

Jolanta RZYMOWSKA, Marta PAŹDZIOR,
Michał GÓRSKI

Wpływ selenu na embriogenezę kurcząt

Влияние селена на эмбриогенез цыплят

The Effect of Selenium on Chick Embryogenesis

Selen jest pierwiastkiem występującym w różnych stężeniach w glebie, wodzie i powietrzu. Na podkreślenie zasługuje fakt, że jest on niezbędny dla organizmów w niższych stężeniach, natomiast toksyczny w wysokich. Toksyczne działanie selenu poznano w latach trzydziestych, kiedy to stwierdzono, że u zwierząt karmionych paszą zawierającą powyżej 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ występują charakterystyczne schorzenia (1, 2).

Selen działa teratogennie i powoduje szereg wad rozwojowych. Zauważono to u embrionów szczurów, świń i bydła, wśród których wiele zwierząt rodziło się ze zniekształconymi kończynami. Zmiany teratogenne stwierdzono także u kurcząt i owiec z selenonośnych obszarów. Holmberg i Ferm donoszą, że podanie chomikom 2 mg Na_2SeO_3 dożylnie w ósmym dniu ciąży powoduje wystąpienie wad rozwojowych (7, 8, 10, 11, 12, 13). Selenin sodu ochrania zaś przed teratogennym wpływem kadmu i arsenu (4). Ponieważ selen łatwo przenika przez łożysko i powoduje zmiany w zarodku, uważany jest również za czynnik teratogeny dla człowieka (6).

Thompson i Scott spostrzegli, że selen jest niezbędnym pierwiastkiem do wzrostu i rozwoju kurcząt (12). Jego niedobór powoduje również zmniejszenie wylęgłości przepiórek japońskich (5). Należy więc sądzić, że minimalny poziom selenu w diecie jest konieczny do prawidłowego wzrostu i rozwoju kurcząt. Poziom selenu niezbędny do utrzymania wysokiej nieśności i wylęgłości nie został jednak dokładnie określony (3, 9).

MATERIAŁ I METODY

Do doświadczeń użyto 595 zależonych jaj kur rasy Leghorn. Jaja inkubowano w 38°C. Selenin sodu rozpuszczony w PBS wprowadzano do pęcherzyków żółtkowych w dawkach 0,01, 0,02, 0,05, 0,1, 0,2 i 0,5 mg seleninu sodu na jajo. Iniekcji dokonywano 2, 3, 8 i 11 dnia inkubacji. Wykonano dwie serie badań.

W pierwszej serii użyto 280 zależonych jaj, które podzielono na siedem grup, po 40 jaj każda. Sześciu grupom podawano roztwór seleninu sodu, zaś siódma grupa stanowiła kontrolę. 0,2 ml roztworu Na_2SeO_3 wprowadzano jednorazowo 2, 3, 8 i 11 dnia inkubacji. Do jaj kontrolnych wprowadzano taką samą ilość PBS. Przeżywalność zarodków określano co 3 dni od momentu iniekcji.

Do drugiej serii doświadczeń użyto 315 zależonych jaj. Materiał podzielono na sześć grup doświadczalnych i jedną grupę kontrolną, po 45 jaj każda. Badano wielkość i ciężar zarodków oraz notowano zaburzenia w rozwoju i przypadki obumarcia embrionów. Porównywano śmiertelność zarodków po podaniu seleninu sodu w 2, 3, 8 i 11 dniu inkubacji. W celu stwierdzenia znamienności różnic pomiędzy grupami zastosowano test χ^2 .

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Na podstawie wyników badań można stwierdzić wyraźne embrioletalne działanie seleninu sodu. Wykazały je wszystkie użyte w doświadczeniu dawki roztworu seleninu sodu. Toksyczne działanie tego związku było największe po podaniu go 2 i 3 dnia inkubacji, a znacznie mniejsze po iniekcji 8 i 11 dnia. Śmiertelność zarodków po wprowadzeniu dawki 0,01 mg Na_2SeO_3 2 dnia inkubacji wynosiła 90%, natomiast 3 dnia 70%. Ta sama dawka podana 8 i 11 dnia spowodowała 50 i 40% śmiertelność. Najwyższa dawka selenu, to jest 0,5 mg, po podaniu w 2 i 3 dniu powodowała 100% śmiertelność oraz 90 i 80% śmiertelność po iniekcji 8 i 11 dnia. Śmiertelność zarodków w grupie kontrolnej wynosiła 2% (tab. 1).

Poza wysoką śmiertelnością stwierdzono u zarodków i wyklutych kurcząt szereg zmian i zaburzeń rozwojowych. Zaobserwowane zmiany dotyczyły w większości przypadków zmniejszenia ciężaru ciała zarodków. Wystąpiły również 24 przypadki różnych zaburzeń: rozwoju kończyn, dzioba i oczu, braku wykształcenia powłok brzusznych z ewentracją narządów wewnętrznych. Stwierdzono 12 przypadków zaburzeń w rozwoju kończyn (ryc. 1), 2 przypadki bezocza (ryc. 2), 3 przypadki małoocza (ryc. 3), 4 przypadki ewentracji narządów wewnętrznych (ryc. 4) oraz 3 przypadki wad w rozwoju dzioba. W grupie kontrolnej nie stwierdzono żadnego przypadku wystąpienia wady rozwojowej.

