

Institut Biologii UMCS
Zakład Biologii Komórki

Jolanta RZYMOWSKA, Marta PAŹDZIÓR,
Michał GÓRSKI

Wpływ selenu na krew i narządy wewnętrzne zarodków kurzych

Влияние селена на кровь и внутренние органы куриных эмбрионов

The Effect of Selenium on the Blood and Internal Organs of the Chick Embryos

Wpływ selenu na transport jonów przez błony komórkowe, funkcjonowanie niektórych enzymów, syntezę DNA i RNA, koenzymu Q i immunoglobulin, absorpcję lipidów oraz funkcjonowanie układu mięśniowego i krwiotwórczego, to niektóre z przykładów uczestniczenia tego pierwiastka w homeostazie mikro- i makroorganizmów (1, 4).

W związku z tym niedobór selenu może być przyczyną całego szeregu schorzeń. Objawy chorobowe mogą wystąpić, gdy zawartość selenu w paszy jest mniejsza niż 0,03 mg/kg. Objawami niedoboru selenu u zwierząt są: zahamowanie wzrostu, uszkodzenie wątroby, nerek i trzustki, anemia, degeneracja jajników prowadząca do niepłodności (2, 3, 7). Kurczęta, którym podawano karmę zawierającą poniżej 0,02 mg Se/kg wykazywały mniejszy przyrost ciężaru ciała, zanik trzustki i słabe upierzenie (5).

Działanie szkodliwe na organizm wywiera także nadmiar selenu. Objawami patologicznymi ostrego zatrucia są martwica wątroby oraz liczne krwotoki do jam ciała i narządów mięsnych. Przypadki śmiertelne spowodowane są przede wszystkim niedotlenieniem na skutek wylewów do mięszu płucnego oraz niewydolnością układu oddechowego, spowodowaną toksycznym wpływem selenu na centralny i wegetatywny układ nerwowy (7). Nieorganiczne związki selenu i selenoaminokwasy powodują podostrą selenozę, objawiającą się zwiększeniem ciężaru trzustki i przyspieszoną hemolizą. Zmiany patologiczne w przewlekłym zatruciu polegają przede wszystkim na uszkodzeniu wątroby, nerek, trzustki, śledziony, mięśnia sercowego oraz wystąpieniu zaburzeń żołądkowo-jelitowych

(8). W obrazie morfologicznym występują zmiany zwyrodnieniowe narządów oraz ogniska martwicy w mięszu wątroby. Po dłuższym okresie działania związków selenu występuje anemia hemolityczna, marskość wątroby, powiększenie śledziony, krwotoki ze śluzówki żołądka i jelit oraz uszkodzenie mięśnia sercowego (6, 9).

Wright stwierdził, że stężenie seleninu sodu powyżej 5 mg/kg pa-szy powoduje podwyższenie poziomu cukru we krwi szczurów, zmniejszenie ilości glikogenu w wątrobie, obniżenie poziomu hemoglobiny, retikulocytozę, anizocytozę i polichromatofilię (4). Trzykrotna iniekcja seleno-karbazydu selenu szczurom zwiększała oporność erytrocytów na hemolizę w środowisku kwaśnym, powodowała zwiększenie liczby erytrocytów, leukocytów i poziomu hemoglobiny we krwi obwodowej. Doustnie podany związek powodował podwyższenie poziomu białka w surowicy krwi (4, 7).

Na podstawie licznych eksperymentów oraz obserwacji klinicznych można stwierdzić, że selen w dawkach wyższych od fizjologicznych działa embrioletalnie, teratogennie, hepatotoksycznie, powoduje zmiany we krwi i narządach wewnętrznych oraz wpływa hamująco na wzrost.

