

## ارزیابی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در سرم متعاقب دریافت مکمل‌های نانوذرات سلنیم، سلنیت سدیم و ویتامین E در بره‌های شیرخوار

سامان محمدی‌راد<sup>۱</sup>، احسان عناصری<sup>۲\*</sup>، علیقلی رامین<sup>۳</sup> و سیامک عصری‌رضایی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانش آموخته دکترای حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار گروه بیماری‌های داخلی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

<sup>۳</sup> استاد گروه بیماری‌های داخلی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۸

### چکیده

به مجموعه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان‌های غیراختصاصی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) گویند. هدف تعیین مقادیر سرمی TAC متعاقب تجویز مکمل‌های سلنیم و ویتامین E در بره‌هاست. تعداد ۳۲ بره نر ماکوئی با میانگین سنی زیر ۲ ماه و میانگین وزن ۱۰ کیلوگرم در ۸ گروه کنترل، ویتامین E، نانو ذره سلنیم، سلنیت سدیم خوراکی، سلنیت سدیم تزریقی، نانو ذره سلنیم/ویتامین E، سلنیت سدیم خوراکی/ویتامین E و سلنیت سدیم تزریقی/ویتامین E به مدت ۹۰ روز انتخاب و مطالعه شدند. از بره‌ها در طی روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ خون‌گیری انجام شد و سرم‌ها برای ارزیابی TAC استفاده شدند. برای مجموع بره‌ها پایین‌ترین غلظت TAC در گروه نانوسلنیم ( $1/17 \mu\text{mol/l}$ ) و بیش‌ترین آن در گروه سلنیم/ویتامین E تزریقی ( $1/32 \mu\text{mol/l}$ ) در روز ۶۰ مشاهده شد اما این تفاوت در بین گروه‌های ۸ گانه در طی ۹۰ روز معنی‌دار نبود. در طی ۹۰ روز منظم‌ترین و کم‌ترین تغییرات در گروه ویتامین E، بیش‌ترین و نامنظم‌ترین تغییرات در گروه‌های نانوسلنیم خوراکی و نانوسلنیم/ویتامین E مشاهده شد. غلظت TAC در روز ۱۴ و ۶۰ در بین گروه‌ها معنی‌دار بود که عمدتاً به ترتیب در گروه سلنیت سدیم تزریقی و سلنیم/ویتامین E تزریقی بود. مقایسه غلظت TAC در بین دفعات نمونه‌برداری وجود اختلاف معنی‌دار در نانوسلنیم و نانوسلنیم/ویتامین E بود که کم‌ترین غلظت در نانوسلنیم بود. نتایج تأثیر زمان نمونه‌گیری و گروه‌ها در غلظت TAC نشان داد که بین دفعات نمونه‌برداری (زمان) تفاوت معنی‌دار مخصوصاً در روزهای ۱۴ و ۶۰ بود ولی بین گروه‌ها معنی‌دار نبود. مقادیر TAC روز اول با روز ۶۰ در گروه کنترل، روز ۷ و ۱۴ در گروه نانوسلنیم/ویتامین E و روز ۶۰ در گروه سلنیم/ویتامین E تزریقی در ارتباط بودند. نتیجه این که مکمل‌های سلنیم و ویتامین E در میزان TAC تأثیر نداشتند در صورتی که میزان TAC وابسته به زمان بود. بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های غیراختصاصی (TAC) متأثر از آنتی‌اکسیدان‌های اختصاصی نظیر سلنیم و ویتامین E نمی‌باشد و تحت تأثیر زمان تغییر می‌کند.

**کلمات کلیدی:** نانوسلنیم، سلنیت سدیم، ویتامین E، بره، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی

### مقدمه

هموستاز در سطح سلولی و خصوصاً اندام‌ها عبارت از تعادل بین واکنش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، نیتروژن (RNS) و پاسخ آنتی‌اکسیدان‌ها در حفظ مطلوب اثرات سوء ROS یا تقلیل واکنش‌های غیراختصاصی آن‌ها از طریق

\* نویسنده مسئول: احسان عناصری، دانشیار گروه بیماری‌های داخلی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

E-mail: e.anassori@urmia.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

بیومولکول‌های حیاتی است (Mittal et al, 2014). تعریف فوق بیان‌گر اهمیت ارتباط هموستاز با میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن و همچنین محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها در غذا و مایعات را نشان می‌دهد (Zhang et al, 2021). آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که در مقادیر بسیار اندک به طور معنی‌داری موجب تأخیر و یا ممانعت از بروز گونه‌های اکسیژن فعال و اثرات مخرب آن‌ها می‌شوند (Mikulková et al, 2020). به عبارت بهتر استرس اکسیداتیو به عارضه منتج از عدم تعادل سیستم اکسیدانی، آنتی‌اکسیدانی و پیشرفت سیستم اکسیدانی در بدن اطلاق می‌گردد (Mavangira and Sordillo, 2018). بر این اساس آنتی‌اکسیدان‌ها به ۳ گروه عمده تقسیم می‌شوند. گروه اول آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که مستقیماً اکسیژن‌های فعال را حذف می‌کنند. مانند سوپراکسید دیسموتاز که سوپراکسیدها را حذف می‌کند کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز که هیدروژن پراکسیداز را غیرفعال می‌کنند (Konvicná et al, 2015). گروه دوم فلزات متصل شونده به مواد بیولوژیکی هستند که از شرکت یون‌های فلزی در تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل و دیگر واکنش‌های آنتی‌اکسیدانی ممانعت می‌کنند (Bordignon et al, 2019) و سرانجام گروه سوم که به صورت سیستم آنتی‌اکسیدانی غیراختصاصی عمل می‌کنند مانند ویتامین C، E، کارتنوئیدها، اسید اوریک، بیلی‌روبین، کو آنزیم Q و اسیدهای آمینه سیستین، متیونین و تیروزین هستند (Mutalip et al, 2018). لذا مهم‌ترین اعمال آنتی‌اکسیدان‌ها حذف رادیکال‌های آزاد تأثیرگذار بر سلول‌ها و بافت‌های بدن است (Nimse and Pal, 2015). در یک تعریف کلی به مجموعه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان‌های غیراختصاصی اصطلاحاً ظرفیت تام آنتی-اکسیدانی (TAC) اطلاق می‌گردد (Fragaab et al, 2014). اگر چه پژوهشگران توصیه می‌کنند که لزوماً از آزمایش‌های آنتی‌اکسیدانی اختصاصی علیه نوع رادیکال آزاد تولید شده و ترجیحاً آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی اختصاصی مانند گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز برای تعیین استرس اکسیداتیو استفاده نمود اما روش‌های ارزیابی

آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی اختصاصی مشکل و گران بوده (Meng et al, 2017) در صورتی که محاسن TAC نسبت به روش‌های آنزیمی فراوان بوده و از امتیاز یک آزمایش ساده، جذاب، بدون مشکلات آزمایش و وسایل آزمایشی و سرانجام ارزان برخوردار است (Belal et al, 2021). مضاف بر این که تعیین TAC ارزش بیولوژیکی داشته که می‌تواند اکسیدان‌های غیر پیش‌بینی شده در نمونه‌های مورد آزمایش را نیز مشخص نماید (Fragaab et al, 2015). همچنین TAC ممکن است یک سینترسیم احتمالی را بین آنتی‌اکسیدان‌های شناخته و یا ندرتاً ناشناخته شده را نشان دهد (Mattioli et al, 2020). بهره‌مندی از چنین ارزیابی‌هایی به طور فزاینده‌ای در بین علوم زیستی و پژوهشگران جامعیت پیدا کرده، تجاری شده و ممکن است شانس یک روش آزمایشگاهی بالینی استاندارد را پیدا کند. بنابراین برای نشان دادن و ارزیابی معایب و محاسن به همراه نتایج با ارزش این روش و یا محدودیت‌های TAC، مطالعه و بررسی آن امری اجتناب‌ناپذیر بوده و می‌تواند مهم تلقی شود.