Zmniejszenie ciężaru ciała, wywołane działaniem selenu, oraz indukowanie wad rozwojowych może być związane z zaburzeniem procesów metabolicznych zachodzących w czasie rozwoju. Działanie to można tłumaczyć wpływem na replikację, transkrypcję i translację. Badania *in vitro*

Tab. 1. Przeżywalność kurzych zarodków po podaniu seleninu sodu
Survival of chick embryos treated with sodium selenite

Dzień iniekcji Day of injection	Dni inkubacji Days of incubation	Przeżywalność embrionów %/ Viable embryos %/ Selenin sodu /mg/jajo/ Sodium selenite /mg/egg/						
		K	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2	0,5
2	3-5	100	100	100	90	90	80	60
	6-8	100	100	100	80	80	70	50
	9-11	100	90	60	50	40	30	20
	12-14	100	60	60	20	30	20	10
	15-17	90	10	10	10	0	0	0
	18-20	90	10 x	10 x	0 x	0 x	0 x	0 x
3	4-5	100	100	100	80	70	80	70
	6-8	100	90	90	80	50	50	50
	9-11	100	90	80	80	30	20	10
	12-14	100	60	50	50	10	10	10
	15-17	100	50	40	30	0	0	0
	18-20	100	30 x	20 x	10 x	0 x	0 x	0 x
8	9-11	90	100	100	90	80	80	80
	12-14	90	90	80	70	60	50	50
	15-17	90	80	70	70	50	40	20
	18-20	90	50 x	40 x	20 x	20 x	10 x	10 x
11	12-14	100	100	90	70	60	60	60
	15-17	100	80	60	60	50	50	50
	18-20	90	60 x	60 x	40 x	40 x	30 x	20 x

Objaśnienia: x — $p < 0,001$.

Explanation: x — $p < 0,001$.

wykazały bowiem, że nanomolowe ilości selenu zmniejszają przyłączanie aminokwasów do polirybosomów (14). Natomiast hamujące działanie selenu na syntezę kwasów nukleinowych oraz inaktywacja tRNA po połączeniu się z selenem może tłumaczyć wpływ tego pierwiastka na syntezę białka. Everett i Holley na podstawie badań prowadzonych na szczurach wykazali, że selenin sodu nie blokuje wbudowywania aminokwasów do łańcucha polipeptydowego. Powoduje natomiast zahamowanie syntezy białka poprzez pośrednią inaktywację czynnika inicjującego 2, lecz nie przez wpływ na czynnik elongacyjny 2. Również w hodowlach komórkowych stwierdzono po podaniu selenu zahamowanie syntezy białka i innych metabolicznych funkcji komórek. Mechanizm działania selenu można również tłumaczyć jego wiązaniem się z tiolami obecnymi wewnątrz komórki i w płynach hodowlanych. Powstające bowiem związki z tiolami są bardziej toksyczne niż nieorganiczne związki selenu (15).

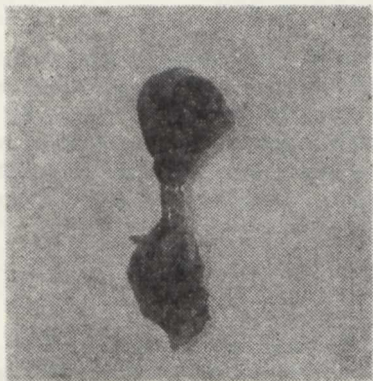
Na podstawie przeprowadzonych badań należy stwierdzić, że selen, wpływając na szereg procesów metabolicznych zachodzących w komórkach, jest czynnikiem embrioletalnym i teratogennym. Dokładny jednak patomechanizm działania selenu nie jest całkowicie wyjaśniony, a zatem wymaga dalszych badań i obserwacji.

WNIOSKI

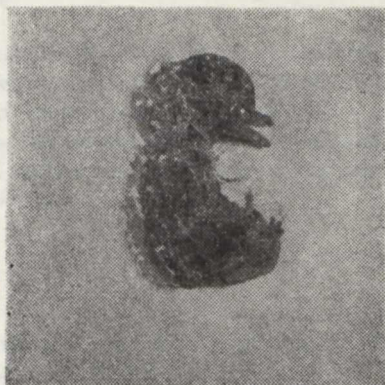
1. Selenin sodu wykazuje embrioletalne działanie u kurcząt, największe po podaniu w 2 i 3 dniu i mniejsze po podaniu w 8 i 11 dniu inkubacji.
2. Selenin sodu powoduje zmniejszenie ciężaru ciała zarodków i wystąpienie licznych zaburzeń rozwojowych kończyn, dzioba i oczu oraz brak wykształcenia powłok brzusznych z ewentracją narządów wewnętrznych.

