correlation in control and α -tocopherol groups was less than selenium groups. This was in agreement with others (Juniper et al 2006, White et al 2007) that mentioned the strong positive correlation between selenium and GPX. The presence of correlation up to 98% in NanoSe lambs and less in NaSe group indicates that GPX activity in NanoSe groups was higher than NaSe groups and this can be considered one of the points to replace it with NaSe in lambs.

CONCLUSIONS: Se mainly ONanoSe increased GPX and Se more than α -tocopherol. Weight gain was high in ONaSe but not correlated to Se components. Correlations between Se/GPX were positive. Finally, the effect of ONanose on GPX, Se and weight gain were not higher than ONaSe mainly on increasing of GPX was better than mineral selenium and α -tocopherol, and therefore, could be the appropriate option to NaSe administration in lambs.

Keywords: Nano-selenium, alfa-tocopherol, Lamb, GPX, Weight gain