سلنیم به صورت گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) از آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی (Ighodaro and Akinloye, 2018; Spears, 2011) و آلفاتوکوفرول غیر آنزیمی (Awawdeh et al, 2019) به منزله سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مسئول حذف گونه‌های فعال اکسیژن 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 (Ding et al, 2017). به همین منظور مکمل‌های معدنی مانند سلنیت سدیم (Shi et al, 2009) و نانو سلنیم به صورت خوراکی و یا تزریقی (Shi et al, 2012; Kojouri et al, 2011) به تنهایی و یا همراه با آلفاتوکوفرول (Soliman et al, 2012) به کار رفته تا با تعیین شاخص استرس اکسیداتیو مانند GPX به اثرات آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی واقف گردد. در صورتی که در خصوص تعیین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و شاخص آن یعنی TAC در بره‌های نر نوزاد در حال رشد مطالعه نشده

خوراکی/ویتامین E مقدار  $0/1 \text{ mg/kg}$  سلنیت سدیم خورنده شد و  $8 \text{ mg/kg}$  ویتامین E به شکل عضلانی تزریق شد. در گروه ویتامین E تزریقی فقط  $8 \text{ mg/kg}$  ویتامین E به صورت عضلانی تزریق شد. در گروه سلنیت سدیم تزریقی مقدار  $0/1 \text{ mg/kg}$  سلنیت سدیم به شکل تزریق زیر جلدی استفاده شد و سرانجام در گروه سلنیت سدیم تزریقی/ویتامین E مقدار  $0/1 \text{ mg/kg}$  سلنیت سدیم و  $8 \text{ mg/kg}$  ویتامین E به شکل یک داروی ترکیبی به صورت زیر جلدی تجویز شد. دز نانو سلنیم  $0/1 \text{ mg/kg}$  بوده که پس از محاسبه بر اساس وزن در هفت روز خورنده می‌شود.

نانو سلنیم در آزمایشگاه توسط روش Gao و همکاران (۲۰۱۳) و با استفاده از سلنیت سدیم (مرک آلمان)، اسید آسکوربیک (مرک آلمان)، پیتون و آب مقطر دو بار یونیزه شده تهیه گردید. مقدار  $2/63$  گرم سلنیت سدیم (مرک آلمان) در  $100 \text{ ml}$  آب دیونیزه موجود در بالن افزوده و مخلوط شد. سپس مقدار  $5$  گرم پیتون به محتویات بالن اضافه و توسط دستگاه لرزاننده به مدت  $15$  دقیقه یکنواخت شد. سپس مقدار  $7/03$  گرم اسید آسکوربیک (مرک آلمان) به تدریج در  $30$  دقیقه در بالن حاوی لرزاننده افزوده شده تا سلنیت سدیم مجزا و سلنیم شکسته شده و آزاد گردد. سلنیم شکسته شده توسط پیتون احاطه شده تا از الحاق مجدد سلنیم ممانعت شود و ذرات نانو سلنیم در محیط ثابت پیتون به رنگ قرمز و خالص سلنیم تولید شود (Hunter and Manter, 2008). پس از تهیه نانو سلنیم برای تعیین اندازه ذرات از دستگاه آنالیزور و روش XRD اندازه ذرات تا  $30$  نانومتر تعیین گردید (Figure 1). تفسیر طیف XRD که از آن به عنوان "اثر انگشت" استفاده می‌شود دقیقاً مشابه طیف XRD نانو سلنیم در منابع است که طبق روش مذکور در آن منبع نانو سلنیم تهیه شد. اندازه نانوذرات با استفاده از طیف XRD از معادله دبای-شرر (Debye Scherre Equation) استنتاج می‌شود و معمولاً پس از محاسبه جزیی کم‌تر از  $30$  نانومتر نیز به دست می‌آید (Figure 2).

است که لزوماً استخراج چنین اطلاعاتی می‌تواند راه‌گشای تأثیر مکمل‌های سلنیم در میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در دام را نشان دهد. اهداف این مطالعه عبارتند از: ۱- تعیین مقادیر ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی پس از تجویز مکمل‌های سلنیم و ویتامین E در سرم خون بره‌های نر، ۲- مقایسه میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی پس از تجویز مکمل‌های سلنیم و ویتامین E و ۳- تعیین بالاترین مقادیر ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در گروه‌های تجویز شده با مکمل‌های سلنیم و ویتامین E.

### مواد و روش کار

تعداد ۳۲ رأس بره نر شیرخوار بین یک تا زیر دو ماه، از نژاد ماکویی و سالم انتخاب شدند. بره‌ها روزی ۲ وعده صبح و عصر از میش‌ها شیر دریافت می‌کردند. بره‌ها به صورت تصادفی به هشت گروه ۴ رأسی شامل ۱- کنترل، ۲- ویتامین E، ۳- نانو ذره سلنیم، ۴- سلنیت سدیم خوراکی، ۵- سلنیت سدیم تزریقی، ۶- نانو ذره سلنیم/ویتامین E، ۷- سلنیت سدیم خوراکی/ویتامین E، ۸- سلنیت سدیم تزریقی/ویتامین E تقسیم شدند. ابتدا قبل از تجویز تمامی بره‌ها خون‌گیری و وزن‌کشی شدند تا بر اساس وزن بدن داروی مورد نیاز تجویز شوند. میانگین وزن بره‌ها در گروه‌های ۸ گانه به ترتیب ۱۲، ۱۰/۷، ۱۰، ۱۱، ۱۰/۳، ۱۱/۳، ۱۰/۷ و ۹/۷ کیلوگرم بود. در گروه کنترل هیچ دارویی مصرف یا تجویز نشد. در گروه نانو سلنیم خوراکی مقدار  $0/1 \text{ mg/kg}$  نانو سلنیم خورنده شد. ترکیبات سلنیم شامل نانو سلنیم و سلنیت سدیم خوراکی پس از توزین به شکل سوسپانسیون معلق در آب معمولی حل شده و توسط سرنگ  $20$  میلی‌لیتر خورنده شدند. در گروه نانو سلنیم خوراکی/ویتامین E مقدار  $0/1 \text{ mg/kg}$  نانو سلنیم خوراکی و  $8 \text{ mg/kg}$  ویتامین E بشکل عضلانی تزریق شد. در گروه سلنیت سدیم خوراکی مقدار  $0/1 \text{ mg/kg}$  سلنیت سدیم خورنده شد. در گروه سلنیت سدیم