PIŚMIENNICTWO

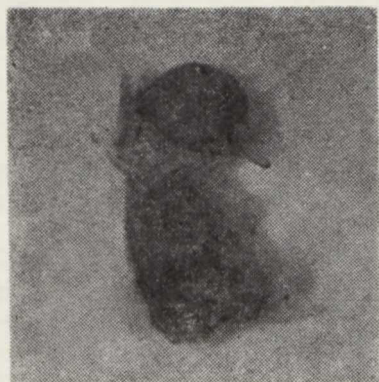
1. Burk R. F.: Selenium in Man. Selenium-Tellurium in the Environment. Industrial Health Foundation. Pittsburg 1976.
2. Diplock A. T.: Metabolic and Functional Defects in Selenium Deficiency. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B **294**, 105—117 (1981).
3. Fitzsimmons R. C., Phalaraksh K.: Chick Embryonic Development as Influenced by in ovo Injected Selenium. Can. J. Anim. Sci. **58**, 227—232 (1978).
4. Friberg L., Nordberg G. F., Vouk V. B.: Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier/North Holland and Biomedical Press, Amsterdam-New York—Oxford 1979.
5. Jensen L. S.: Selenium Deficiency and Impaired Reproduction in Japanese Quail. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **128**, 970—972 (1968).
6. Kabata-Pendias A., Pendias H.: Pierwiastki śladowe w środowisku biologicznym. Wydawn. Geolog. Warszawa 1979.
7. Luckey T. D., Venugopal B.: Metal Toxicity in Mammals 1. Plenum Press, New York—London 1977.
8. Moxon A. L., Rhian M.: Selenium Poisoning. Physiol. Rev. **23**, 305—337 (1943).
9. Palmer I. S., Arnold R. L., Carlson C. W.: Toxicity of Various Selenium Derivatives to Chick Embryo. Poult. Sci. **52**, 1841—1846 (1973).
10. Robertson D. S. F.: Selenium — a Possible Teratogen? Lancet **1**, 518—519 (1970).
11. Saelinger D. A., Hoffman J. L., McConnel K. P.: Biosynthesis of Selenobases in Transfer RNA by *E. coli*. J. Mol. Biol. **69**, 9—17 (1972).
12. Thompson J. N., Scott M. L.: Role of Selenium in Nutrition of the Chick. J. Nutr. **97**, 335—342 (1969).
13. Venugopal B., Luckey T. D.: Metal Toxicity in Mammals 2. Plenum Press, New York—London 1978.
14. Vernie L. N., Bont W. S., Emmelot P.: Inhibition of *in vitro* Amino Acid Incorporation by Sodium Selenite. Biochem. **13**, 337—341 (1974).
15. Vernie I. N. i współprac.: Inhibition of Amino Acid Incorporation in a Cell-Free System and Inhibition of Protein Synthesis in Cultured Cells by Reaction Products of Selenite and Thiols. Biochim. Biophys. Acta **739**, 1—7 (1983).



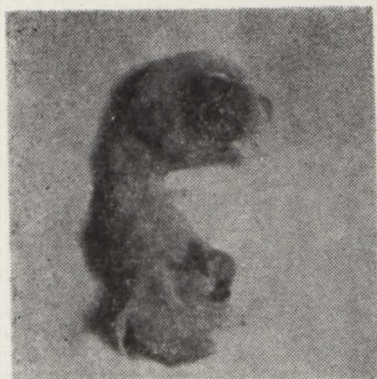
Ryc. 1. Zarodek 16-dniowy; wielkość naturalna; brak kończyn dolnych
16-day embryo; natural size; absence of lower limbs



Ryc. 2. Zarodek 23-dniowy; wielkość naturalna; zmniejszony rozmiar ciała w porównaniu z kontrolą; brak obu oczu
23-day embryo; natural size; reduced body size compared with control; absence of eyes



Ryc. 3. Zarodek 23-dniowy; wielkość naturalna; zmniejszony rozmiar ciała; widoczny zawiązek prawego oka
23-day embryo; natural size; reduced body size; microphthalmia



Ryc. 4. Kurczę 1-dniowe; wielkość naturalna; zmniejszony rozmiar ciała; brak powłoki brzusznej z ewentracją narządów wewnętrznych
1-day chick; natural size; reduced body size; absence of abdomen envelope with everted viscera

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты исследований влияния селена на куриные эмбрионы. Селенин натрия ввели в эмбрионы куриных яиц в дозах от 0,01 до 0,5 мг на одно яйцо. Введение проводили в желточные мешки на 2, 3, 8 и 11 день инкубации. Определили влияние селена на морфологию и смертность эмбрионов. Отметим уменьшение веса тела, нарушение развития конечностей и клюва, а также микрофтальм или отсутствие глаз.

SUMMARY

Sodium selenite was injected into chick embryos from 0.01 to 0.5 mg per egg. The injections were administered into yolk sacs of eggs on the 2nd, 3rd, 8th and 11th day of incubation. The treatment effects on embryo morphology and mortality are reported. The reduced body weight and numerous malformations such as abnormal development of the feet and legs, underdevelopment of beak and microphthalmia or absence of eyes were observed.

