

УДК 619:615.2:549.232

К МЕХАНИЗМАМ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ СЕЛЕНА

Д.Б. Волошин, Л.Б. Заводник, Е.С. Печинская

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь.

А. Шимкус

Литовская ветеринарная академия, г. Каунас, Республика Литва

***Аннотация.** Целью настоящей работы было изучение механизмов биохимической взаимосвязи селена и антиоксидантной системы организма млекопитающих, сравнение эффективности действия органического и минерального селена. В работе описываются пути трансформации различных форм селена и механизмы антиоксидантной защиты, происходящие на субклеточном уровне. Обосновываются преимущества органического селена над минеральным, указана степень биохимического влияния их на антиоксидантный статус организма.*

***Summary.** This article is devoted to the problem of biochemical interaction of selenium and antioxidational system of mammals organism. The problem we have touched is about the efficiency of influence of organic and inorganic selenium to the ways of transformation of different selenium forms of antioxidational protection. Its protection is taking place on subcellular level. The advantages of organic selenium are proved, the degree of its biochemical influence on an antioxidational status of health are indicated.*

Введение. Антиоксидантному статусу организма человека и животных в настоящее время учеными уделяется большое внимание. Благодаря данной системе токсические метаболиты, образующиеся в организме в процессе обмена веществ, такие как атомарный кислород, азот и хлор, образующие свободные радикалы, – остаются на достаточно низком и безопасном уровне. Селен является одним из самых мощных прооксидантов, микроэлементом, обеспечивающим функционирование антиоксидантной системы. Раскрытие биохимических механизмов участия селена в защите организма от агрессивных воздействий оксидантов дает ключ к дальнейшей разработке более эффективных средств и методов лечения как гипоселенозов человека и животных, так и коррективки нарушений метаболизма, профилактике многих острых и хронических заболеваний, таких как гепатит, артрит, сердечная недостаточность, рак. Исходя из полученных данных возможно создание препаратов нового поколения на основе органического селена.

Селен был открыт шведским химиком И.Я. Берцелиусом в 1817 году. Свое название он получил в честь луны – Selene. Селен –

халькофильный химический элемент, встречающийся в природе практически во всех материалах земной коры в малых количествах. В химическом отношении он близок к сере. При воздействии с другими элементами селен проявляет валентности 2, 4 и 6 [1].

Неравномерное распределение селена в почве и воде обуславливает различную концентрацию его в растениях разных природно-климатических зон. Установлена определенная корреляция между содержанием селена в почве и кормовых растениях, с одной стороны, и в организме животных – с другой [1, 4]. Селен взаимосвязан в организме животных и человека с различными органическими, неорганическими и многими биологически активными веществами, чем и обусловлены его чрезвычайно разнообразные функции. Велика роль селена в обмене белков, жиров и углеводов, в регуляции ферментативных реакций и в окислительно-восстановительных процессах. В связи с этим препараты селена широко применяются не только для профилактики и лечения заболеваний, но и для повышения продуктивности животных [5].

Цель работы. Изучить влияние органического и неорганического селена на активность антиоксидантной системы в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методика исследований. В условиях АО «Зельва» (Литва), где недостаток селена достигает 30-49% [11], изучали влияние органического селена на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и функциональное состояние антиоксидантной системы организма. Опыт проводился на свиноматках пород норвежский ландрас и норвежский йоркшир. Животных содержали на стандартном рационе. Препараты селена назначали свиноматкам в период супоросности и подсоса и свиньям с 5 до 178 дней (до убоя). Животные контрольной группы (n=8) получали селенит натрия – по 250 г/т, опытной (n=8) аналогичное количество препарата Selenium yeast, представляющего собой дрожжевые клетки, выращенные на питательной среде, с повышенной концентрацией селена (0,1% действующего вещества).

В гомогенатах мышц, печени и цельной крови определяли уровень ПОЛ по общепринятому методу – содержанию субстратов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС), и способности тканей к их спонтанному накоплению за 1 ч инкубации при температуре 37°C [5]. Кроме того, исследовали активность одного из главных антиоксидантных ферментов – глутатионпероксидазы (GSHPx) и уровень его субстрата – восстановленного глутатиона (GSH). Концентрацию GSH регистрировали спектрофотометрически с реагентом Элмана [6]. Содержание селена в тканях атомно-адсорбционным методом на спек-

трофатометре Analyst 800. Содержание белка в пробе определяли по методу Лоури [7, 8].