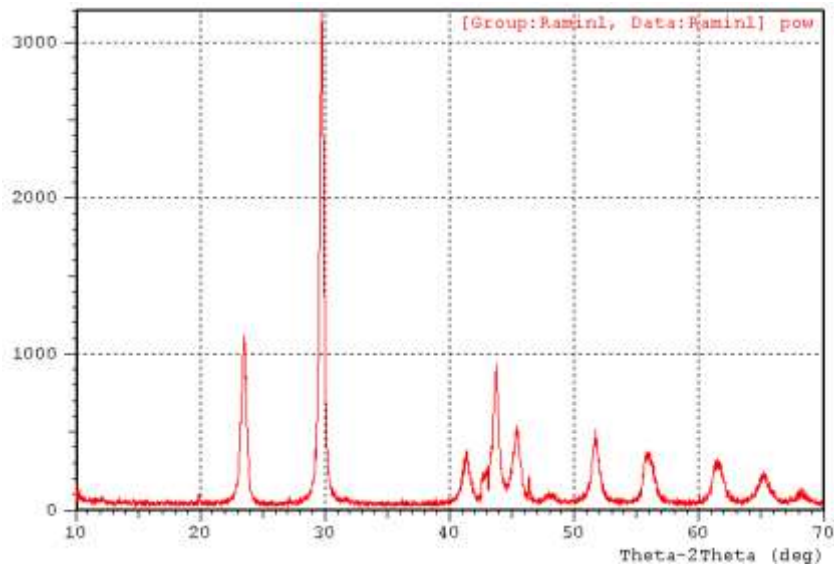


Figure 1: XRD to show the Nano Se particle sizes

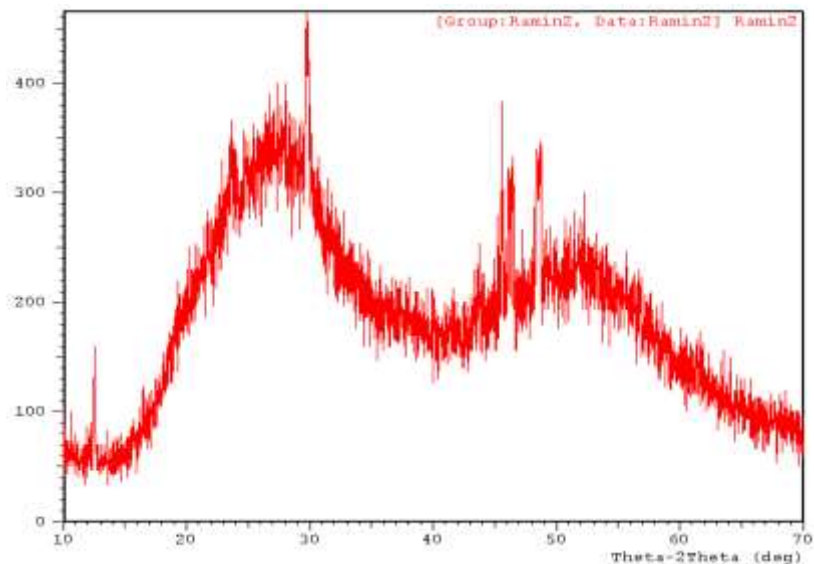


Figure 2: XRD to show the Nano Se particle sizes

مقادیر ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) با استفاده از دستگاه کالری‌متری یا رنگ‌سنجی ( Spectrophotometer ) (Jenway 6300, USA) توسط روش Koracevic و Koracevic (۲۰۰۱) اندازه‌گیری شد. از نرم افزار SPSS17 ابتدا با روش آماری Case Summaries میانگین، انحراف معیار، خطای استاندارد و دامنه ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) سرم تعیین شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و Repeated measue ANOVA جهت مقایسه میانگین TAC بر اساس

بره‌ها در روز ۱، ۷، ۱۴، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ (۶ بار) خون‌گیری شدند. مقدار ۵ ml خون از ورید وداج به وسیله سرنگ ۵ ml تهیه شد. خون‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ و سرم‌ها جدا گردید. نمونه‌های خون در وعده صبح اخذ گردیدند. در این مطالعه از مجموع ۳۲ رأس بره تعداد ۱۹۲ نمونه خون تهیه شد و به آزمایشگاه منتقل و پس از جداسازی سرم‌ها در فریزر  $-20^{\circ}\text{C}$  منجمد شدند. پس از اتمام نمونه‌گیری‌ها در روز ۹۰ سرم‌ها از انجماد خارج و مقادیر سرمی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی ارزیابی شدند.

سلنیم، سلنیت سدیم خوراکی، سلنیت سدیم تزریقی، نانو ذره سلنیم/ویتامین E، سلنیت سدیم خوراکی/ویتامین E و سلنیت سدیم تزریقی/ویتامین E نشان می‌دهد. میانگین TAC بره‌ها در مجموع مطالعه در نانوسلنیم کمترین (1)  $\mu\text{mol/l}$  (1/7) و سلنیم/ویتامین E تزریقی بیشترین ( $\mu\text{mol/l}$  1/32) بود. تفاوت بین گروه‌ها در طی 90 روز معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ ). بالاترین و پایین‌ترین غلظت TAC در روز 60 به ترتیب در سلنیم/ویتامین E تزریقی و نانوسلنیم خوراکی مشاهده شد.

زمان نمونه‌برداری در گروه‌های 8 گانه استفاده شد. از آزمون ضریب همبستگی Pearson Correlation برای ارزیابی احتمالی وجود ارتباط TAC در دفعات نمونه‌برداری (روز اول با سایر روزهای نمونه‌گیری) استفاده شد. مقدار P کمتر از 0/05 به عنوان تفاوت معنی‌دار تلقی گردید. نتایج به صورت جداول و نمودار به صورت روزانه و هفتگی برای هرکدام از گروه‌های 8 گانه ترسیم و تفسیر گردید.

نتایج

Table میانگین و انحراف معیار تغییرات غلظت TAC

خون را در بین گروه‌های کنترل، ویتامین E، نانو ذره

Table 1: Mean serum TAC concentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) in 8 groups during 90 days (n=4)

Groups	Day 1	Day 7	Day 14	Day 30	Day60	Day 90	Day 1-90	F-Value
Control	1.37	1.23	1.36	1.43	1.11	1.27	1.37	0.85
Oral NanoSe	1.41	1.2	0.96	1.14	1.06	1.26	1.41	7.44**
Oral NanoSe/E	1.23	1.07	1.05	1.26	1.18	1.65	1.23	2.76*
Oral NaSe	1.32	1.31	1.06	1.09	1.22	1.28	1.32	1.20
Injected E/Se	1.36	1.19	1.23	1.15	1.16	1.17	1.36	0.74
VitE	1.33	1.26	1.3	1.32	1.25	1.3	1.33	0.08
Injected NaSe	1.17	1.23	1.35	1.34	1.42	1.41	1.17	0.35
Oral NaSe/E	1.44	1.24	1.76	1.3	1.24	1.14	1.44	2.49†
F-Value	1.10	1.15	0.80	1.49	2.39*	0.69	1.21	-----

†=P<0.1>0.05 \*\*= P<0.01 \*= P<0.05 ، 2 =g/lμ ، 1 = SE=0.1

ویتامین E، بیش‌ترین و نامنظم‌ترین تغییرات در نانوسلنیم خوراکی و نانوسلنیم/ویتامین E مشاهده شد.

