Iranian Journal of Biological Sciences.2023; 18(4):71-84

Orginal Article

Iranian Journal of Biological Sciences

https://zisti.iauvaramin.ac.ir

# Effects of Dietary Organic Selenium Levels on Immunoglobulin G Concentration and Expression of INF-γ, IL-2, and IL-6 Genes in Female Wistar Rats

Hamid Ashrafi

PhD .Department of Animal Sciences, Science and Research Unit

Place of Research: Razi Laboratory, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Article Info

**Article History:**

Received 26.06.2024
Revised 28.07.2024
Accepted 31.07.2024
Online 30.12.2024

**Keywords:**
Organic Selenium,
Interferon gamma
Interleukin-2
Interleukin-6
Immune System Response
Female Wistar Rats

***Corresponding author:**
E-mail address,
ashrafihamid1071395@gmail.com

Abstract

**Introduction:** High ambient temperature causes inflammation in animals. Selenium is a trace mineral that affects the health and performance of the body in stressful conditions There are limited studies on the effect of different doses of selenium in the conditions of long-term heat stress on immune system response and the expression of genes related to inflammation. The present study was conducted to determine the effects of different doses of selenium from a selenium-methionine supplement on immune system response and the expression of interferon-gamma, interleukin-2, and 6 genes in rats during the hot season.

**Materials and Methods:** In a completely randomized design, 25 female rats were randomly divided into five groups and five replicates. Five rats were placed in standard temperature during the experiment period After treating the relevant mice with selenium-methionine supplementation for 30 days, the expression of interleukin-2, interleukin-6, and interferon gamma genes was examined using Real Time PCR, and finally, the concentration of immunoglobulin G in the blood of the mice was evaluated using ELISA.

**Results:** Adding selenium supplements to the diet increased interferon gamma gene expression in mice under heat stress, with the highest gene expression corresponding to the 0.45 mg treatment ($P<0.05$). The relative expression of interleukin-2 gene in the groups receiving selenium supplements was lower than in the positive control group and higher than in the negative control group ($P<0.05$). Also, adding selenium supplements to the diet decreased interleukin-6 gene expression compared to the positive control treatment ($P<0.05$). The results also indicated an increase in immunoglobulin G concentration with the addition of selenium supplements to the diet.

**Conclusion:** The results of this study showed that the improvement in immune system response (increase in the concentration of immunoglobulin G), the increase in the gene expression of anti-inflammatory cytokines, and the decrease in the gene expression of inflammatory cytokines were observed with the addition of selenium-methionine supplement in the diet of rats under heat stress, and 0.45 mg of selenium from the selenium-methionine supplement is the best dose.

**Cite this article:** Ashrafi, H., Effects of Dietary Organic Selenium Levels on Immunoglobulin G Concentration and Expression of INF-γ, IL-2, and IL-6 Genes in Female Wistar Rats. Iranian Journal of Biological Sciences. 71-84
Publisher: Islamic Azad University of Varamin – Pishva branch Print ISSN: 1735-4226 Online ISSN: 1727-459X This is an open access article under the: https://creativecommons.org/license/by-nc/4.0/

مقاله تحقیقی
دانش زیستی ایران
https://zisti.iauvaramin.ac.ir

# اثرات افزودن سلنیوم آلی بر میزان ایمونوگلوبولین G و بیان ژن های اینترفرون گاما، اینترلوکین ۲ و ٦ در موش‌های ماده نژاد ویستار تحت تنش گرمایی

حمید اشرفی

دکترا، گروه علوم دامی واحد علوم و تحقیقات

محل انجام تحقیق: آزمایشگاه رازی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله | چکیده

**تاریخچه مقاله**

ارسال ۱٤۰۳/۰٤/۰٦
بازنگری ۱٤۰۳/۰۵/۰۷
پذیرش ۱٤۰۳/۰۵/۱۰
چاپ ۱٤۰۳/۱۰/۱۰

**کلمات کلیدی**

سلنیوم آلی
اینترفرون گاما
اینترلوکین۲
اینترلوکین٦
ایمونوگلوبولین G
موش ماده نژاد ویستار

* نویسنده مسؤل

ashrafihamid1071395@gmail.com

**مقدمه:** دمای بالای محیط سبب ایجاد التهاب در بدن حیوانات می¬شود. سلنیوم ماده معدنی کمیابی است که در شرایط تنش بر سلامتی و عملکرد بدن اثر دارد. پژوهش کنونی به منظور تعیین اثرات دوزهای مختلف سلنیوم از مکمل سلنیوم-متیونین بر پاسخ سیستم ایمنی و بیان ژن‌های اینترفرون گاما، اینترلوکین ۲ و ۶ انجام شد.

**مواد و روش ها:** ۲۵ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با سن ۴ هفته و وزن بدن ۱/۵۶ ± ۷۰ گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج گروه و هر گروه شامل پنج سر موش تقسیم شدند. تعداد ۵ سر موش در کل دوره آزمایش در دمای استاندارد و بقیه موش¬ها در تنش گرمایی قرار داده شدند. پس از تیمار موشهای مربوطه با مکمل سلنیوم-متیونین به مدت ۳۰ روز، بیان ژنهای اینترلوکین۲ ، اینترلوکین۶ و اینترفرون گاما با روش Real Time PCR در آنها مورد بررسی قرار گرفت و نهایتا غلظت ایمونوگلوبولین G در خون موشها توسط تست الایزا مورد ارزیابی قرار گرفت.

**نتایج:** افزودن مکمل سلنیوم به جیره سبب افزایش بیان ژن اینترفرون گاما در موش‌های تحت تنش گرمایی شد، به طوری که بالاترین بیان ژن مربوط به تیمار ۰/۴۵ میلی‌گرم بود (P>۰/۰۵). بیان نسبی ژن اینترلوکین۲ در گروه‌های دریافت کننده مکمل سلنیوم نسبت به گروه شاهد مثبت پایین‌تر و در مقایسه با گروه شاهد منفی بالاتر بود (P>۰/۰۵). همچنین افزودن مکمل سلنیوم به جیره سبب کاهش بیان ژن اینترلوکین۶ در مقایسه با تیمار شاهد مثبت گردید (P>۰/۰۵). همچنین نتایج حاکی از افزایش غلظت ایمونوگلوبولین G با افزودن مکمل سلنیوم به جیره بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان داد که بهبود در پاسخ سیستم ایمنی (افزایش غلظت ایمونوگلوبولین G)، افزایش بیان ژن سیتوکین‌های ضد التهابی و کاهش بیان ژن سیتوکین‌های التهابی با افزودن مکمل سلنیوم-متیونین در جیره موش‌های تحت تنش گرمایی مشاهده شد و ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیوم از مکمل سلنیوم-متیونین در هر کیلوگرم ماده خشک جیره بهترین دوز است.