MATERIAŁ I METODY

Do doświadczenia użyto 30 zależonych jaj kur rasy Leghorn, które inkubowano w 38°C. Grupa pierwsza stanowiła kontrolę. Do jaj grupy drugiej i trzeciej wprowadzano do pęcherzyków żółtkowych selenin sodu rozpuszczony w zbuforowanym roztworze NaCl. Grupie drugiej podawano dawkę 0,002 mg, a grupie trzeciej 0,005 mg Na_2SeO_3 na jajo. Iniekcji dokonywano 3 dnia inkubacji. Ilość wprowadzanego roztworu seleninu sodu wynosiła 0,2 ml. Grupie kontrolnej podawano taką samą ilość zbuforowanego roztworu NaCl. Po wykłuciu się kurcząt pobierano krew z serca i oznaczano liczbę erytrocytów, poziom hemoglobiny, wartość hematokrytu, liczbę leukocytów oraz wykonywano obraz Schillinga. Pobierano wycinki z wątroby i serca, utrwalano w 4% formalinie, a następnie wykonywano preparaty histologiczne, które barwiono hematoksyliną i eozyną.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Badanie krwi wykazało, że selenin sodu powoduje statystycznie znaczne, określone testem t-Studenta, obniżenie poziomu hemoglobiny, wartości hematokrytu oraz ilości leukocytów. Znamienne różnice stwierdzono w ilości neutrofilów. Wprowadzenie dawek 0,002 i 0,005 mg Na_2SeO_3 powoduje podwyższenie liczby neutrofilów. Ilość limfocytów natomiast znacznie zmniejsza się pod wpływem selenu w obu badanych grupach (tab. 1 i 2).

Tab. 1. Wpływ seleninu sodu na liczbę erytrocytów i poziom hemoglobiny
The effect of sodium selenite on the number erythrocytes and hemoglobin level

Parametry krwi Blood parameters	Na ₂ SeO ₃ /mg/jajo/ Na ₂ SeO ₃ /mg/egg/		
	K	0,002	0,005
Erytrocyty /T/1/ Erythrocytes	2,970 ±0,02	2,644 ±0,13	2,617 ±0,15
Hemoglobina /mmol/1/ Hemoglobin	6,34 ±0,09	5,52 ±0,39 xx	5,49 ±0,42 xx
Wskaźnik hematokrytu /1/1/ Hematocrit index	35,55 ±1,21	32,16 ±1,01	31,26 ±0,92 x

Objaśnienia: x — $p < 0,05$, xx — $p < 0,01$, xxx — $p < 0,001$.

Explanation: x — $p < 0.05$, xx — $p < 0.01$, xxx — $p < 0.001$.

Tab. 2. Zmiany w obrazie Schillinga pod wpływem seleninu sodu
Alterations in Schilling pictures after treatment with sodium selenite

Obraz Schillinga Schilling picture	Na ₂ SeO ₃ /mg/jajo/ Na ₂ SeO ₃ /mg/egg/		
	K	0,002	0,005
Leukocyty /G/1/ Leucocytes	30,22 ±0,26	30,67 ±1,96	24,59 ±1,44 xxx
Neutrofile %/ Neutrophiles	46,70 ±4,37	48,56 ±4,44	70,88 ±3,25
Eozynofile %/ Eosinophiles	4,45 ±1,79	1,20 ±0,33	2,71 ±1,17
Bazofile %/ Basophiles	2,55 ±0,58	2,40 ±0,73	1,36 ±0,81
Monocyty %/ Monocytes	3,64 ±0,90	3,00 ±0,75	4,43 ±1,63
Linfocyty %/ Lymphocytes	43,00 ±4,56	21,11 ±2,79 xx	8,88 ±1,41 xxx

Objaśnienia patrz tab. 1 — Explanation see Table 1.

Stwierdzono zmiany patologiczne w narządach wewnętrznych kurcząt, których zarodki poddane były działaniu selenu. W wątrobie kurcząt, którym wprowadzono dawki 0,002 i 0,005 mg Na₂SeO₃ stwierdzono przekrwienie i zwyrodnienie mięszkowe (ryc. 1 i 2). W mięśniu sercowym zauważono również zwyrodnienie mięszkowe, obrzęk i przekrwienie niasierdzia, w jednym przypadku wylewy krwi podniasierdziowe (ryc. 3) oraz ogniska martwicy (ryc. 4).