Figure 3 تغییرات TAC خون را در بره‌های نر شیری در 90 روز نشان می‌دهد. منظم‌ترین و کم‌ترین تغییرات در

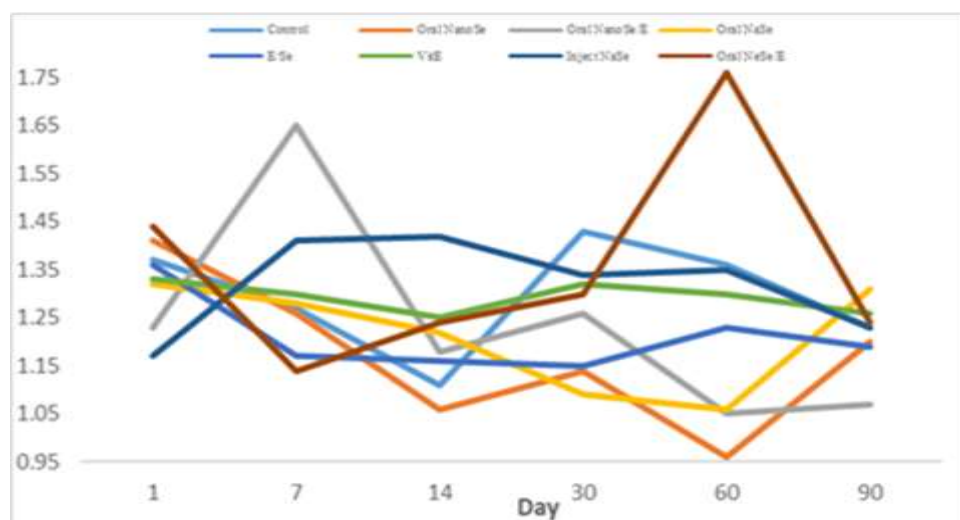


Figure 3: Comparison of total antioxidant capacity changes in lambs serum in 8 groups during 90 days

ارزیابی ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در سرم متعاقب دریافت مکمل‌های نانوذرات سلنیم، ...

TAC در بین دفعات نمونه‌برداری وجود اختلاف معنی‌دار در نانوسلنیم و نانوسلنیم/ویتامین E بود ( $P<0.01$ ) که کم‌ترین غلظت TAC در نانوسلنیم بود (Table 2).

مقایسه میانگین غلظت TAC در بین گروه‌ها نشان داد که TAC در روز ۱۴ و ۶۰ در بین گروه‌ها معنی‌دار بود ( $P<0.01$ ) که عمدتاً به ترتیب در سلنیت سدیم تزریقی و سلنیم/ویتامین E تزریقی بود (Table 2). مقایسه غلظت

**Table 2: Mean comparison (ANOVA) of serum total antioxidant capacity concentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) in 8 groups during 90 days (n=4)**

Sampling times	Mean Square	df	Sum Square	F-value
<b>Groups</b>				
Day 1	0.23	7	0.03	1.10
“ “ 7	0.74	“ “	0.11	1.15
“ “ 14	0.33	“ “	0.05	3.02*
“ “ 30	0.40	“ “	0.05	1.49
“ “ 60	1.76	“ “	5.20	3.17*
“ “ 90	0.14	“ “	0.02	0.69
<b>Groups</b>		<b>Sampling times</b>		
Control	0.27	5	0.05	0.85
Oral NanoSe	0.50	“ “	0.10	7.44**
Oral NanoSe/E	0.96	“ “	0.19	2.76*
Oral NaSe	0.25	“ “	0.05	1.30
Injected E/Se	1.10	“ “	0.02	0.74
VitE	0.02	“ “	0.01	0.08
Injected NaSe	0.20	“ “	0.04	0.35
Oral NaSe/E	0.98	“ “	0.20	2.49†

\*= $P<0.05$     \*\*= $P<0.01$     †= $P<0.1>0.05$

( $P<0.01$ ) و عمدتاً برای روز ۱۴ و ۶۰ بود ولی برای گروه‌ها معنی‌دار نبود. همچنین تأثیر زمان در میزان TAC در بین گروه معنی‌دار نبود.

Table 3 مقایسه میانگین غلظت TAC در بین گروه‌ها، دفعات نمونه‌برداری و تأثیر زمان در غلظت TAC را نشان می‌دهد. اختلاف بین دفعات نمونه‌برداری (زمان) معنی‌دار

**Table 3: Mean comparison<sup>1</sup> of serum total antioxidant capacity concentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) among sampling times, treatment groups and time by group interactions.**

Parameters	Mean Square	df	Sum Square	F-value
Sampling times	0.21	5	0.20	5.28*
Groups	0.65	7	0.09	1.01
Time by group interaction	0.48	6	0.07	1.74

<sup>1</sup>= Repeated Measure ANOVA    \* =  $P<0.05$

در گروه نانو سلنیم/ویتامین E و روز ۶۰ در گروه سلنیم/ویتامین E تزریقی در ارتباط بودند.

نتایج آنالیز همبستگی پیرسون غلظت TAC در روز اول با ایام دیگر نمونه‌گیری در گروه‌ها (Table 4) نشان می‌دهد که TAC روز اول با روز ۶۰ در گروه کنترل، روز ۷ و ۱۴

**Table 4: Correlations of serum total antioxidant capacity concentration ( $\mu\text{mol/l}$ ) between day 1 and other sampling times in 8 lambs' group**

Sampling times	Day 7	Day 14	Day 30	Day60	Day 90
Control	-0.93	0.86	0.14	0.99**	-0.68
Oral NanoSe	0.89	0.20	0.88	-0.01	-0.08
Oral NanoSe/E	-0.99**	-0.98*	0.28	-0.79	-0.11
Oral NaSe	-0.40	-0.83	-0.89	0.75	0.28
Injected E/Se	-0.19	0.47	-0.09	-0.21	-0.57
VitE	-0.33	-0.01	0.89	0.03	0.59
Injected NaSe	-0.07	-0.26	0.01	0.30	-0.38
Oral NaSe/E	-0.18	0.32	0.55	0.98*	-0.40

\*=P<0.05 \*\*=P<0.01

#### بحث

لذا افزایش در مقادیر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی ظرفیت و توانایی مقاومت سلول‌های بدن دام را در برابر استرس اکسیداتیو نشان می‌دهد (Bordignon et al, 2019). مکانیسم عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی متفاوت است. به عنوان مثال آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند و این در حالی است که آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز هیدروپراکسیدهای آلی و پراکسید هیدروژن را خنثی و حذف می‌کند (Mittal et al, 2014). آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی همانند آلبومین، گلوکاتایون، ویتامین C، آلفاتوکوفرول، بتاکاروتن، اسید اوریک، بیلیروبین و فلاونوئیدها از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدانت‌ها محسوب شده که به همراه طیف وسیعی از سایر مواد دیگر تحت عنوان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در دام ذکر می‌گردند (Boldižárová et al, 2005). از آن جایی که ارزیابی هر یک از مولکول‌های آنتی‌اکسیدانت‌های گوناگون ممکن و عملی نیست لذا عملاً ارزیابی وضعیت آنتی‌اکسیدانی را بر مبنای اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (Fragaab et al, 2015) در سرم همان طوری که در این مطالعه انجام شد