شیوه آدرس دهی این مقاله : اشرفی ، ح.، اثرات افزودن سطوح مختلف سلنیوم آلی بر غلظت ایمونوگلوبولین G و بیان ژن¬های اینترفرون گاما، اینترلوکین ۲ و ٦ در موش‌های ماده نژاد ویستار تحت تنش گرمایی، مجله دانش زیستی ایران. ۱٤۰۲؛ ۱۸ (۴): ۷۱-۸۴

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین - پیشوا | شاپا چاپی: ۱۷۳۵-٤۲۲٦ | شاپا الکترونیکی: X ٤۵۹ - ۲۷۱۷

نویسندگان: حق مؤلف©

## مقدمه

سلنیوم یک ماده معدنی کمیاب است که برای حفظ عملکردهای فیزیولوژیکی طبیعی و سلامت حیوانات ضروری است. این عنصر نقشی حیاتی در دفاع آنتی‌اکسیدانی و سیستم ایمنی دارد (۱). در طول تنفس سلولی هوازی یا سازوکارهای دفاعی، رادیکال‌های آزاد به طور مداوم به عنوان محصول جانبی تولید می‌شوند. سطح اضافی رادیکال‌های آزاد ممکن است باعث آسیب اکسیداتیو به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها و حتی منجر به فرایندهای مرگ سلولی شود (۲). سلنوپروتئین‌ها گروهی از آنزیم‌های وابسته به سلنیوم هستند که از سلول‌ها در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تنش گرمایی، محافظت می‌کنند و باعث بهبود سیستم ایمنی می‌شوند (۳). خاک در بسیاری از مناطق جهان دارای سطوح پایینی از سلنیوم است و زیست فراهمی ضعیف آن برای گیاهان منجر به مشکلاتی در تأمین سلنیوم برای حیوانات مزرعه شده است (۴). حیواناتی که با جیره‌های حاوی مقادیر کم سلنیوم تغذیه می‌شوند و مکمل‌های معدنی دریافت نمی کنند، در برابر تنش گرمایی آسیب پذیر هستند (۲،۳). تنش گرمایی باعث ناباروری یا سقط‌های مکرر، اندومتریوز، سندرم تخمدان پلی کیستیک و سایر اختلالات مرتبط با بارداری می‌شود (۵). در فصول گرم سال در مناطق معتدل و بویژه در مناطق گرمسیری، دمای بالای محیط عامل اصلی تنش است که بر مصرف غذا، دریافت انرژی، دفع حرارت اضافی از بدن، مصرف آب، نظام هورمونی، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و تعادل مواد معدنی در انسان و حیوانات تأثیر می‌گذارد (۶). تنش گرمایی سبب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش غلظت مواد معدنی کمیاب سرم درگیر در دفاع آنتی‌اکسیدانی در بدن می‌شود (۷،۸). علاوه بر این، تنش گرمایی متابولیسم بدن را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش نیاز به مواد آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۶). برای جلوگیری از این امر، جیره‌های غذایی باید حاوی مقادیر کافی از سلنیوم باشند. منابع متداول سلنیوم شامل سلنیوم غیر آلی (سلنات سدیم و سلنیت سدیم) و سلنیوم آلی (مخمر غنی شده با سلنیوم، سلنومتیونین و غیره) می باشد (۹). تحقیقات نشان داده‌اند که سلنیوم آلی به شکل کارآمدتری در بافت‌های بدن ذخیره می شود و پاسخ عملکردی بهتری نسبت به مکمل های معدنی سلنیوم ایجاد می‌کند. نوع معدنی سلنیوم دارای زیست فراهمی حدود ۵۰ درصد می‌باشد، این در حالی است که زیست فراهمی برای سلنیوم-متیونین به بیش از ۹۵ درصد می‌رسد (۵). در صورت استفاده از دوزهای بالای سلنیوم غیر آلی، احتمال ایجاد مسمومیت وجود دارد، حال آنکه استفاده از انواع مکمل های آلی تا چند برابر دوز، مشکل مسمومیتی ایجاد نمی کند (۱۰). امروزه سلنیوم در حیوانات مزرعه به عنوان یک تقویت کننده ایمنی نقش دارد و به دلیل محدودیت‌هایی که در بسیاری از کشورها برای گنجاندن آنتی بیوتیک‌ها در رژیم غذایی اعمال می‌شود، حیاتی است (۱). نقش مهم سلنیوم در تنظیم عملکرد سیستم ایمنی ثابت شده است. این نقش اساسی در پاسخ سیستم ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی مشهود است و سطح پایین آن باعث تضعف سیستم ایمنی می‌شود. برخی از مطالعات نشان داده اند، سلنیوم بر سیستم ایمنی ذاتی (بیان ژن‌های سیتوکین التهابی) و سیستم ایمنی اکتسابی (تولید پادتن) تأثیر می‌گذارد (۱۱). از مهم‌ترین سیتوکین‌ها که در تنظیم فرایندهای التهابی نقش دارند می‌توان به اینترلوکین۲، ۶ و اینترفرون گاما اشاره کرد. هنگامی که بدن در حالت التهاب است، غلظت سلنیوم در بافت‌ها و مایعات بدن به شدت کاهش می یابد و بیوسنتز سلنوپروتئین‌ها مختل می‌شود. استفاده از مکمل سلنیوم باعث بهبود سیستم ایمنی بدن و کاهش فعالیت‌های التهابی می‌شود (۱۲). حداقل مقدار سلنیوم توصیه شده توسط انجمن تحقیقات ملی برای موش صحرایی ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم است(۱۳). این عدد حداقل مقدار سلنیوم مورد نیاز موش صحرایی در شرایط طبیعی است. در شرایط تنش مقدار نیاز به سلنیوم افزایش می یابد. با توجه به مقدار کم سلنیوم در مواد خوراکی، در این پژوهش مقادیر سلنیوم با منشا آلی در مقادیر ۰/۱۵ تا ۰/۴۵ میلی گرم مورد ارزیابی قرار گرفت. اثر افزودن دوزهای مختلف سلنیوم از مکمل سلنیوم-متیونین بر فراسنجه‌های ایمنی و بیان ژن سیتوکین‌ها در شرایط تنش گرمایی طولانی مدت، مطالعات محدودی انجام شده است (۱۴).

موش صحرایی با توجه به شرایط متابولیکی بدن مدل مناسبی برای حیوانات تک معده‌ای جهت بررسی اثرات تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی مواد معدنی است. بنابراین پژوهش حاضر به منظور تعیین اثرات دوزهای مختلف سلنیوم از مکمل سلنیوم-متیونین بر بیان ژن‌های اینترفرون گاما، اینترلوکین۲، اینترلوکین ۶ و سیستم ایمنی موش‌های در معرض تنش گرمایی به مدت یک ماه انجام شد.

## مواد و روش‌ها

**جمع آوری نمونه**

این مطالعه در حیوانخانه آزمایشگاه رازی واحد علوم و تحقیقات انجام شد. رویه‌های مربوط به جابجایی حیوانات، مراقبت، کار و جمع آوری نمونه‌ها کاملاً طبق دستورالعمل‌ها و نظارت آزمایشگاه رازی و با تصویب موضوع در معاونت پژوهشی واحد علوم و تحقیقات انجام شد.

**حیوانات مورد استفاده** این مطالعه به صورت تجربی و بر روی مدل حیوانی (موش صحرایی) انجام شد. موش‌های ماده نژاد ویستار از موسسه سرم‌سازی کرج خریداری و در قفس‌های بزرگ به صورت ۵ حیوان در یک قفس بزرگ با بستر پوسته برنج اتوکلاو شده نگهداری شدند. موش‌ها برای سازگاری با شرایط محیط به مدت یک هفته در حیوانخانه نگهداری و به طور آزادانه به غذای پلت استاندارد و آب آشامیدنی دسترسی داشتند. شرایط محیطی طی دوره سازگاری رطوبت (۵۰٪)، نور (سیکل۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی) و دمای۲±۳۱ درجه سلسیوس بود. در طرح کاملا تصادفی، ۲۵ سر موش صحرایی ماده با سن ۴ هفته و وزن بدن ۱/۵۶ ± ۷۰ گرم به طور تصادفی به پنج گروه و هر گروه پنج سر موش تقسیم شدند. تعداد ۵ سر موش در کل دوره آزمایش در دمای استاندارد نگهداری شدند و به عنوان گروه کنترل منفی در این آزمایش برچسب زده شدند. بقیه موش‌ها در شرایط رطوبت (۵۰٪)، نور (سیکل۱۲ساعت نور و ۱۲ساعت تاریکی) و دمای۲±۳۱ درجه سلسیوس طی ۱۸ ساعت و دمای ۲±۳۸ درجه سلسیوس به مدت ۶ ساعت در روز (جهت ایجاد تنش گرمایی) قرار داده شدند. طی مدت تنش گرمایی شاخص دما-رطوبت ۵۲ درجه سلسیوس بود. یکی از گروه‌ها در موش‌های تحت تنش گرمایی به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد و برچسب کنترل مثبت زده شد.