Результаты обрабатывали статистически с использованием непараметрического анализа по программе Statistic 6.0.

Кроме того, для раскрытия биохимических процессов взаимодействия селена с антиоксидантной системой, проводили постановку опытов *in vitro*. Для этого селенит натрия добавлялся в кровь свиней в разведении от 1 мкг до 10 мг на 1 мл и инкубировали в течение 1 ч при температуре 37°C. Уровень перекисного окисления липидов определяли по концентрации субстратов реагирующих с тиобарбитуровой кислотой.

Результаты исследования и их обсуждение. В опытах введения препаратов растущим животным установлено, что биодоступность органического селена выше, чем селенита натрия. Содержание селена в мышцах животных опытной группы составляло $0,023 \pm 0,002$ мг/кг против $0,018 \pm 0,001$ мг/кг у животных контрольной ($P < 0,05$).

Наряду с этим выявили, что органический селен обладает выраженными антиоксидантными свойствами. В тканях печени подопытных свиней, получивших органический селен, уровень ТБК – продуктов снизился на 32%, способность к спонтанному переокислению на – 27%. Уменьшение концентрации субстратов для GSHPx привело к достоверному снижению активности фермента (таблица).

Аналогичные, но более выраженные изменения были в мышечной ткани. Так, уровень ТБК-продуктов в гомогенате длиннейшей мышцы спины снизился на 49%, GSH – на 33%, активность GSHPx – на 34% (таблица).

При исследовании перекисных процессов в цельной крови выявлены сходные тенденции по отношению к ткани мышц и печени. Однако изменения показателей были недостоверными, что указывает на интегративный характер процессов, происходящих в крови.

Таблица – Изменение антиоксидантного статуса тканей свиней, получивших препарат органического селена (250 г/т, ежедневно).

Показатель	Контроль	Опыт	% к контролю
1	2	3	4
Печень			
GSHPx, мкмоль GSH/(мин·мг белка)	$1,53 \pm 0,23$	$1,55 \pm 0,13^*$	85
ТБК-продукты, нмоль/мг белка	$0,287 \pm 0,107$	$0,194 \pm 0,084^*$	68
ТБК-продукты спонтанные, нмоль/мг белка	$1,34 \pm 0,46$	$0,98 \pm 0,13^*$	73

Продолжение таблицы			
1	2	3	4
GSH нмоль/мг белка	11,8±1,2	9,9±1,1*	83
Кровь (цельная)			
GSHPx, мкмоль GSH/(мин·мг белка)	57,3±12,6	50,9±16,9*	89
ТБК-продукты, нмоль/мг белка	1,56±0,86	1,24±0,64*	79
ТБК-продукты спонтан- ные, нмоль/мг белка	5,36±0,14	4,24±1,60*	76
Мышцы			
GSHPx, мкмоль GSH/(мин·мг белка)	58,65±11,4	39,65±7,67*	67
ТБК-продукты, нмоль/мг белка	52,40±15,76	26,91±5,73*	51
GSH нмоль/мг белка	20,07±4,51	13,83±3,43*	69

*P<0,05 по сравнению с контролем.

Однако при добавлении минерального селена в различных его дозах в кровь в среде *in vitro* мы получили противоположные результаты, по отношению к вышеописанным. При увеличении концентрации минерального селена, как видно из графика 1, уровень субстратов реагирующих с ТБК увеличивался, что говорит об угнетении антиоксидантной защиты.