فعالیت و ماندگاری اندام‌ها و بافت‌های بدن موجودات زنده همانند انسان در اثر توسعه واکنش‌های سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی متعدد و گوناگون اعم از آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز (Ighodaro and Akinloye, 2018) و یا غیراختصاصی مانند ویتامین E و C در قالب ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی بوقوع می‌پیوندد (Belal et al, 2021). فرجام این فرآیند حذف و یا خنثی شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که متعاقب فرایندهای متابولیکی در بدن نشخوارکنندگان ایجاد می‌گردند (Celi, 2011). آزاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب اکسیداسیون مضر در سلول‌ها شده که این واکنش‌ها توسط واکنش‌های متنوع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی خنثی می‌شوند (Boldižárová et al, 2005). افزودن مکمل‌های سلنیم به عنوان یک ریزمغذی ضروری از عوامل مهم تأثیرگذار در تشکیل متالوآنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در تمامی بافت‌های بدن است (Huang et al, 2009; Wang, 2011). تغییرات در میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در سطح سلول‌ها به عنوان معیاری برای ارزیابی استرس اکسیداتیو در نظر گرفته می‌شود (Konvicná et al, 2015).



آن ضرورتاً بیانگر یک شرایط ناخواسته نمی‌باشد. Boldižárová و همکاران (۲۰۰۵) بالاترین میزان کاهش TAC را پس از خوردن مخمر سلنیم در مقابل سلنیم آلی و معدنی نشان داده است. صرف نظر از کلیه عواملی که قبلاً در خصوص احتمال کاهش TAC به دنبال مصرف ترکیبات حاوی سلنیم ذکر شد می‌توان به اطلاعات موجود در زمینه میزان جذب سلنیم و اشکال شیمیایی آن از دستگاه گوارش نیز مرتبط دانست. ترکیبات متفاوت سلنیم آلی و معدنی که در منابع غذایی برای دام‌ها افزوده می‌شوند قبل از این که به سلنوپروتئین‌ها تبدیل شوند به سلنید تبدیل می‌شوند (Esaki et al, 1981). لذا این مقدار از سلنیم احیا شده با واسطه اتصالات سولفیدی به آلبومین پلاسما باند می‌شود (Suzuki and Ogra, 2002). گزارش شده است که نسبت آلبومین به ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی در حدود ۴۳ درصد است. بنابراین کاهش TAC در بره‌های تجویز شده با سلنوپروتئین نتیجه متصل شدن مقادیر زیادی از سلنید به آلبومین است (Fragaab et al, 2015). این تفسیر در این مطالعه می‌تواند مباحثه‌ای باشد. زیرا کم‌ترین میزان TAC در نانوسلنیم مشاهده شد که شکل نوظهور سلنیم معدنی بوده و لاجرم اثرات آن در زمینه‌های گوناگون منجمله TAC بهتر و مناسب‌تر از نوع معدنی آن یعنی سلنیت سدیم باشد. این بخش با نظرات قبلی که سلنیم به سلنید تبدیل و به آلبومین باند شده و سبب کاهش TAC می‌گردد مطابقت می‌کند (Belal et al, 2021). در صورتی که سایر گروه‌های سلنیم به همراه ویتامین E حتی با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را در میزان TAC نشان ندادند یعنی با تعبیر فوق هماهنگ نمی‌باشند.

یکی از مواردی که در بره‌های تغذیه شده از سلنیم معدنی مانند سلنیت سدیم در ارتباط با عدم تأثیر و یا کاهش آن در TAC همانند سلنیم آلی اتفاق نمی‌افتد می‌توان این گونه بیان کرد که سلنیت مولکول کوچکی است که به سرعت جذب و توسط گلوکاتایون در عرض چند دقیقه سریعاً احیا و به سلنید تبدیل می‌شود. سلنید قبل از این که به کبد برای سنتز به سلنوپروتئین و یا متیله شدن برای دفع

در نظر می‌گیرند. در مطالعه حاضر اثرات تجویز سلنیم (به عنوان بخشی از ساختار آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و محرک تولید این آنزیم) و آلفا توکوفرول به تنهایی و به صورت ترکیبی در بره‌ها مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی به عنوان شاخص سیستم آنتی‌اکسیدانی در تمامی بره‌های تحت مطالعه بررسی گردید.

میانگین TAC بره‌ها قبل از شروع تجویز مکمل‌ها در این مطالعه  $1/32 \mu\text{mol/l}$  بوده که از نتایج  $0/80 \mu\text{mol/l}$  گزارش شده توسط Boldižárová و همکاران (۲۰۰۵) اندکی بیش‌تر بوده و دلالت بر وضعیت تغذیه‌ای بهتر بره‌ها در این مطالعه دارد. اگر چه بره‌ها در مقایسه با مطالعه فوق TAC بیش‌تری دارند اما بالفعل ممکن است همچنان حساس به استرس اکسیداتیو و بروز بیماری‌های ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد باشند (Celi, 2011). ارزیابی نتایج این مطالعه نشان داد که در بره‌های دریافت‌کننده نانوذرات سلنیم همراه با ویتامین E یا بدون آن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سرم خون کاهش یافت.

در این بررسی اگر چه در مجموع ۹۰ روز تفاوتی در بین گروه‌ها از نظر مقدار TAC مشاهده نشد اما در بررسی انفرادی، نمونه‌برداری روز ۶۰ در بره‌های نانوسلنیم کم‌ترین و بره‌های با E/Se بیش‌ترین میزان TAC را نشان دادند. Belal و همکاران (۲۰۲۱)، Kassab و همکاران (۲۰۲۰) و Sherief و همکاران (۲۰۱۹) با تجویز E/Se افزایش معنی‌دار TAC را نشان دادند که با نتایج این مطالعه مغایرت داشته در صورتی که در مطالعات Hassan and AbdAllah (۲۰۲۱) و El-Sayed و همکاران (۲۰۲۰) و Mousavi و همکاران (۲۰۱۹) افزایش مذکور مختصر و جزئی بوده که با نتایج این مطالعه هم‌خوانی دارد. تغییرات در مقادیر TAC بر اساس تجویز نوع مکمل سلنیم و روش تجویز می‌تواند متغیر باشد.

Prior و Cao (۱۹۹۹) گزارش نمودند اگر چه ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی انعکاسی از شرایط تغذیه‌ای و نیز میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد ولی تغییر در مقادیر



از بدن آماده شود به صورت موقتی به آلبومین متصل می‌گردد (Suzuki and Itoh, 1997). بنابراین بهره‌مندی مداوم از ترکیبات سلنیم آلی سبب افزایش سلنید و کاهش آلبومین آزاد و نهایتاً کاهش TAC خواهد شد. به همین منظور تلاش محققان در استفاده از سلنید معدنی (Gupta et al, 2010; Shirkhande et al, 1997; Suttle, 2010) و نوع نانوذره آن (Humann-Ziehanka et al, 2013; Karren et al, 2014) است تا از طرفی سبب افزایش آنتی‌اکسیدان‌های اختصاصی و آنزیمی مانند گلوکوتایون پراکسیداز شده و ثانیا سبب تضعیف آلبومین که از آنتی‌اکسیدان‌های کثیر، مهم و غیراختصاصی است نشود و مقدمات کاهش TAC را فراهم نکند. در راستای تأیید موارد ذکر شده بایستی به بره‌های گروه ویتامین E این مطالعه اشاره نمود که منظم‌ترین و کم‌ترین تغییرات TAC را در بین گروه‌های ۸ گانه حتی بهتر از گروه کنترل نشان داد که یکی از برجسته‌ترین علل آن قرار گرفتن توکوفرول در گروه آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و یا TAC است (Yildiz et al, 2015) و نهایتاً بیش‌ترین و نامنظم‌ترین تغییرات در گروه‌های نانوسلنیم به همراه ویتامین E است که می‌تواند از محدودیت‌های مصرف این گونه از مکمل‌های سلنیم در بره‌ها باشد.