**گروه های آزمایشی** موش‌های گروه کنترل منفی و کنترل مثبت پلت استاندارد بدون افزودنی و چهار گروه دیگر به ترتیب پلت استاندارد به اضافه ۰/۱۵، ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم سلنیوم از مکمل سلنیوم-متیونین به مدت ۳۰ روز دریافت کردند. پلت استاندارد حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم عنصر سلنیوم در هر کیلوگرم ماده خشک بود. برای تهیه پلت حاوی مکمل سلنیوم-متیونین، ابتدا پلت‌های استاندارد آسیاب شد و پس از محاسبه ماده خشک، مقدار لازم از مکمل سلنیوم-متیونین افزوده و مجدد با دستگاه پلت ساز سرد، پلت گردید. برای هر دو گروه کنترل نیز پلت‌ها مجددا به همین شیوه آسیاب و از نو تهیه شد تا اثرات احتمالی عمل آوری بر بافت فیزیکی و ترکیب شیمیایی یکسان‌سازی شود (۱۵).

**نمونه‌گیری خون** در پایان مطالعه از بزرگ سیاهرگ زیرین موش‌های صحرایی خون‌گیری به عمل آمد. پس از بیهوش کردن با تزریق ۱/۵ میلی‌گرم کتامین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و پس از باز نمودن شکم، از بزرگ سیاهرگ زیرین با استفاده از سرنگ ۱۰ میلی لیتر نمونه خون تهیه شد. مقدار ۵ میلی لیتر خون در لوله عاری از ماده ضد انعقاد ریخته و سرم آن با سانتریفیوژ (1500 × g به مدت ۱۰ دقیقه) جدا شد و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس تا شروع آزمایش‌های بیوشیمیایی نگهداری گردید. باقیمانده نمونه خون در لوله استریل حاوی هپارین ریخته شد و در نیتروژن مایع قرار داده شد و تا شروع آزمایش‌های بیان ژن در دمای ۷۰ - درجه سانتی گراد نگهداری شد (۱۶).

**آنالیز بیان ژن‌های اینترفرون گاما، اینترلوکین ۲و۶**

نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده از موش‌ها در نیتروژن مایع قرار داده شد و در دمای منفی ۷۰ درجه سلسیوس تا استخراج mRNA کل نگهداری شد. از نمونه‌های خون جمع آوری شده از موش‌های صحرایی، استخراج mRNA کل با استفاده از کیت (RNeasy® Mini Qiagen، Germany،Hilden) انجام شد. mRNAکل استخراج شده، جمع‌آوری و در دمای منفی ۷۵ درجه درجه سلسیوس قرار داده شد و سپس برای ساخت cDNA به کار برده شد. cDNA مطابق دستورالعمل کیت تولید شده توسط شرکتBioNeer (سئول، کره جنوبی) سنتز شد. توالی ژن‌های اینترلوکین۲، ۶، اینترفرون گاما و GADPH با استفاده از پایگاه داده‌های ژنی مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) و توالی‌های گزارش شده قبلی تهیه شد (۱۷). از ژنGADPH به عنوان ژن خانه‌دار و شاهد داخلی یا ژن مرجع استفاده شد. پس از تهیه توالی ژن‌ها، پرایمرهای اختصاصی ژن توسط نرم افزار primer express طراحی و توسط شرکتBioNeer (سئول، کره جنوبی) سنتز شدند. مشخصات پرایمر سیتوکین‌ها و ژن مرجع در جدول ۱ نشان داده شده است. انجام تست ریل تایم PCR با استفاده از سیستم Real-Time PCR(Applied Bio systems, Foster City, CA) صورت پذیرفت. شرایط چرخه حرارتی شامل فعال سازی آنزیم در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ چرخه واسرشتی در دمای ۹۵ درجه سلسیوس برای ۱۵ ثانیه و در دمای ۵۶ درجه سلسیوس برای ۲۰ ثانیه ذوب پرایمری و گسترش در دمای ۷۲ درجه سلسیوس برای ۳۰ ثانیه انجام شد. نسبت بیان نسبی ژن‌های اینترلوکین۲، ۶ و اینترفرون گاما به عنوان ژن‌های هدف به ژن GADPH بر اساس روش لاویک و اشمیتگن (۱۸) نرمال شد.

جدول ۱: خصوصیات پرایمر سیتوکین‌ها و ژن مرجع در تست Real-time PCR

| Genes | Primer Sequence (5′ - 3′) | Amplicon size (bp) |
|---|---|---|
| *Interleukin-2* | F-ATGTACAAGATACAACTCTTGTCTT<br>R-GTCATTGTTGAGTAGATGCTTTGAC | 168 |
| *Interleukin-6* | F-CCAGAAATCCCTCCTCGCCAATC<br>R-CCCTCACGGTCTTCTCCATAAACG | 220 |
| *Interferon-γ* | F -ACACTCAGGTCATCTTCTCAAGCC<br>R -CAGGGCGATGATCCCAAAGTAGAC | 212 |
| *GADPH* | F-ATCACTGCCACCCAGAAGACT<br>R-CATGCCAGTGAGCTTCCCGTT | 200 |

F=Forward, R=Reverse, GADPH=Glyceraldehyde3-phosphate dehydrogenase

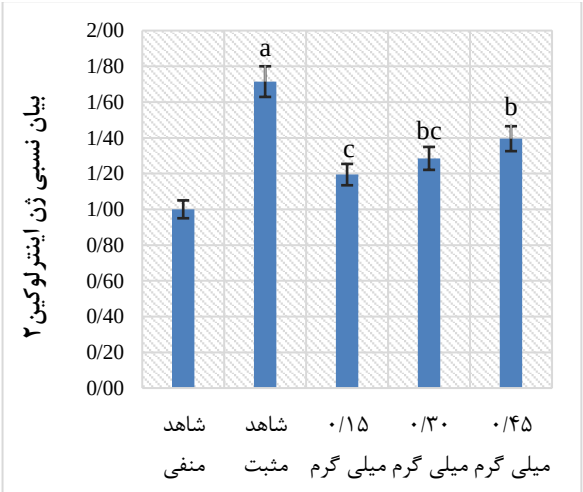
**تیتر آنتی بادی**

نمونه‌های سرمی جمع‌آوری‌شده از موش‌ها برای اندازه‌گیری غلظت ایمونوگلوبولین G با استفاده از کیت‌های الایزا و روش توصیف شده توسط Voller و همکاران (۱۹) به شرح ذیل انجام شد و نهایتا نتایج با استفاده از اسپکتروفتومتر به صورت جذب در ۴۰۰ نانومتر بیان شد. آنالیز آماری تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از رویه‌ی مدل خطی تعمیم یافته نرم افزار SAS برای ویندوز، نسخه ۹/۴ (SAS Institute Inc., Cary, NC) انجام شد. برای ارزیابی نرمال بودن داده‌ها قبل از آنالیز واریانس از آزمون شاپیرو-ویلک استفاده شد. از تبدیل باکس کاکس برای نرمال سازی آنها استفاده شد. داده‌های نرمال بر اساس آنالیز واریانس مناسب در قالب طرح کاملاً تصادفی برای تعیین تأثیر گروه‌های تیمار بر صفات با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ ( SAS Institute Inc., Cary, NC) ، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. تفاوت‌های آماری با سطح احتمال ۵ درصد اعلام شد.