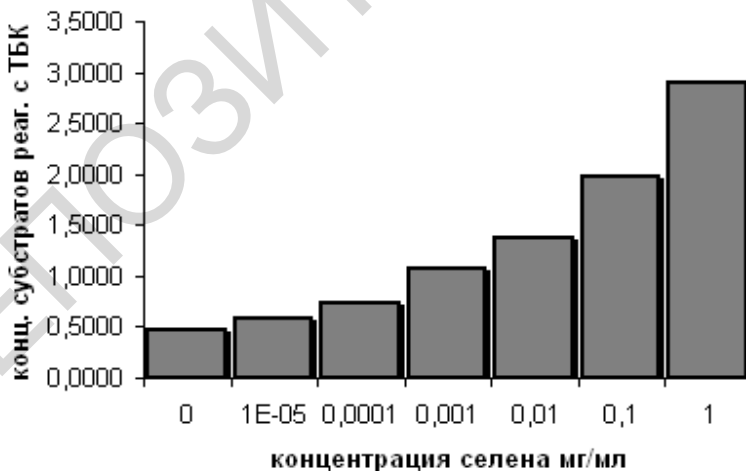


Рисунок 1 – Концентрация субстратов, реагирующих с ТБК (мкмоль/л крови)

Такое действие минерального селена объясняется, с нашей точки зрения, химической модификацией свободных SH – групп глутатиона и «блокадой» его антиоксидантных свойств. Кроме того, не входя в состав метеонина и цистеина, препарат не может активировать ферменты, участвующие в нейтрализации перекисей (рис. 2).

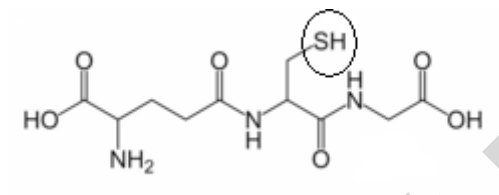


Рисунок 2 – Структурная формула глутатиона

Обсуждение результатов. Поступивший в организм минеральный селен в виде селенат- или селенит-анионов, после всасывания соединяются с водородом, образуя селеноводород – токсический для организма продукт. Избыток селеноводорода ферментируется с образованием соединений, которые выводятся с потом и мочой. И лишь незначительная часть селена включается в состав необходимых организму аминокислот – селенометионин и селеноцистеин. Данные кислоты входят в состав таких белков, как гемоглобин, тканевые белки, глутатионпероксидаза [8].

Высокую внутриклеточную концентрацию восстановленной формы глутатиона поддерживает глутатионредуктаза за счет обратимого NAD(P)H-зависимого восстановления GSSG с образованием 2 молекул GSH [9].

Уникальным свойством глутатионпероксидазы является ее способность разрушать разнообразные гидроперекисные субстраты, в том числе гидроперекиси кортикостероидных гормонов, холестерина, тиамин, ДНК. Разрушая высокотоксичные гидроперекиси липидов, образующиеся в качестве нормальных промежуточных продуктов обмена веществ тканей животных (например, при синтезе простагландинов из арахидоновой кислоты), глутатионпероксидаза предотвращает образование свободного гидроксилрадикала и синглетного кислорода, дезинтегрирующих клеточные и субклеточные мембраны и приводящие к гибели клетки [1].

Глутатионпероксидаза функционально связана с ферментами и субстратами, обеспечивающими образование цистина, необходимого для биосинтеза глутатиона из метионина, восстановлением окисленного глутатиона (ФАД-зависимая глутатионредуктаза), генерации НАДФН, образовании глюкозо-6-фосфата (гексогеназа), образовании

цистеина из метионина, а также биосинтез глутатиона, образование НАДФ, глюкозо-6-фосфата, биологически активных соединений двухвалентного селена и конечных продуктов обмена [10].

Органический селен в виде селенметионина при поступлении в организм преобразовывается в селеноцистеин, который непосредственно включается в селенопротеины и принимает участие во многих метаболических процессах. В настоящее время идентифицировано более 20 селенопротеинов и только у половины обнаруженных селенопротеинов описаны функции. Однако многие авторы предполагают, что их существует более 50 [11].

Большая часть селенопротеинов является внутриклеточными ферментами с антиоксидантными свойствами. Они удаляют свободные радикалы и превращают пероксидацию липидов в соответствующие спирты, а перекись водорода в воду [12]. Это защищает клеточные структуры от окислительного стресса и сохраняет субстраты межклеточного пространства в восстановленном состоянии, что важно для функционирования клетки и, в конечном итоге, для поддержания оптимального уровня физиологических функций целого организма.