مشاهده تغییرات میزان TAC در روز ۶۰ در غالب گروه‌ها حکایت از تأثیرگذار بودن مکمل‌های سلنیم در میزان TAC در بره را دارد. وجود رابطه مثبت TAC روز اول با روز ۶۰ در گروه کنترل نشانگر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی در بدن و محافظت مناسب در برخورد با عوامل بیماری‌زا است. رابطه منفی TAC روز اول با روز ۷ و ۱۴ در گروه نانوسلنیم/ویتامین E و روز ۶۰ در گروه سلنیم/ویتامین E تزریقی بیانگر مصرف شدن و کاهش TAC می‌باشد. نتایج مشابه توسط Boldizárová و همکاران (۲۰۰۵) گزارش شده است. این محققین نتیجه می‌گیرند پس از افزودن مکمل‌های آلی و معدنی میزان TAC کاهش می‌یابد. از آن جایی که نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در سلامت دام‌ها و جلوگیری از بروز بیماری‌ها مهم تلقی شده است، لذا محققان تلاش نموده‌اند که ارتباط TAC را در گیاهان (Gladine et al, 2007; Lou et al, 2007)، مواد غذایی (Luciano et al, 2011; López-Andre et al, 2013) دام‌ها (Kanatt et al, 2005) و انسان (Dizdar et al, 2011) با سایر عوامل تأثیرگذار در میزان TAC را بررسی و ارزیابی کنند. پس از افزودن مکمل‌های آلی و معدنی سلنیم میزان TAC کاهش و در مقابل فعالیت و غلظت آنزیم‌های گلوکوتایون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش داشت (Belal et al, 2021). مقادیر TAC در دام سالم  $1/14 \mu\text{mol/l}$  بوده که به میزان  $0/75$  تقلیل یافت. لذا می‌توان ارتباط منفی را منظور نمود.

نتایج این مطالعه نشان داد که TAC روزهای ۱۴ و ۶۰ برای گروه‌هایی مانند سلنید سدیم تزریقی و E/Se تزریقی مهم تلقی می‌شوند. افزایش TAC در گروه‌های سلنید معدنی احتمالاً با تفاسیر ذکر شده در فوق مطابقت می‌کند (Boldizárová et al, 2005) اما در جزئیات نقش زمان نیز در مقدار TAC احتمالاً تعیین کننده باشد. در همین راستا موقعی که سلنیم معدنی استفاده می‌شود (Mlambo, 2003) افزایش TAC در حداقل زمان یعنی دو هفته و سریع است در صورتی که سلنیم معدنی با آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند توکوفرول توأم استفاده شود (Soliman et al, 2012) میزان TAC در دو ماه به حداکثر خود می‌رسد که شاید شرایط بهتر از سلنیم معدنی خالص باشد زیرا ماندگاری آنتی‌اکسیدان تا دو ماه دوام یافته و بره را در مقابل بسیاری از بیماری‌های تنفسی، عضلانی و گوارشی (Shirkhande

و سرانجام در گاوهای مبتلا به جفت ماندگی نسبت اکسیدان‌ها به TAC افزایش داشت که تصور می‌شود عدم بالانس این عوامل سبب بروز جفت ماندگی در دام شود (Kankofe et al, 2010). مجموعه نتایج و یافته‌های محققان فوق بیان‌گر مرتبط بودن و متأثر شدن TAC از عوامل متعدد و گوناگون فیزیولوژیک و پاتولوژیک است. در خاتمه می‌توان نتیجه گرفت که تجویز مکمل‌های سلنیم خصوصاً نانوسلنیم و ویتامین E موجب کاهش TAC سرم خون بره‌ها شده در صورتی که مکمل‌های ساده سلنیم در وضعیت TAC تأثیری نمی‌گذارند. مقدار TAC وابسته به زمان بوده و سلنیم معدنی در کوتاه مدت و سلنیم معدنی توأم با ویتامین E در دراز مدت TAC را افزایش می‌دهد. سرانجام جهت افزایش سریع TAC و درمان بیماری‌های منتج از کاهش سلنیم، تزریق سلنیم معدنی مؤثر بوده در حالی که برای افزایش TAC در بلند مدت و پیش‌گیری از کمبودهای احتمالی سلنیم تزریق E/Se در بره‌های نوزاد مناسب خواهد بود.

در بسیاری از بیماری‌ها ارتباط بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها مطالعه شده است. در مطالعه Eghbali و همکاران (۲۰۱۰) در گاو میش ارتباط عکس بین مقدار TAC را با حجم، حرکت و پلاسمای منی نشان دادند در گاوهای با تولید شیر بالا نسبت اکسیدان‌ها با TAC بالا بود که نقش آنتی‌اکسیدان‌ها را در ممانعت از هر گونه استرس ناشی از بیماری‌های متابولیک در گاو شیری را نشان می‌دهد (Castillo et al, 2003; Xiao et al, 2021). در آلودگی‌های انگلی دستگاه گوارش گوسفند و بز میزان آنتی‌اکسیدان‌ها در بین این دو گونه دامی متفاوت بود و میزان TAC در بزغاله‌های سالم بیش‌تر از بره‌های سالم بود (Lightbody et al, 2001). در بیماری با بزیوز گوسفند میزان مالون دی‌آلدهید با TAC رابطه منفی داشت (Esmailnejad et al, 2012). در گاوهای مبتلا به تب برفکی میزان اکسیدان‌ها افزایش یافته اما TAC تغییر و یا کاهش نیافت (Bozukluhan et al, 2012). در سندرم آشفته‌گی تنفس نوزادان نسبت اکسیدان‌ها با TAC بالا بود اما پس از درمان نسبت فوق به نفع TAC تغییر یافت (Dizdar et al, 2011).

### تشکر و قدردانی

مؤلفین این مقاله صمیمانه از کارکنان دانشگاه و سایر کسانی که در این پروژه یاری و مشارکت نموده‌اند کمال تشکر و امتنان را دارند.

### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تضاد منافع وجود ندارد.

### منابع مالی

منابع مالی این مطالعه توسط معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه، تأمین شده است.

### منابع

Awawdeh, M.S., Eljarah, A.H. and Ababneh, M.M. (2019). Multiple injections of vitamin E and selenium improved the reproductive performance of estrus-synchronized Awassi ewes. *Tropical Animal Health and Production*, 3: 11–6.

Belal, H., Elmetwaly, H. and Amer, A. (2021). Role of Selenium and/ or Vitamin E in Preventing Some Pre-and Post-Partum Problems in Dromedary She Camels. *Suez Canal Veterinary Medical Journal. SCVMJ*, 26(1): 131-141.