## نتایج

### بیان ژن اینترلوکین ۲

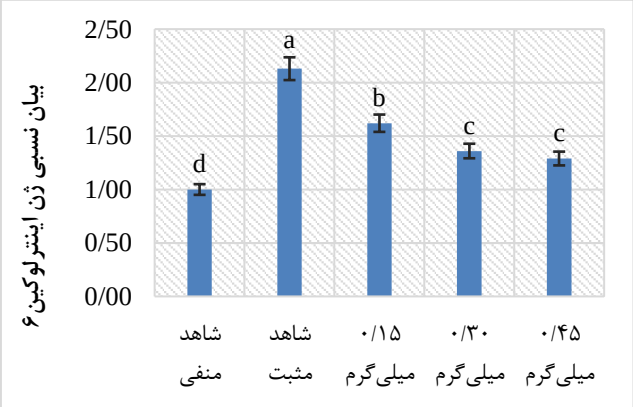
بین تیمارهای مختلف از لحاظ بیان ژن اینترلوکین۲ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیان ژن اینترلوکین۲ در تیمار شاهد مثبت به‌طور معنی‌داری بالاتر از بیان آن در تیمار شاهد منفی بود. بیان ژن اینترلوکین۲ در موش‌های تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل سلنیوم در مقایسه با موش‌های گروه شاهد منفی به‌طور معنی‌داری بالاتر و در مقایسه با موش‌های گروه شاهد مثبت به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود. بین تیمارهای حاوی مکمل سلنیوم تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵)، به‌طوری که بالاترین بیان ژن اینترلوکین۲ مربوط به تیمار حاوی ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیوم و کمترین بیان ژن مربوط به تیمار حاوی ۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم بود. به‌طور کلی نتایج حاکی از یک روند افزایشی در بیان ژن اینترلوکین۲ با افزایش سطح مکمل سلنیوم می‌باشد. حاوی ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیوم و کمترین بیان ژن مربوط به تیمار حاوی ۰/۱۵ میلی‌گرم سلنیوم بود. به‌طور کلی نتایج حاکی از یک




**نمودار ۱:** بیان نسبی ژن اینترلوکین۲ در موش‌های تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل سلنیوم-متیونین. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها می باشد (P<۰/۰۵).

### بیان ژن اینترلوکین۶

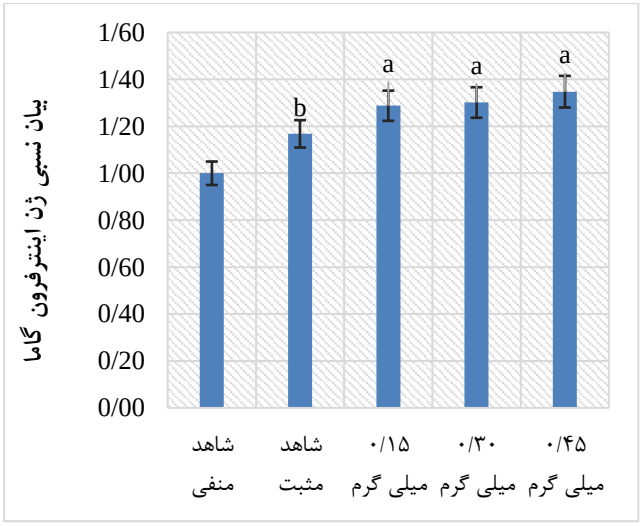
آزمون مقایسه میانگین بیان ژن اینترلوکین۶، اختلاف معنی¬داری را در بین تیمارهای مختلف نشان داد (P<۰/۰۵). بیان ژن اینترلوکین۶ تیمار شاهد مثبت در مقایسه با تیمار شاهد منفی به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. موش‌های دریافت‌کننده سطوح مختلف مکمل سلنیوم در مقایسه با موش‌های گروه شاهد مثبت، به‌طور معنی‌داری بیان اینترلوکین۶ پایین‌تر و در مقایسه با موش‌های گروه شاهد منفی بیان ژن اینترلوکین۶ بالاتری داشتند. همچنین بین موش‌های دریافت‌کننده سطوح مختلف مکمل سلنیوم از لحاظ بیان ژن اینترلوکین۶ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد(P<۰/۰۵). بالاترین میزان بیان ژن اینترلوکین۶ مربوط به تیمار حاوی ۰/۱۵ میلی‌گرم و کمترین بیان ژن اینترلوکین۶ مربوط به تیمار ۰/۴۵ میلی‌گرم بود. بین تیمارهای ۰/۳۰ و ۰/۴۵ میلی‌گرم هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).




**نمودار ۲:** بیان نسبی ژن اینترلوکین۶ در موش‌های تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل سلنیوم-متیونین. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها می باشد (P>۰/۰۵).

**بیان ژن اینترفرون گاما**

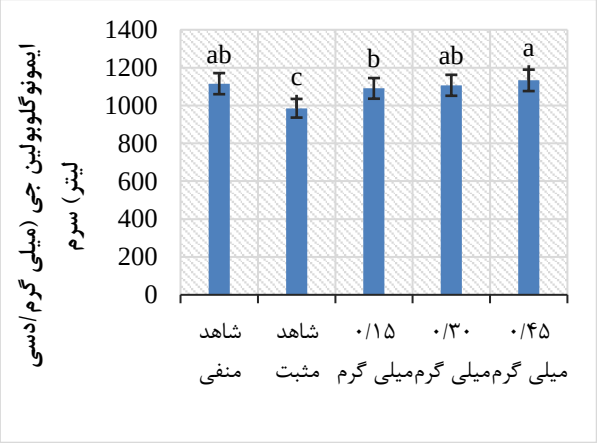
آزمون مقایسه میانگین بیان ژن اینترفرون گاما، تفاوت معنی داری را در بین تیمارهای مختلف نشان داد (P<۰/۰۵). تیمار شاهد مثبت در مقایسه با تیمار شاهد منفی به‌طور معنی‌داری بیان ژن اینترفرون گامای بالاتری داشت. موش‌های دریافت‌کننده سطوح مختلف مکمل سلنیوم در مقایسه با موش‌های گروه شاهد منفی و شاهد مثبت، بیان ژن اینترفرون گامای بالاتری داشتند. هرچندکه بین موش‌های دریافت‌کننده سطوح مختلف مکمل سلنیوم از لحاظ بیان ژن اینترفرون گاما تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده نشد، اما افزایش سطح مکمل سلنیوم باعث افزایش بیان ژن اینترفرون گاما شد. به‌طوری که بالاترین بیان ژن مربوط به سطح ۰/۴۵ میلی‌گرم و کمترین بیان ژن اینترفرون گاما مربوط به سطح ۰/۱۵ میلی‌گرم بود.




نمودار ۳. بیان نسبی ژن اینترفرون گاما در موش‌های تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل سلنیوم-متیونین. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها می باشد (P<۰/۰۵).

**غلظت ایمونوگلوبولین G**

آزمون مقایسه میانگین میزان ایمونوگلوبولین G، تفاوت معنی¬داری را در بین تیمارهای مختلف نشان داد (P<۰/۰۵). تفاوت معنی‌داری از لحاظ ایمونوگلوبولین G بین تیمارهای شاهد مثبت و منفی مشاهده شد (P <۰/۰۵). میزان ایمونوگلوبولین G موش‌های دریافت‌کننده سطوح مختلف مکمل سلنیوم به‌طور معنی‌داری در مقایسه با موش‌های گروه شاهد مثبت بالاتر بود، هر چند در مقایسه با موش‌های گروه شاهد منفی تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. به‌طور کلی یک روند افزایشی در میزان ایمونوگلوبین G با افزایش سطح مکمل سلنیوم در موش‌ها مشاهده شد.




**نمودار ۴**: میزان ایمونوگلوبولین G در موش‌های تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل سلنیوم-متیونین. حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین ها می باشد (P<۰/۰۵).