Przedstawione obserwacje pokrywają się z doniesieniami innych auto-

rów. Znaczne zahamowanie wzrostu, marskość wątroby i powiększenie śledziony stwierdzono u szczurów po podaniu 6,4 mg Na_2SeO_3 na 1 kg karmy. Ponadto anemię, powiększenie trzustki, podwyższenie poziomu bilirubiny w surowicy i śmierć po 4 tygodniach powodowała karma zawierająca 8,0 mg Se/kg (2). Jaffe i wsp. zauważyli, że szczury, którym podawano karmę zawierającą 4,5 ppm organicznego selenu w ciągu 5 tygodni wykazywały obniżenie poziomu hemoglobiny i protrombiny oraz wartości hematokrytu. Wystąpiło także zahamowanie wzrostu zwierząt oraz zmiany patologiczne w wątrobie i śledzionie. Według Fishbeina (1) podawanie szczurom karmy zawierającej 10 ppm selenu w ciągu 7 tygodni powodowało retikulocytozę i zmniejszenie okresu półtrwania erytrocytów. Pletnikowa (2) stwierdziła, że doustne podawanie roztworu seleninu sodu królikom w dawce 0,005 mg/kg w ciągu 7,5 miesiąca powodowało zwiększenie poziomu glutationu we krwi, zmniejszenie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej w wątrobie oraz uszkodzenie wydzielniczej funkcji wątroby i nerek. Venugopal (8) opisuje wystąpienie zwyrodnienia i martwicy mięśnia sercowego.

Dla prawidłowego funkcjonowania organizmu konieczne jest współdziałanie wielu mechanizmów homeostazy ustroju. Jednym z ogniw tego mechanizmu jest działanie selenu jako pierwiastka chroniącego przed toksycznym działaniem nadtlenków powstających w czasie metabolizmu komórki.

Nadmiar selenu może natomiast zwiększać szybkość utleniania lipidów i hemoglobiny oraz podatność erytrocytów na hemolizę i powodować na tej drodze wystąpienie szeregu zmian patologicznych.

WNIOSKI

1. Selenin sodu w dawkach 0,002 i 0,005 mg na jajo powoduje obniżenie poziomu hemoglobiny i wartości hematokrytu u wylęgłych kurcząt.
2. Selenin sodu wpływa na zwiększenie liczby neutrofilów oraz znaczne zmniejszenie liczby limfocytów.
3. Selenin sodu powoduje wystąpienie u wylęgłych kurcząt przekrwienia i zwyrodnienia mięszonego wątroby oraz zwyrodnienia mięszonego, obrzęku i ognisk martwicy w mięśniu sercowym.

PIŚMIENNICTWO

1. Frost D. V., Lish P. M.: Selenium in Biology. *Ann. Rev. Pharmacol.* **15**, 259—284 (1957).
2. Prevention of Keshan Cardiomyopathy by Sodium Selenite. *Nutr. Rev.* **38**, 278—279 (1980).
3. Schroeder H. A., Frost M. D. V., Balassa J. J.: Trace Elements in Man. *J. Chron. Dis.* **23**, 227—243 (1970).
4. Sielien w biologii. „Elm”, Baku 1976.
5. Thompson J. N., Scott M. L.: Impaired Lipid and Vitamin E Absorption Related to Atrophy of the Pancreas in Selenium Deficient Chicks. *J. Nutr.* **10**, 797—809 (1970).
6. Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology. Walter de Gruyter. Berlin—New York 1980.
7. Underwood E. J.: Trace Elements in Human and Animal Nutrition. Academic Press, New York—London 1976.
8. Venugopal B., Luckey T. D.: Metal Toxicity in Mammals 2. Plenum Press, New York—London 1978.
9. Wilber C. G.: Toxicology of Selenium — a Review. *Clin. Toxicol.* **17**, 171—230 (1980).

OPIS RYCIN

Ryc. 1. Wątroba. Barwienie hematoksyliną i eozyną (H+E). Pow. ok. 240×. Wyraźne przekrwienie i zwyrodnienie miąższowe.

Ryc. 2. Wątroba. Barwienie H+E. Pow. ok. 480×. Przekrwienie oraz znaczne zwyrodnienie aż do martwicy pojedynczych komórek wątrobowych.

Ryc. 3. Serce. Barwienie H+E. Pow. ok. 240×. Obrzęk, przekrwienie nasierdzia oraz wylewy krwi podnasierdziowe.

Ryc. 4. Mięsień sercowy. Barwienie H+E. Pow. ok. 240×. Ognisko martwicy.

РЕЗЮМЕ

В желточные мешки трехдневных эмбрионов ввели селенид натрия в дозах 0,002 и 0,005 мг на одно яйцо. Определили у цыплят уменьшение уровня гемоглобина и величины индекса гематокрита. Отмечено также уменьшение числа нейтрофилов и заметное уменьшение количества лимфоцитов. В печени наблюдали паренхиматозное перерождение и гиперемию. В сердечной мышце обнаружили паренхиматозное перерождение, отек и некроз.