- Boldižárová, K., Grešáková, L., Faix, S., Mellen, M. and Leng, L. (2005). Antioxidant status of lambs fed on diets supplemented with selenite or Se-yeast. *Journal. Animal Feed Science*, 14::245–253.
- Bordignon, R., Volpato, A., Glombowsky, P., Souza, C.F., Baldissera, M.D., Secco, R., Pereira, W.A.B., Leal, M.L.R., Vedovatto, M. and Silva, A.S. (2019). Nutraceutical effect of vitamins and minerals on performance and immune and antioxidant systems in dairy calves during the nutritional transition period in summer. *Journal Thermal Biology*, 84: 451–459.
- Bozukluhan, K., Atakisi, E., Atakisi, O. and Kodu, M. (2012). Nitric Oxide Levels, Total Antioxidant and Oxidant Capacity in Cattle with Foot-and-Mouth-Disease. *Kafkas Univiversity Veterinary Fakultesi Dergesi*, 19: 179-181.
- Castillo, C., Hernandez, J., Alonso, M.L., Miranda, M. and Bedito, J.L. (2003). Values of plasma lipid hydroperoxides and total antioxidant status in healthy dairy cows. *Archive Tierz Dummerstorf*, 3: 227-233.
- Celi, P. (2011). Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33: 233-240.
- Dizdar, E.A., Uras, N. and Oguz, S. (2011). Total antioxidant capacity and total oxidant status after surfactant treatment in preterm infants with respiratory distress syndrome. *Annale Clininical Biochemistry*, 48: 462–467.
- Eghbali, M., Alavi-Shoushtari, S.M., Asri-Rezaei, S. and Ansari, M.K., (2010). Calcium, Magnesium and Total Antioxidant Capacity (TAC) in Seminal Plasma of Water Buffalo (*Bubalus Bubalis*) Bulls and their Relationships with Semen Characteristics. *Veterinary Reasearch Furum*, 1: 12-20.
- El-Sayed, A., El-Ashker, M., Ebissy, E. and Ateya, A. (2020). Effect of prepartum vitamin E and selenium administration on postpartum gene expression and metabolic profile of immune and oxidative markers in Barki ewes. *Genetika*, 52 (2): 673 – 688.
- Esaki, N., Nakamura, T. Tanaka, H., Suzuki, T., Morino, Y. and SodaEnzymic, K. (1981). synthesis of selenocysteine in rat liver. *Biochemistry*, 20: 15-24.
- Esmaeilnejad, B., Tavassoli, M., Asri-Rezaei, S. and Dalir-Naghadeh, B. (2012). Evaluation of antioxidant status and oxidative stress in sheep naturally infected with *Babesia ovis*. *Veterinary Parasitology*, 185: 124-130.
- Fragaab, C.G., Oteizabc, P.I. and Galleanoa, M. (2014). In vitro measurements and interpretation of total antioxidant capacity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 840(2): 931-934.
- Gladine, C., Rock, E., Morand, C. and Bauchart, D. (2007). Antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*, 98: 691–701.
- Gupta, S. and DeLemos, J.A., (2007). Use and misuse of cardiac troponins in clinical practice. *Progress in cardiovascular diseases Journal*, 50: 151-165.
- Hassan, M.S. and Abd-Allah, E.A. (2021). Impact the effect of vitamin E and Selenium supplementation on oxidative parameters and reproductive efficiency of Egyptian buffaloes. *Journal Multidiscipline. Science*, 3(1): 16-20.
- 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 Husbandry Feed Science*, 6: 35-44.
- Humann-Ziehanka, E., Renkob, K., Muellerc, A.S., Roehriga, P., Wolfsena, J. and Gantera, M. (2013). Comparing functional metabolic effects of marginal and sufficient selenium supply in sheep. *Journal Trace Element Medical Biology*, 27: 380–390.
- Ighodaro, O.M. and Akinloye, O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase(CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54: 287–293.
- Kanatt, S.R., Chander, R., Radhakrishna, P., and Sharma, R. (2005). Potato Peel Extract a Natural Antioxidant for Retarding Lipid Peroxidation in Radiation Processed Lamb Meat. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 53: 1499–1504.
- Kankofe, M., Albera, E., Feldman, M., Gundling, N. and Hoedemaker, M. (2010). Comparison of antioxidative/oxidative profiles in blood plasma of cows with and without retained fetal placental membranes. *Theriogenology* :1385-1395.
- Karren, B.J., Thorson, J.F., Cavinder, C.A., Hammer, C.J. and Coverdale, J.A. (2014). Effect of selenium supplementation and plane of nutrition on mares and their foals. Selenium concentrations and glutathione peroxidase. *Journal Animal Science*, 88: 3 991-997.

- Kassab, A.Y., Hamdon H., Senosy, W., Daghash, H. and Soliman, A. (2020). Impact of antioxidants supplementation on metabolic status and reproductive performance of Aberdeen cows during seasonal thermal stress in arid subtropical regions. *Egyptian Journal of Animal Production*, 57 (1): 1- 11.
- Kojouri, G.A., 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.
- Konvicná, J., Vargová, M., Paulíková, I., Ková, C.G. and Kostecká, Z. (2015). Oxidative stress and antioxidant status in dairy cows during prepartal and postpartal periods. *Acta Veterinaria. Brno*, 84: 133-140.
- Koracevic, D. and Koracevic, G. (2001). Total antioxidant capacity (Colorimetric method). *Journal Clinical Pathology*, 54: 356-361.
- Lightbody, U.H., Stevenson, L.M., Jackson, F., Donaldson, K. and Jones, D.J. (2001). Comparative Aspects of Plasma Antioxidant Status in Sheep and Goats, and the Influence of Experimental Abomasal Nematode Infection. *Journal of Comparative Pathology*, 124: 192-199.
- Lo'pez-Andre's, P., Luciano, G., Vasta, V., Gibson, T.M., Biondi, L., Priolo, A. and Mueller-Harvey, I. (2013). Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep. *British Journal of Nutrition*, 110: 632-639.
- Lou, H., Lin, S., Ren, F., Wu, L, Chen, L. and Sun, Y. (2007). Antioxidant and Antimicrobial Capacity of Chinese Medicinal Herb Extracts in Raw Sheep Meat. *Journal of Food Protection*, 70: 1440-1445.
- Luciano, I.J., Vasta, V., Monahan, F.J., López-Andrés, P., Biondi, L., Lanza, M. and Priolo, A. (2011). Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. *Food Chemistry*, 124: 1036-1042.
- Mattioli, A.G., Diana, E.R., Esteban, T., Sebastián, J.P., Santiago, J.R., Antonio, H.H.M. and Luis, E.F. (2020). Effects of Parenteral Supplementation with Minerals and Vitamins on Oxidative Stress and Humoral Immune Response of Weaning Calves. *Animals*, 10: 1298-1305.
- Mavangira, V. and Sordillo, L.M. (2018). Role of lipid mediators in the regulation of oxidative stress and inflammatory responses in dairy cattle. *Research Veterinary Science*, 116: 4-14.
- Meng, D., Zhang, P., Zhang, L., Wang, H., Ho, C.T., Li, S., Shahidi, F. and Zhao, H., (2017). Detection of cellular redox reactions and antioxidant activity assays, *Journal of Functional Foods*, 37: 467-479.
- Mikulková, K., Kadek, R. and Filípek, J. (2020). Evaluation of oxidant/antioxidant status, metabolic profile and milk production in cows with metritis. *Irish Veterinary Journal*, 73, 1-11.
- Mittal, M., Siddiqui, M.R., Tran, K., Reddy, S.P. and Malik, A.B. (2014). Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxid. Redox Signal*, 20: 1126-1127.
- Mlambo, S.S. (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>.
- Mousavi, S., Fatahnia, F., Taasoli, G. and Mohammadi, Y. (2019). Effect of some injectable vitamins and trace minerals on blood antioxidant capacity and incidence of metabolic disorders in transition dairy cows. *Animal Science Journal*, 31(121): 173-192.
- Mutalip, M., Ab-Rahim, S., Rajikin, M., (2018). Vitamin E as an antioxidant in female reproductive health. *Antioxidants*, 7(2): 22-29.
- Nimse, S.B. and Pal, D.F. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Royal Society of Chemistry*, 5: 27986-28006.
- Prior, R.L, Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27 (11-12): 1173-1181.
- Sherief, M., Abdel-Raheem, G., Mahmoud, B., Walled, S. and Taymour, M. (2019). Influence of vitamin E and selenium supplementation on the performance, reproductive indices and metabolic status of Ossini ewes. *Slovenian Veterinary Research*, 56: 353- 363.
- Shi, L., Yang, R., Yue, W., Wu, J., Zhao, P., and Lei, X. (2009). Comparison of Nano-Selenium and Methionine-Selenium on Growth and Selenium Content in Blood and Tissue of Boer Goats Lamb. *Acta Ecology Animal Domast*, 19: 33-39.
- Shi, L., Xun, W., Yue, W., Zhang, C., Ren, Y., Shi, L., Wang, Q., Yang, R. and 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.