## بحث

سلنیوم سیستم ایمنی ذاتی (غیراختصاصی) و اکتسابی (اختصاصی) را تحت تأثیر قرار می‌دهد و تأثیر گسترده‌ای در واسطه‌های اصلی سیستم ایمنی مانند سیتوکین‌ها و آنزیم‌ها برای تقویت پاسخ‌های ایمنی از طریق فعال سازی ایمنی سلولی و هومورال دارد (۱۱). سیتوکین‌ها، پروتئین‌ها یا گلیکوپروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم هستند، که از سلول‌های ایمنی ترشح شده و عملکردهای زیادی مانند میانجیگری و تنظیم پاسخ‌های ایمنی و پاسخ‌های التهابی را در بدن به عهده دارند (۱۱). اینترلوکین۲ و اینترفرون گاما به‌طور گسترده‌ای به عنوان عوامل تحریک‌کننده تکثیر و فعال‌سازی سلول‌های T معرفی شده‌اند (۲۰). اینترلوکین۲ یک سیتوکین مترشحه از سیستم ایمنی است که تنظیم‌کننده فعالیت سلول‌های سفید خون از جمله لنفوسیت‌ها و لکوسیت‌ها می‌باشد. سلنیوم با افزایش تعداد گیرنده‌های اینترلوکین۲ در سطح لنفوسیت‌های فعال و کشنده، برای افزایش و تمایز سلول‌های کشنده ضروری است (۲۱). اینترلوکین۶ که یک سیتوکین مترشحه از سلول‌های سفید است تنظیم‌کننده فرایندهای التهابی است و در مسیرهای وابسته به گونه‌های فعال اکسیژن تولید می‌شود (۲۲). افزودن مکمل سلنیوم به جیره جوجه های گوشتی سبب افزایش محتوای اینترلوکین۲ و اینترفرون گاما در سرم خون و طحال جوجه‌ها شد (۲۳،۲۴). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مکمل آلی سلنیوم می‌تواند بیان نسبی ژن‌های اینترلوکین۲ و اینترفرون گاما را در سرم موش‌ها افزایش دهد. در موافقت با یافته‌های ما، Luan و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که در سلول‌های قرمز جوجه، به دلیل کمبود سلنیوم، بیان ۷ سیتوکین از جمله اینترلوکین۲، اینترفرون گاما کاهش و بیان ژن اینترلوکین۶ افزایش یافت(۱۶). Liu و همکاران (۲۰۲۰) نیز افزایش بیان ژن‌های اینترفرون گاما و اینترلوکین۲ را در موش‌ها با افزایش سطح مکمل سلنیوم مشاهده کردند (۲۵). سلنیوم با افزایش تعداد گیرنده‌های اینترلوکین۲ در سطح لنفوسیت‌های فعال و کشنده، برای افزایش و تمایز سلول‌های کشنده ضروری است. در این تحقیق بیان ژن اینترلوکین۲ و اینترفرون گاما در موش‌های گروه شاهد مثبت در مقایسه با موش‌های شاهد منفی به‌طور معنی‌داری بالاتر بود که با نتایج Meissonnier و همکاران (۲۰۰۸) که افزایش بیان ژن اینترلوکین۲ و اینترفرون گاما را در طحال خوک‌های در معرض تنش مشاهده کردند، مطابقت دارد(۲۶). دلیل بالا بودن بیان ژن اینترلوکین۲ در موش‌های شاهد مثبت به این دلیل است که موش‌ها در این گروه در شرایط تنش گرمایی به سر می‌برند و همچنین جیره‌های آن‌ها بدون مکمل سلنیوم می‌باشد. در این شرایط به دلیل وجود تنش گرمایی، در موش‌ها تنش اکسیداتیو رخ داده است. تنش اکسیداتیو شرایط را به سمت افزایش بیان ژن سیتوکین‌های پیش التهابی مانند اینترلوکین۲ پیش می‌برد. با افزودن مکمل سلنیوم به جیره این موش‌ها، افزایش بی‌رویه بیان ژن اینترلوکین۲ مهار می‌شود. پس از آن با افزایش سطح مکمل سلنیوم، بیان ژن اینترلوکین۲ به صورت جزیی افزایش می‌یابد، زیرا اینترلوکین۲ دارای فعالیت‌های پیش التهابی و ضد التهابی می‌باشد (۲۷). به‌طور کلی یک تعادل دینامیک و قابل تغییر در دو جهت بین سیتوکین‌های پیش التهابی و ترکیبات ضدالتهابی سیستم ایمنی وجود دارد هرگونه تغییر در این تعادل باعث بروز اثرهای خطرناکی برای موجودات می‌شود به‌طوری که اگر تعادل به سمت سیتوکین‌های پیش التهابی جابجا شود منجر به بیماری‌های خودالتهابی و آسیب بافتی می‌شود و در صورت جابجایی تعادل به سمت سیتوکین‌ها و ترکیبات ضدالتهابی باعث قرار گرفتن میزبان در خطر آلودگی سیستمیک می‌شود (۲۸). تنش گرمایی می‌تواند بر سیستم ایمنی تأثیر بگذارد و منجر به بروز پاسخ‌های التهابی و تنش اکسیداتیو شود (۷). سلنیوم یک ریز مغذی با عملکردهای متعدد مانند آنتی‌اکسیدان و توانایی‌های تقویت سیستم ایمنی است. در این تحقیق با افزایش سطح مکمل سلنیوم در جیره موش‌های تحت تنش گرمایی، بیان ژن اینترلوکین۶ کاهش پیدا کرد. در واقع این مطالعه نشان داد که تنش گرمایی به‌طور قابل توجهی باعث افزایش بیان سیتوکین‌های التهابی می‌شود. در این مطالعه ما دریافتیم که مکمل سلنیوم-متیونین به‌طور قابل توجهی بیان اینترلوکین۶ را کاهش می‌دهد.