Заключение. Наиболее биохимически эффективной формой селена является селенометионин и селеноцистеин – селеносодержащие аминокислоты, благодаря которым функционирует селензависимая антиоксидантная система организма. Полученные результаты лабораторных исследований позволяют считать, что применение минерального селена, на сегодняшний день, должно быть ограничено, вследствие его высокой токсичности и меньшей эффективности, особенно в отношении профилактики заболеваний, связанных с нарушением гомеостаза антиоксидантной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ю.Ф. Мишанин «Метаболизм селена в организме животных». Кубанский государственный технологический университет, г. Краснодар.
2. Алешко С.Ф., Беренштейн Т.Ф., Карлович Г.А. К вопросу о влиянии селена на некоторые показатели естественного иммунитета у кроликов // Матер. IV Всесоюз. конференц. по физиологии и биохимии ... 12–16 сентября, 1966. – Боровск, Кн. Л. – С. 27–28.
3. Мишанин Ю.Ф., Прядко А.А., Мишанин М.Ю. Азотистый обмен в организме жеребых кобыл и жеребят при введении амилоселеидина. Междунар. конференц., 4 октября 2000 г. – Воронеж. – 2000. – Т.1. – С. 81–83.
4. Экономическая эффективность использования амилотропина молодняку крупного рогатого скота на откорме / Ю.Ф. Мишанин, А.Ю. Мишанин, А.В. Кочерга и др. // Сб. тр. КНИИХП «Развитие инвестиционных технологий обработки сырья растительного и животного происхождения». – Краснодар, 2006. – С. 50–53.
5. Гусейнов Т.М., Насибов Е.М., Джафаров А.И. // Биохимия. 1990. Т. 55. № 3.
6. Карузина И.И., Арчакова А.И. Современные методы в биохимии. / Под ред. В.Н. Ареховича. – М.: Медицина. 1997.
7. Lowry O.N. Rosenbrough N.G. Farr A.L. // J. Biol. Chem. 1991. vol.193.

8. Omura T., Sato R., Cooper D.Y. // Fed. Proc. 1965. Vol. 9. Boggaram V., Brobjer T., Larson K., Mannervik B. Purification of Glutathione reductase from porcine erythrocytes by the use of affinity chromatography on 2',5'-ADP-sepharose 4B and crystallization of the enzyme // Anal. Biochem. – 1979. – Vol. 98. – P. 335-340.
9. Schulz G.E., Schirmer R.H., Pai E.F. FAD-binding site of Glutathione reductase // J.Mol. Biol. – 1982. – Vol. 160. – P. 287-308.
10. Mills G.C., Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J. Biol. Chem. – 1957. – V. 229. – P. 189–194.
11. Feeding times: «Значение селена для различных видов животных»: Т. 7, №. 2, 2002 г. 32 с.
12. Stocks J. The auto oxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide / J. Stocks, T. L. Dormandy // British Journal of Haematology. – 1971. – Vol. 20. – P. 95-111.

УДК:619:616-092:636.4

ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПОРОСЯТ ОТЪЕМНОГО ВОЗРАСТА

Д.В. Воронов

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь, 230008

***Аннотация.** В статье приведены результаты исследований, полученные при использовании фистульных методов ветеринарной медицины.*

Цель работы: установление показателей и особенностей функционирования тонкого кишечника у поросят-отъемышей. В результате проведенных исследований установлены микробиальный фон кишечника, уровень активности альфа-амилазы и особенности всасывания углеводов в тонком кишечнике у подопытных поросят.

***Summary** The results of researches received at use of fistula-methods of veterinary medicine are shown in the article .*

The purpose of activity is to determine the indexes and specificity of functioning of the intestine of post-weaning pigs. The microbiocenosis of intestine, enzyme activity of alpha amylase and specifics of absorption of carbohydrates in intestine at experimental pigs were established as the result of investigations.

Введение. Большим препятствием в решении задач, стоящих перед животноводством Республики Беларусь, являются незаразные болезни молодняка свиней, наносящие существенный экономический ущерб народному хозяйству вследствие гибели, затрат на лечение, снижение продуктивности и племенных качеств переболевших животных. Один из самых критических периодов выращивания свиней является отъем поросят. В связи с этим ведущее место среди болезней молодняка в промышленном свиноводстве занимают послеотъемные гастроэнтериты [4].