SUMMARY

Sodium selenite was administered in doses 0.002 and 0.005 mg to yolk sacks of 3-day-old chicken embryos. The animals showed a decrease of hemoglobin level and hematocrit index. One could also observe an increase of neutrophiles and significantly reduced lymphocyte count. There were parenchymatous degeneration and congestion in the liver. In the myocardium parenchymatous degeneration, edema and necrosis were noticed.

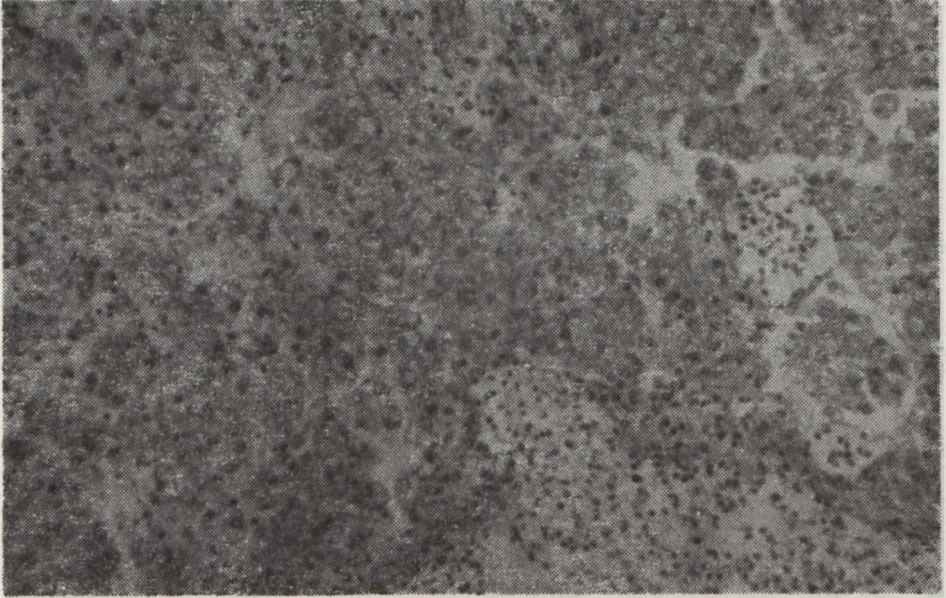
EXPLANATION TO FIGURES

Fig. 1. Liver. Staining with hematoxylin and eosin (H+E). Magn. about 240X. Considerable congestion and parenchymatous degeneration.

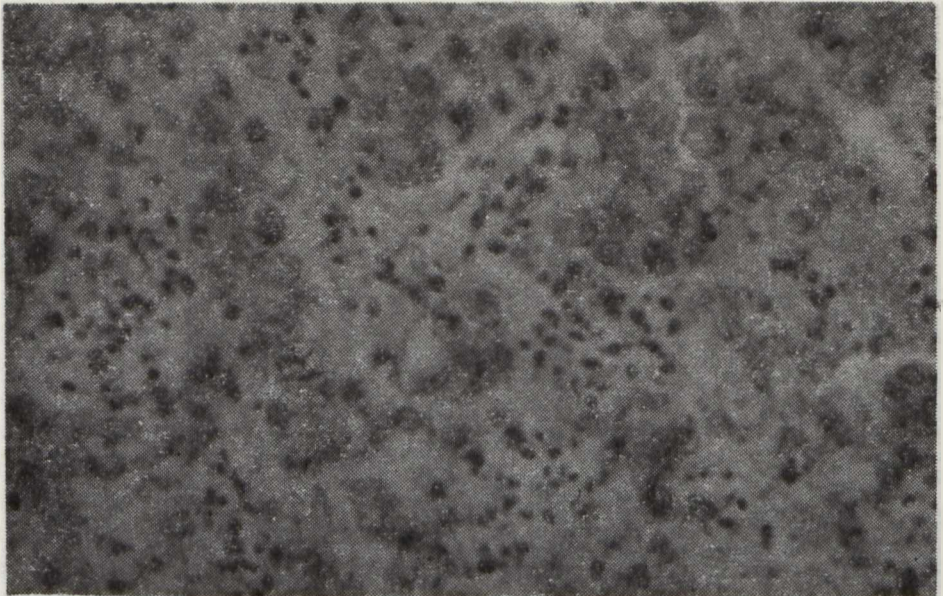
Fig. 2. Liver. Staining with H+E. Magn. about 480X. Congestion and significant degeneration till hepatocytes necrosis.