عملکرد ضد التهابی سلنیوم به دلیل حضور آن در مرکز فعال سلنوپروتئین‌ها مانند گلوتاتیون پراکسیداز می‌باشد که اکسیداسیون ناشی از تغییرات التهابی در کبد را کاهش می‌دهد (۲۱). در جوجه‌های گوشتی تجاری، کمبود سلنیوم باعث افزایش سطح سیتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین۶ و اینترلوکین۱ بتا شد. در مقابل، سیتوکین‌های ضد التهابی مانند اینترفرون گاما به‌طور قابل توجهی مهار شدند (۲۹). Zheng و همکاران (۲۰۲۰) در تحقیق خود مشاهده کردند، غلظت اینترلوکین۶ در غدد پستانی موش‌های تحت تنش گرمایی به بالاترین مقدار خود رسید(۳۰). زمانی که به جیره این موش‌ها مکمل سلنیوم-متیونین افزوده شد، غلظت اینترلوکین۶ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، که با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد. کمبود سلنیوم با تنظیم مسیرهای مرتبط با گیرنده‌های تال-لایک در غدد پستانی موش باعث افزایش پاسخ‌های التهابی می‌شود (۳۱). توانایی سلنیوم در کاهش واکنش‌های التهابی با کاهش سیتوکین‌های التهابی از جمله اینترلوکین۶ انجام می‌گیرد. کاهش واکنش‌های التهابی ارتباط نزدیکی با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن دارد. در سیستم آنتی‌اکسیدانی حیوانات آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیدازها، سوپراکسید دیسموتاز و تیورودکسین رودکتازها سلنو پروتئین هایی هستند که فعالیت بهینه آن‌ها در کاهش التهاب ناشی از تنش گرمایی بستگی به ذخایر کافی سلنیوم در بدن بستگی دارد، زیرا سلنیوم یک کوفاکتور ضروری در آنزیم‌های کلیدی درگیر در دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی است (۱۱). Abdel-Moneim و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده کردند که افزودن مکمل سلنیوم از تنظیم افزایشی شش ژن مرتبط با التهاب ناشی از تنش گرمایی از جمله اینترلوکین۶ در جوجه‌ها جلوگیری می‌کند (۳۲). مکمل‌های آلی سلنیوم در مقایسه با سلنیوم غیرآلی، باعث کاهش بیان ژن‌های التهابی مانند اینترلوکین۶ و تقویت بیشتر سیستم ایمنی شدند (۳۳). در مقایسه با گروه تنش گرمایی، مکمل سلنیوم باعث کاهش بیان سیتوکین‌های پیش‌التهابی کبد مانند اینترلوکین۶ و فاکتور هسته‌ای کاپا شد و به سطوحی مشابه با گروه شاهدی رسید که در معرض تنش گرمایی قرار نداشتند (۳۴). Liu و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده کردند، تیمار با سلنیوم آلی در موش هایی که در معرض تنش گرمایی قرار گرفتند، بیان بیش از حد اینترلوکین۶ و فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا، مهار شدند (۲۵). آنها نتیجه گرفتند، جیره‌های غذایی مکمل شده با سلنیوم آلی، موش‌ها را در برابر آسیب‌های ناشی از تنش گرمایی محافظت کرده و پاسخ التهابی را کاهش می‌دهد. این یافته‌ها با گزارش‌های قبلی مبنی بر خواص ضدالتهابی سلنیوم مطابقت دارد. عملکرد ضد التهابی سلنیوم ممکن است به دلیل وجود سلنوپروتئین‌های خاص مانند گلوتاتیون پراکسیداز باشدکه تغییرات التهابی ناشی از اکسیداسیون را در کبد کاهش می‌دهند. سلنیوم می‌تواند با تنظیم کردن توانایی سلول‌های فعال ایمنی برای پاسخ به التهاب، ایمنی را بهبود بخشد (۲۷). هنگامی که یک حیوان تحت تنش گرمایی قرار می‌گیرد، مسیرسیگنال‌دهی فاکتور هسته‌ای کاپا B بیان ژن‌های التهابی را آغاز می‌کند و اینترلوکین۶ و سایر سیتوکین‌های التهابی را تولید می‌کند علاوه بر این، تنش گرمایی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال موش‌ها را فعال می‌کند که آن نیز به نوبه خود تولید و آزادسازی سیتوکین‌های ضد التهابی را مهار می‌کند و تعادل بین سیتوکین‌های التهابی و ضد التهابی را مختل می‌کند. سلنیوم فعال‌سازی مسیر سیگنال‌دهی NF-kB و MAPK را که نقش محوری در تنظیم مسیرهای التهابی ایفا می‌کند، کنترل می‌کند. همچنین می‌تواند NF-kB را از اتصال ژن‌های مربوط به التهاب مهار کند، که در نهایت بیان ژن سیتوکین‌های التهابی را کاهش می‌دهد (۲۵). ایمونوگلوبولین‌ها توسط سلول‌های پلاسما ترشح می‌شوند و می‌توانند به آنتی‌ژن‌های خاصی متصل‌شوند تا از بدن محافظت کنند (۳۵). تجویز سلنیوم پاسخ ایمنی سلولی و هومورال را افزایش می‌دهد (۳۶). گزارش شده است که نانو سلنیوم با افزایش لنفوسیت‌های T، ایمونوگلوبولین Gو ایمونوگلوبولین M می‌تواند پاسخ ایمنی سلولی را فعال کند. همچنین پاسخ ایمنی را با واسطه آنتی‌بادی هم تقویت می کند. ایمونوگلوبولین G یک آنتی‌بادی است که تقریباً ۷۵ درصد از کل آنتی بادی‌های سرم را شامل می‌شود و نقشی حیاتی در ایمنی هومورال ایفا می‌کند (۳۷). همانطور که در نمودار ۴ مشاهده می‌شود افزودن مکمل سلنیوم به جیره موش‌های تحت تنش گرمایی، باعث افزایش معنی‌داری در غلظت ایمونوگلوبولین G

سرم

می‌شود. افزایش غلظت ایمونوگلوبولین G سرم در موش‌های گروه‌های تغذیه شده با سطوح مختلف مکمل سلنیوم در مقایسه با موش‌های گروه شاهد مثبت، نشان دهنده ایمن سازی موفق است. مطابق با یافته‌های ما، Li و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که استفاده از مکمل سلنیوم آلی باعث افزایش غلظت ایمونوگلوبولین‌های G در سرم خوک‌های ماده جوان شد(۳۸). آنها همچنین بیان کردند که افزایش غلظت ایمونوگلوبین G در سرم به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه‌های بدون مکمل سلنیوم و سلنیت سدیم بیشتر بود. مطابق با یافته‌های ما، Ren و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده کردند، گاواژ گلیسین نانو سلنیوم به موش‌ها باعث افزایش معنی‌داری در غلظت ایمونوگلوبولین‌های A، G و M سرم در مقایسه با موش‌های گروه شاهد (بدون مکمل سلنیوم) شد (۷). آن‌ها همچنین بیان کردند که افزایش سطح مکمل سلنیوم باعث افزایش غلظت سرمی ایمونوگلوبولین‌ها شد. در مطالعه حاضر، افزودن مکمل سلنیوم آلی به جیره موش‌های تحت تنش گرمایی باعث افزایش معنی‌داری در غلظت ایمونوگلوبولین G سرم موش‌ها شد، به‌طوری که بالاترین غلظت ایمونوگلوبولین G به موش‌های تیمار ۰/۴۵ میلی‌گرم تعلق داشت. افزودن مکمل سلنیوم-متیونین به جیره می‌تواند کارایی خوراک جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی را بهبود بخشد و ایمنی سلولی و ایمنی هومورال را افزایش دهد (۳۹). تنش گرمایی به‌طور قابل توجهی کیفیت نسبی اندام‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی و پاسخ‌های آنتی‌بادی اولیه و ثانویه به سلول‌های قرمز خون آنها را کاهش داد، در حالی که مکمل سلنیوم در جیره غذایی به‌طور مؤثری تأثیر منفی تنش گرمایی بر پاسخ‌های آنتی‌بادی ثانویه سلول قرمز را کاهش داد (۴۰). مکمل سلنیوم بر تیتر آنتی‌بادی سرم واکسن ضد نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی تأثیری نداشت ولی تیتر آنتی‌بادی ضد $H_5N_1$ سرم با افزایش سطح مکمل سلنیوم در جیره افزایش یافت. علاوه بر این، سلنیوم آلی اثر بهتری بر تیتر آنتی‌بادی داشت، که نشان می‌دهد استفاده از یک منبع مکمل سلنیوم خاص می‌تواند عملکرد ایمنی جوجه‌های گوشتی تحت تنش گرمایی را بهبود بخشد (۲۰). Rao و همکاران (۲۰۱۶) دریافتند که مکمل‌های آلی سلنیوم می‌توانند عملکرد سیستم ایمنی طیور را با بهبود توانایی سلول‌های فعال ایمنی برای مقاومت در برابر عفونت افزایش دهند (۴۱). ۰/۲۵ قسمت در میلیون سلنیوم می‌تواند عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی را به‌طور قابل توجهی بهبود بخشد، پاسخ ایمنی و رشد اندام‌های لنفاوی آنها را تقویت کند و همچنین می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم و نسبت لنفوسیت‌ها را افزایش دهد که باعث افزایش تولید ایمونوگلوبولین‌ها می‌شود. به‌طور مشابه، Kamada و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند، غلظت ایمونوگلوبولین G سرم با گنجاندن سلنیوم در جیره غذایی، به‌طور چشمگیری در گوساله‌های شیرخوار افزایش می‌یابد(۴۲). گزارش‌های قبلی نشان داده‌اند که مکمل سلنیوم می‌تواند باعث افزایش تکثیر لنفوسیت‌ها شود که توضیح بهتری در مورد افزایش غلظت ایمونوگلوبولین G در مطالعه حاضر است، زیرا آنتی‌بادی‌ها توسط لنفوسیت‌های Bاز طریق سلول‌های پلاسما سنتز می‌شوند. تأمین سلنیوم کافی از جیره غذایی به لنفوسیت‌های T و B اجازه فعال شدن و عملکرد بهتر را می‌دهد و در نتیجه تولید آنتی‌بادی از لنفوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (۵). هنگامی که سلنیوم به اندازه کافی تأمین نمی‌شود، تکثیر لنفوسیت‌ها در پاسخ به میتوژن‌ها کاهش می‌یابد (۵). سلول‌های ایمنی غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع چندگانه می باشد که مستعد حمله رادیکال‌های آزاد است، در نتیجه سلنیوم با خواص آنتی‌اکسیدانی مانع از اکسیداسیون آن‌ها شده و باعث می‌شود که این سلول‌ها پادتن بیشتری تولید کنند (۱۱). مصرف سلنیوم همچنین بر ایمنی هومورال تأثیر می‌گذارد، زیرا گزارش شده است، کمبود سلنیوم در انسان باعث کاهش ترشح ایمونوگلوبولین‌های G و M از لنفوسیت‌های B می‌شود (۴۳). همچنین سلنیوم بر سطوح ایمونوگلوبولین G، ایمونوگلوبولین M و ایمونوگلوبولین A خون و عملکرد سلول‌های T اثر دارد. احتمالا به دلیل کاهش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز، فعالیت و طول عمر نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها در بدن حیواناتی که در معرض کمبود سلنیوم قرار دارند کمتر است (۷).

