

2. Streszczenie

Produkcja drobiarska w Polsce i na świecie od kilkunastu lat staje się jedną z najlepiej rozwiniętych i najistotniejszych wśród produkcji zwierzęcych. Kurczęta brojlery poddawane są intensywnej selekcji, która niesie za sobą szereg negatywnych konsekwencji, w tym pogorszenie ogólnego dobrostanu i stanu zdrowia zwierząt. Najczęstszymi problemami u kurcząt jest nekrotyczne zapalenie jelit wywoływane przez bakterie *C. perfringens* oraz kolibakterioza powodowana przez bakterie *E. coli*. Ze względu na zakaz prewencyjnego stosowania antybiotyków w Unii Europejskiej (Rozporządzenie nr 1831/2003/WE), nastąpił wzrost częstości tych zakażeń u brojlerów. Patogeny bakteryjne mogą upośledzać funkcje przewodu pokarmowego i bariery jelitowej poprzez zaburzenie funkcji białek ścisłych połączeń, inicjowanie kaskad zapalnych oraz poprzez zmiany epigenetyczne i oksydacyjne. Choroby te powodują ogromne straty w przemyśle drobiarskim, a sam przemysł będzie nadal stanowił poważne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego ze względu na jego rolę jako wektora chorób odzwierzęcych oraz poprzez zwiększenie ryzyka powstawania oporności na antybiotyki z powodu niewłaściwego stosowania leków weterynaryjnych. W ciągu ostatnich dekad prowadzono badania nad alternatywnymi metodami ograniczania stanów zapalnych u brojlerów, które jednocześnie pozwalają utrzymać wydajność ptaków, są bezpieczne dla konsumentów i nie przyczyniają się do rozwoju antybiotykoodporności. Skuteczne strategie kontroli infekcji można opracować poprzez identyfikację interakcji zachodzących w przewodzie pokarmowym ptaków i zrozumienie zależności między stanem przewodu pokarmowego, a bioaktywnymi składnikami odżywczymi, takimi jak kannabidiol (CBD) i nano-selen (nano-Se).

W ramach niniejszej rozprawy doktorskiej przeprowadzono dwa doświadczenia na kurczętach brojlerach. Pierwsze z nich miało na celu ocenę wpływu diet wzbogaconych w CBD oraz nano-Se na funkcjonowanie przewodu pokarmowego w warunkach fizjologicznych i patofizjologicznych. W drugim doświadczeniu analizowano, jak infekcja bakteriami *C. perfringens* lub ekspozycja na lipopolisacharyd *E. coli* oddziałują na struktury i funkcje bariery jelitowej. Ocenie poddano zarówno wyniki odchowu ptaków, jak i szereg wskaźników biologicznych, wykorzystując metody spektrofotometryczne (w tym oznaczenie poziomu kolagenu w jelicie czczym, stężenia izotiocyanianu fluoresceiny-dekstranu we krwi i aktywności enzymów bakteryjnych w jelitach ślepych), analizy histologiczne (ocenę struktur morfologicznych, zmian histopatologicznych oraz ultrastrukturalnych jelit cienkich), techniki real-time qPCR (ekspresja genów związanych m.in. z integralnością bariery jelitowej, stresem oksydacyjnym i odpowiedzią immunologiczną), testy immunoenzymatyczne (w tym analiza markerów zdrowia jelit oraz zmian epigenetycznych i oksydacyjnych), a także oznaczenie stężenia hemoglobiny we krwi.

Wyniki badań własnych wykazały, że zarówno infekcja *C. perfringens*, jak i ekspozycja na LPS *E. coli* prowadzą do niekorzystnych zmian w strukturach i funkcjach przewodu pokarmowego, w tym osłabienia integralności bariery jelitowej. Procesy te związane są z zaburzoną ekspresją białek tworzących ścisłe połączenia, osłabioną funkcją ochronną nabłonka jelitowego oraz upośledzeniem odpowiedzi immunologicznej kurcząt. Dodatkowo zaobserwowano, w zależności od czynnika zakaźnego, negatywne modyfikacje epigenetyczne i oksydacyjne, zarówno w przewodzie pokarmowym, jak i we krwi. Zastosowany model subklinicznego zakażenia *C. perfringens* nie powodował typowych objawów klinicznych ani zmian charakterystycznych dla zaawansowanej infekcji w badaniu makroskopowym i mikroskopowym co potwierdza, że choroba może rozwijać się w sposób utajony. Mimo braku nekrotycznych zmian, typowych dla ostrego zapalenia jelit, stwierdzono obniżenie poziomu kolagenu w jelicie czczym oraz zaburzenia w morfologii jelita cienkiego, co dodatkowo może osłabiać funkcje bariery przewodu pokarmowego.

Zastosowanie w diecie ptaków CBD i nano-Se wykazało działanie ochronne i regulujące względem przewodu pokarmowego i bariery jelitowej. Oba związki, zarówno stosowane osobno, jak i w kombinacji, wpływały korzystnie na utrzymanie strukturalnej i funkcjonalnej integralności jelit oraz wspomagały reakcje odpornościowe organizmu, nie wywołując jednocześnie niekorzystnego wpływu i negatywnych zmian jakościowych w strukturach jelit cienkich ani działania antagonistycznego w warunkach fizjologicznych i patofizjologicznych. W warunkach stresu immunologicznego, związanego z zakażeniem, ich synergistyczne działanie objawiało się łagodzeniem odpowiedzi zapalnej, bardziej kontrolowaną odpowiedzią immunologiczną, poprawą integralności bariery jelitowej oraz modyfikacją aktywności enzymów bakteryjnych, co może wpływać na efektywność wykorzystania energii przez organizm podczas infekcji. Nano-Se przyczyniał się do zwiększenia poziomu hemoglobiny we krwi, co może mieć znaczenie w kontekście statusu zdrowotnego i ogólnej wydolności brojlerów, natomiast CBD wspierał mechanizmy ochrony komórek jelitowych przed cytotoksycznymi efektami *C. perfringens*.

Wyniki badań własnych wykazały, że zrozumienie mechanizmów działania CBD i nano-Se jest wysoce istotne dla opracowania strategii prewencyjnych wobec enteropatii jelitowych u kurcząt brojlerów. Ponadto, niniejsze badania dostarczyły nowych informacji na temat biologicznego działania i mechanizmów obu dodatków, a także patofizjologii zakażeń *C. perfringens* oraz ekspozycji na LPS *E. coli* u ptaków.