Fig. 3. Heart. Staining with H+E. Magn. about 240X. Edema, congestion of epicardium and haemorrhages of subepicardium.

Fig. 4. Myocardium. Staining with H+E. Magn. about 240X. Necrosis.

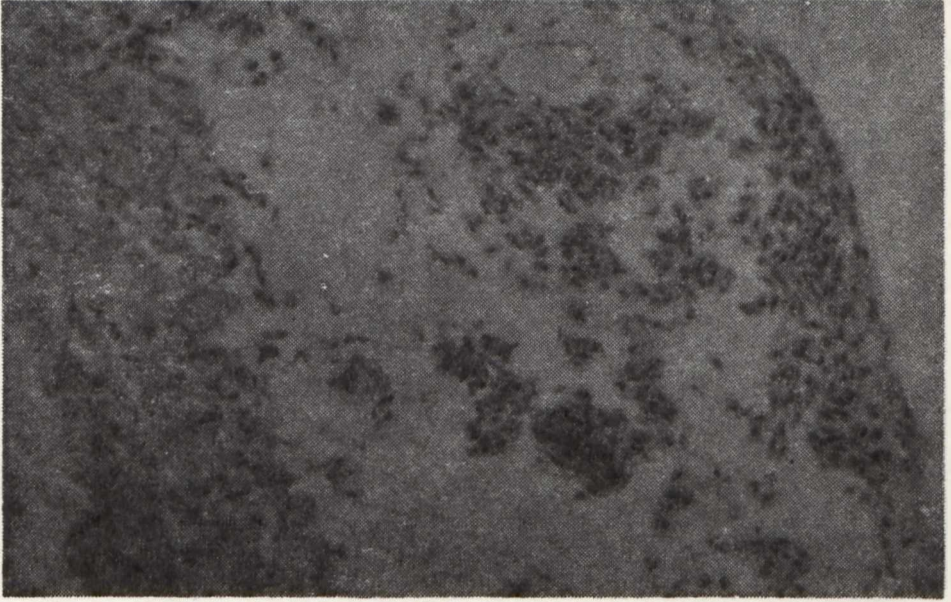


Ryc. 1

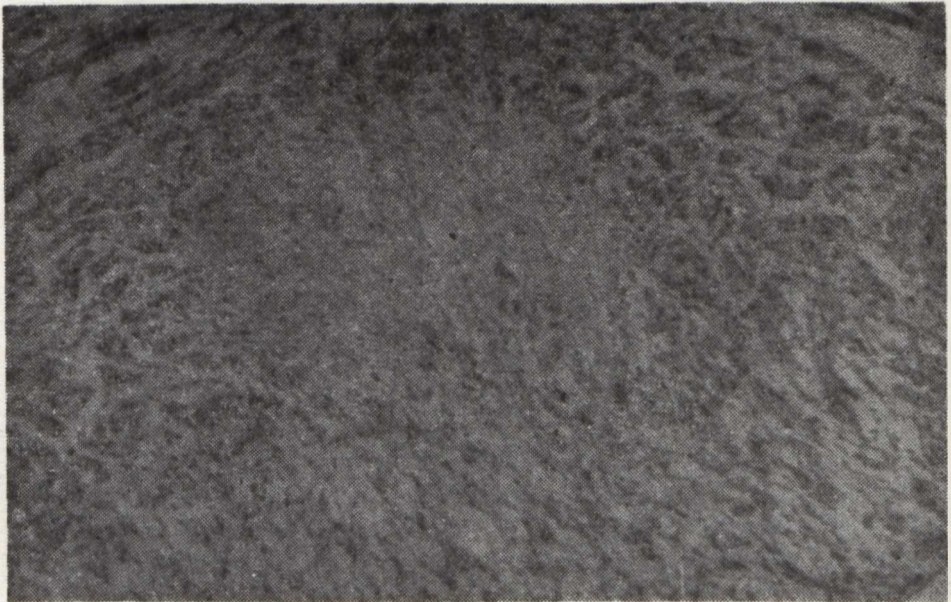


Ryc. 2

Jolanta Rzymowska, Marta Paździor, Michał Górski



Ryc. 3



Ryc. 4