## نتیجه گیری

بنابر نتایج این پژوهش تنش گرمایی سبب ایجاد التهاب در بدن می‌شود و تغییرات نامطلوبی را در سیستم ایمنی بدن موش‌ها ایجاد می کند. همچنین افزودن مکمل سلنیوم-متیونین به جیره موش‌های صحرایی نژاد ویستار، سبب کاهش بیان ژن التهابی اینترلوکین۶ و افزایش بیان ژن‌های ضد التهابی اینترلوکین۲ و اینترفرون گاما شد که نشان‌دهنده کاهش التهاب و کاهش اثرات تنش گرمایی در بدن موش‌های صحرایی می‌باشد و ۰/۴۵ میلی‌گرم سلنیوم در هر کیلوگرم ماده خشک جیره از مکمل سلنیوم-متیونین بهترین دوز است.

## تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند هیچ تعارض منافعی در انجام این مطالعه وجود نداشته است.

## Reference

1. Pecoraro BM, Leal DF, Frias-De-Diego A, Browning M, Odle J, Crisci E. The health benefits of selenium in food animals: a review. Journal of animal science and biotechnology. 2022 May 13;13(1):58. Doi: 10.1186/s40104-022-00706-2.
2. Surai PF. Organic selenium vs. its combination with sodium selenite in poultry nutrition: food for thoughts. Poult Sci. 2021 Oct;100(10):101311. Doi: 10.1016/j.psj.2021.101311.
3. Ashrafi H., Sadeghi A.A., Chamani M. Effect of selenium supplementation on antioxidant indices and metabolism-related hormones in rats exposed to heat stress. Iranian Journal of Biological Sciences. 2023; 17(4): 35-47. Doi: 10.30495/zisti.2023.1974656.1147.
4. Jones GD, Droz B, Greve P, Gottschalk P, Poffet D, McGrath SP, Seneviratne SI, Smith P, Winkel LH. Selenium deficiency risk predicted to increase under future climate change. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2017 Mar 14;114(11):2848-53. Doi: 10.1073/pnas.1611576114.
5. Milewski S, Sobiech P, Błażejak-Grabowska J, Wójcik R, Żarczyńska K, Miciński J, Ząbek K. The efficacy of a long-acting injectable selenium preparation administered to pregnant ewes and lambs. Animals. 2021 Apr 9;11(4):1076. Doi: 10.3390/ani11041076. PMID: 33918972; PMCID: PMC8070106.
6. Belhadj Slimen I, Najar T, Ghram A, Abdrrabba MJ. Heat stress effects on livestock: molecular, cellular and metabolic aspects, a review. Journal of animal physiology and animal nutrition. 2016 Jun ;100(3):401-12. Doi: 10.1111/jpn.12379.
7. Ren Z, Okyere SK, Zhang M, Zhang X, He H, Hu Y. Glycine nano-selenium enhances immunoglobulin and cytokine production in mice immunized with H9N2 avian influenza virus vaccine. International Journal of Molecular Sciences. 2022 Jul 18;23(14):7914. Doi: 10.3390/ijms23147914.
8. Jamei M, Sadeghi AA, Chamani M. The effect of zinc-methionine supplementation on antioxidant status and expression of interleukin-4 and interleukin-6 genes in female rats under heat stress. Iranian Journal of Biological Sciences. 2022; 17(3):29-39. Doi: 10.30495/zisti.2023.1973380.1144.
9. Shi L, Ren Y, Zhang C, Yue W, Lei F. Effects of organic selenium (Se-enriched yeast) supplementation in gestation diet on antioxidant status, hormone profile and haemato-biochemical parameters in Taihang Black Goats. Animal Feed

Science and Technology. 2018 Apr 1; 238:57-65. DOI: 10.1016/ j. anifeedsci. 2018.02.004.
10. Bogye G, Alfthan G, Machay T. Randomized clinical trial of enteral yeast-selenium supplementation in preterm infants. Biofactors. 1998;8(1-2):139-42. Doi: 10.1002/biof.5520080123.
11. Zoidis E, Seremelis I, Kontopoulos N, Danezis GP. Selenium-dependent antioxidant enzymes: Actions and properties of selenoproteins. Antioxidants. 2018 May 14;7(5):66. Doi: 10.3390/antiox7050066.
12. Mehdi Y, Dufrasne I. Selenium in cattle: a review. Molecules. 2016 Apr 23;21(4):545. Doi: 10. 3390/molecules21040545.
13. Novoselec J, Klir Šalavardić Ž, Đidara M, Novoselec M, Vuković R, Ćavar S, Antunović Z. The effect of maternal dietary selenium supplementation on blood antioxidant and metabolic status of ewes and their lambs. Antioxidants. 2022 Aug 26;11(9):1664. doi: 10.3390/antiox11091664.
14. Gu X, Gao CQ. New horizons for selenium in animal nutrition and functional foods. Animal Nutrition. 6-80: 11; 2022. DOI: 10.1016/j.aninu.2022.06.013.
15. Almeida LM, Bassi LS, Santos RO, Orlando UA, Maiorka A, Oliveira SG. Effect of feed form and heat processing on the growth performance of growing and finishing pigs. Livestock Science. 2021 Mar 1; 245:104430.
16. Luan Y, Zhao J, Yao H, Zhao X, Fan R, Zhao W, Zhang Z, Xu S. Selenium deficiency influences the mRNA expression of selenoproteins and cytokines in chicken erythrocytes. Biological trace element research. 2016 Jun; 171:427-36. Doi: 10.1007/s12011-015-0536-8.
17. Rawash RA, Sharaby MA, Hassan GE, Elkomy AE, Hafez EE, Hafsa SH, Salem MM. Expression profiling of HSP 70 and interleukins 2, 6 and 12 genes of Barki sheep during summer and winter seasons in two different locations. International journal of biometeorology. 2022 Oct;66(10):2047-53. DOI: 10.1007/s00484-022-02339-6.
18. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2− ΔΔCT method. methods. 2001 Dec 1;25(4):402-8. Doi: 10.1006/meth.2001.1262.
19. Voller A, Bidwell DE, Bartlett A, Fleck DG, Perkins M, Oladehin B. A microplate enzyme-immunoassay for toxoplasma antibody. Journal of clinical pathology. 1976 Feb 1;29(2):150-3. Doi: 10. 1136/ jcp. 29. 2.150.
20. Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne B, Kuby J (2000) Kuby immunology, 4th edn. WH Freeman and Company, New York, pp 303–327.
21. Liao X, Lu L, Li S, Liu S, Zhang L, Wang G, Li A, Luo X. Effects of selenium source and level on growth performance, tissue selenium concentrations, antioxidation, and immune functions of heat-stressed broilers. Biological Trace Element Research. 2012 Dec; 150:158-65. Doi: 10.1007/s12011-012-9517-3.
22. Xu T, Deng R, Li X, Zhang Y, Gao MQ. RNA-seq analysis of different inflammatory reactions induced by lipopolysaccharide and lipoteichoic acid in bovine mammary epithelial cells. Microbial pathogenesis. 2019 May 1; 130:169-77. Doi: 10.1016/j.micpath.2019.03.015.
23. Chen K, Yuan S, Chen J, Peng X, Wang F, Cui H, Fang J. Effects of sodium selenite on the decreased percentage of T cell subsets, contents of serum IL-2 and IFN-γ induced by aflatoxin B1 in broilers. Research in veterinary science. 2013 Aug 1;95(1):143-5. Doi: 10.1016/j.rvsc.2013.02.019.
24. Xu D, Li W, Huang Y, He J, Tian Y. The effect of selenium and polysaccharide of Atractylodes macrocephala Koidz. (PAMK) on immune response in chicken spleen under heat stress. Biological Trace Element Research. 2014 Aug; 160:232-7. Doi: 10.1007/s12011-014-0056-y. Epub 2014 Jun 26.
25. Liu K, Ding T, Fang L, Cui L, Li J, Meng X, Zhu G, Qian C, Wang H, Li J. Organic selenium ameliorates Staphylococcus aureus-induced mastitis in rats by inhibiting the activation of NF-κB and MAPK signaling pathways. Frontiers in Veterinary Science. 2020 Jul 30; 7:443. Doi: 10.3389/fvets.2020.00443.
26. Meissonnier GM, Pinton P, Laffitte J, Cossalter AM, Gong YY, Wild CP, Bertin G, Galtier P, Oswald IP. Immunotoxicity of aflatoxin B1: impairment of the cell-mediated response to vaccine antigen and modulation of cytokine