- Shirkhande, G.B., Sapre, V.A. and Sarode, D.B. (1997). Metabolic profile of dairy cows. *Indian Veterinary Journal*, 74(5): 407-408.
- Shokrollahi, B. et, al., (2013). The Effect of Enriched Milk with Selenium and Vitamin E on Growth Rate, Hematology, and Some Blood Biochemical Factors, and Immunoglobulins of Newborn Goat Kids. *Biological Trace Element Research*, 153: 184-190.
- Soliman, E. et, al., (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 Sciences*, 7: 31- 42.
- Spears, J.W. (2011). Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. *Journal Nutrition*; 133: 1506-1509.
- Suttle, N.F. (2010). Mineral Nutrition of Livestock. 4<sup>th</sup> Edition, FSC, Mixed Sources, MPG Books Group 2010; 4, 355–377.
- Suzuki, K.T. and Itoh, M. (1997). Metabolism of selenite labelled with enriched stable isotope in the bloodstream. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 692:15-22.
- Suzuki, K.T. and Ogra, Y. (2002). Metabolic pathway for selenium in the body: speciation by HPLC-ICP MS with enriched Se. *Food Additives & Contaminants*, 19(10): 1232-1239.
- Tufarelli, V. and Laudadio, V., (2011). Dietary supplementation with selenium and vitamin E improves milk yield composition and rheological properties of dairy Jonica goats. *Journal of Dairy Research*, 78: 144-148.
- Wang, L.S.A. (2011). Recent Advances of Nano-selenium in Animal Nutrition. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 11(4): 14-21.
- Xiao, J., Zahoor, T., Khan, M., Ma, Y., Alugongo, J.M., Ma, J., Chen, T., Khan, A. and Cao, Z., 2021. The Antioxidant Properties of Selenium and Vitamin E; Their Role in Periparturient Dairy Cattle Health Regulation *Antioxidants*, 10: 1555.
- Yildiz, A., Balikci, E. and Gurdogan, F., (2015). Effect of injection of vitamin E and selenium administered immediately before the Ovsynch synchronization on conception rate, antioxidant activity and progesterone levels in dairy cows. *Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 29: 183–186.
- Zhang, J., Liu, C.L., Liu, J.J., Bai, X.H., Cao, Z.K., Yang, J. and Yu, M. (2021). Ramakrishnad S, Long YZ, 2021. Eluting mode of photodynamic nanofibers without photosensitizer leakage for one-stop treatment of outdoor hemostasis and sterilizing super bacteria. *Nanoscale*, 13: 6105–6116.
- Ding, Z., Li, W., Huang, J., Yi, B. and Xu, Y. (2017). Dietary alanyl-glutamine and vitamin E supplements could considerably promote the expression of GPx and PPAR $\alpha$  genes, antioxidation, feed utilization, growth, and improve composition of juvenile cobia. *Aquaculture* 470: 95–102.

Received: 29.12.2021

Accepted: 03.09.2022



## Evaluation of the serum total antioxidant capacity following administration of selenium nanoparticles, sodium selenite and vitamin E injection in suckling lambs

Saman Mohammadi Rad<sup>1</sup>, Ehsan Anassori<sup>2\*</sup>, Aligholi Ramin<sup>3</sup> and Siamak Asri-Rezaei<sup>3</sup>

<sup>1</sup> DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>3</sup> Professor, Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 29.12.2021

Accepted: 03.09.2022

### Abstract

The set of non-specific antioxidant activities is called Total Antioxidant Capacity (TAC). The aim was to determine the serum TAC level following selenium and Vit.E supplementation in lambs. Thirty two male Macuei lambs under 2 months of age and average weight of 10 kg were selected. Lambs were classified into 8 groups including control, Vit.E, Se nanoparticles (NanoSe), Oral sodium selenite (NaSe), NaSe Injection, NanoSe/Vit.E, Oral NaSe/Vit.E and Se/Vit.E (E/Se) injection and studied for 90 days. Lambs were bled 6 times around 5 ml at days 1, 7, 14, 30, 60 and 90 and sera were used to assess TAC concentration. In all, the lowest TACs in lambs was observed in the NanoSe group (1.17  $\mu\text{mol/l}$ ) and the highest was in the injected E/Se group (1.32  $\mu\text{mol/l}$ ) on day 60, but the differences among 8 groups during the 90 days were not significant. During the 90 days of investigation the most stable and lowest changes in TAC concentration was observed in the Vit.E group and the most unstable changes were revealed in the NanoSe and injected NanoSe/Vit.E groups. The mean TAC concentrations on days 14 and 60 were significant among groups, which was mainly predominant in the injected sodium selenite and injected selenium/vitamin E groups, respectively. Comparison of TAC concentration among sampling times revealed the difference in NanoSe and NanoSe/vitamin E in which the lowest concentration belonged to NanoSe. The results of the interaction effect of sampling time and groups on TAC concentration showed a significant time difference, especially on days 14 and 60, with no significant difference between groups. TAC concentration in the first day was correlated with day 60 in the control group, day 7 and 14 in NanoSe/Vit.E, group and day 60 in injected E/Se. In conclusion, selenium and Vit.E supplements had no effect on TAC levels, whereas TAC levels were time-dependent. Therefore, the activity of nonspecific antioxidants (TACs) is not affected by specific antioxidants such as selenium and Vit.E and changes over time.

**Key words:** Nanoselenium, Sodium selenite, Vit.E, Lamb, TAC

---

\* **Corresponding Author:** Ehsan Anassori, Associate Professor, Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran  
E-mail: e.anassori@urmia.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).