expression. Toxicology and applied pharmacology. 2008 Sep 1;231(2):142-9. Doi: 10.1016/j.taap.2008.04.004.
27. Tsuji PA, Carlson BA, Anderson CB, Seifried HE, Hatfield DL, Howard MT. Dietary selenium levels affect selenoprotein expression and support the interferon-γ and IL-6 immune response pathways in mice. Nutrients. 2015 Aug 6;7(8):6529-49. Doi: 10.3390/nu7085297.
28. Zinchuk A, Holubovska O, Shkurba A, Hrytsko R, Vorozhbyt O, Richniak M, Herasun B. Original inhibition method of excessive synthesis of pro-inflammatory cytokine of tumour necrosis factor α. Central European Journal of Immunology. 2015 Oct 15;40(3):345-8. Doi: 10.5114/ceji.2015.54597.
29. Liu G, Qi M, Hutchinson MR, Yang G, Goldys EM. Recent advances in cytokine detection by immunosensing. Biosensors and Bioelectronics. 2016 May 15; 79:810-21. Doi: 10.1016/j. bios. 2016. 01.020.
30. Zheng Y, Zhao Y, He W, Wang Y, Cao Z, Yang H, Wang W, Li S. Novel organic selenium source hydroxy-selenomethionine counteracts the blood-milk barrier disruption and inflammatory response of mice under heat stress. Frontiers in Immunology. 2022 Dec 1; 13:1054128. Doi: 10.3389/ fimmu. 2022.1054128.
31. Wang H, Bi C, Wang Y, Sun J, Meng X, Li J. Selenium ameliorates Staphylococcus aureus-induced inflammation in bovine mammary epithelial cells by inhibiting activation of TLR2, NF-κB and MAPK signaling pathways. BMC veterinary research. 2018 Dec; 14:1-8. Doi: 10.1186/s12917-018-1508-y.
32. Abdel-Moneim AM, Shehata AM, Mohamed NG, Elbaz AM, Ibrahim NS. Synergistic effect of Spirulina platensis and selenium nanoparticles on growth performance, serum metabolites, immune responses, and antioxidant capacity of heat-stressed broiler chickens. Biological Trace Element Research. 2022 Feb 1:1-2. Doi: 10.1007/s12011-021-02662-w.
33. Tang J, Cao L, Jia G, Liu G, Chen X, Tian G, Cai J, Shang H, Zhao H. The protective effect of selenium from heat stress-induced porcine small intestinal epithelial cell line (IPEC-J2) injury is associated with regulation expression of selenoproteins. British journal of nutrition. 2019 Nov;122(10):1081-90. Doi: 10.1017/S0007114519001910.
34. Khan AZ, Khan IU, Khan S, Afzal S, Hamid M, Tariq M, Haq IU, Ullah N, Khan MA, Bilal S, Huwang K. Selenium-enriched probiotics improve hepatic protection by regulating pro-inflammatory cytokines and antioxidant capacity in broilers under heat stress conditions. Journal of advanced veterinary and animal research. 2019 Sep;6(3):355. Doi: 10.5455/javar. 2019.f354.
35. Jackson DA, Elsawa SF. Factors regulating immunoglobulin production by normal and disease-associated plasma cells. Biomolecules. 2015 Jan 21;5(1):20-40. Doi: 10.3390/biom5010020.
36. Linterman MA, Denton AE. Selenium saves ferroptotic TFH cells to fortify the germinal center. Nature Immunology. 2021 Sep;22(9):1074-6. Doi: 10.1038/s41590-021-01007-y.
37. Radomska D, Czarnomysy R, Radomski D, Bielawska A, Bielawski K. Selenium as a bioactive micronutrient in the human diet and its cancer chemo preventive activity. Nutrients. 2021 May 13;13(5):1649. Doi: 10.3390/nu13051649.
38. Li Z, Dong Y, Chen S, Jia X, Jiang X, Che L, Lin Y, Li J, Feng B, Fang Z, Zhuo Y. Organic selenium increased gilts antioxidant capacity, immune function, and changed intestinal microbiota. Frontiers in microbiology. 2021 Aug 16; 12:723190. Doi: 10.3389/fmicb.2021.723190.
39. Niu Z, Liu F, Yan Q, Li L. Effects of different levels of selenium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress. Archives of Animal Nutrition. 2009 Feb 1;63(1):56-65. Doi: 10.1080/17450390802611610.
40. Habibian M, Ghazi S, Moeini MM, Abdolmohammadi A. 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. 2014 Jul; 58:741-52. Doi: 10.1007/s00484-013-0654-y.
41. Rao SR, Prakash B, Raju MV, Panda AK, Kumari RK, Reddy EP. Effect of supplementing organic forms of zinc, selenium, and chromium on performance, anti-oxidant and immune responses in broiler chicken reared in tropical summer.

Biological trace element research. 2016 Aug; 172:511-20. Doi: 10.1007/s12011-015-0587-x.

42. Kamada H, Nonaka I, Ueda Y, Murai M. Selenium addition to colostrum increases immunoglobulin G absorption by newborn calves. Journal of Dairy Science. 2007 Dec 1;90(12):5665-70. Doi: 10.3168/jds.2007-0348.

43. Marciel MP, Hoffmann PR. Molecular mechanisms by which selenoprotein K regulates immunity and cancer. Biological Trace Element Research. 2019 Nov;192(1):60-8. Doi: 10.1007/s12011-019-01774-8.