



ОТЧЕТ

по изучению функциональной пригодности отечественного органического соединения селена - **селексена**.

Обнинск 2000 г.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время селену отводится исключительно важная роль в регуляции обмена веществ. Селен является составным компонентом более 30 жизненно важных биологически активных соединений организма высших животных. Селен входит в активный центр ферментов системы антиоксидантно-антирадикальной защиты организма, метаболизма нуклеиновых кислот, липидов, гормонов (глутатионпероксидазы, йодотиронин-дейодиназы, тиоредоксинредуктазы, фосфоселенфосфатазы, фосфолипид-гидропероксид-глутатионпероксидазы, специфических протеинов Р и W и др.).

С целью поддержания гомеостаза в организме с помощью регуляции оксидантно-антиоксидантных процессов могут использоваться препараты минеральных солей селена. Препараты селена обладают широким спектром действия. Они оказывают защитное действие при отравлении тяжелыми металлами, препятствуют прогрессирующему развитию злокачественных образований, предотвращают обусловленные дефицитом витамина Е, такие заболевания, как беломышечная болезнь, диетический гепатоз, сердечно-сосудистые патологии и др. Кроме того, препараты селена обладают бактериостатическими, фунгицидными, противоопухолевыми, антигистаминными, антидепрессивными действиями, нормализуют антиоксидантную функцию печени и др. Эти свойства, в конечном итоге, также объясняются антиоксидантными свойствами селена и его способностью стабилизировать клеточные мембраны. Селеносодержащие препараты во много раз активнее своих тиоаналогов.

Препараты селена используются для ликвидации селенового дефицита. В то же время, большинство предлагаемых препаратов приготовлено из селенита натрия или при их приготовлении использовалась эта соль, что также не исключает наличие остаточных количеств этого высокотоксического продукта. Имеются селеносодержащие аминокислоты, токсичность которых находится на уровне селенита натрия.

Вышесказанное диктует поиск новых менее токсичных препаратов селена с высокой антиоксидантной активностью и положительным влиянием на иммунную систему организма.

По современным воззрениям процесс образования и нейтрализации свободных радикалов можно отнести к ведущему процессу, принимающему самое непосредственное и активное участие в регуляции обмена веществ в организме здорового человека и животного. Эта же всеобщность свободнорадикальных процессов может рассматриваться как единый, унифицированный патогенетический механизм лежащий и у истоков, и в основе развития огромного количества патологических процессов в любой клетке, ткани и органе безотносительно причин вызвавших патологию

Ключевая роль липопероксидации в инициации процессов патогенеза в настоящее время общепризнанна. В начальной фазе стресса весь настрой метаболизма, определяемый взаимодействием нервной, иммунной и эндокринной систем, направлен на нормализацию процессов липопероксидации. Одним из главнейших компонентов широко разветвленной и глубоко эшелонированной системы антиоксидантно-антирадикальной защиты стоящей на страже организма от окислительного стресса, по праву считается фермент супероксид-дисмутаза (СОД). Назначение фермента состоит в превращении сверхреакционноспособного метаболита кислорода супероксиданиона (в сотни раз более активного чем молекулярный кислород) в молекулярный кислород и перекись водорода. Оба эти соединения далеко не безобидны для клетки и обладают высокой окислительной активностью. Задача их нейтрализации решается следующими за СОД ферментами. И, опять-таки, главнейшим из них является глутатионпероксидаза (ГПО), которая катализирует реакцию гидролиза перекиси водорода или органических гидроперекисей, сопровождающуюся окислением восстановленного глутатиона. Именно с открытием ГПО и выяснением ее биологической функции связан значительный прогресс в понимании роли селена в организме. ГПО – один из 30 селеносодержащих биологически активных веществ. 1 грамм-молекула фермента содержит 4 грамм-атома селена. Селен может находиться в активном центре фермента в двух состояниях; в восстановленной форме типа селенола (E-SeH) и окисленной – типа селениновой кислоты

(E-SeOH). Согласно схеме трехэтапного механизма действия ГПО на первом этапе селенол окисляется перекисью в селениновую кислоту, а на следующих двух этапах окисленный энзим, взаимодействуя поочередно с двумя молекулами восстановленного глутатиона, восстанавливается до исходной формы селенола.

В последнее десятилетие ведется активный поиск селенсодержащих веществ для введения их в продукты питания или использования в виде самостоятельной, либо комбинированной пищевой добавки. Наибольшее распространение в качестве селен содержащей добавки получили препараты в виде раствора селенита натрия или полученные на его основе, например «неоселен» (1). Но селенит натрия высокотоксичное соединение и свободная доступность его потребления и использования могут привести к непредсказуемым последствиям. Органические соединения селена – селенометионин и селеноцистеин имеют высокую стоимость, а их токсичность находится на уровне селенита натрия. В настоящее время в продаже имеется ряд селенсодержащих препаратов:

- «Неоселен» – водный раствор селенита натрия (1);
- «биоселен» – селеновая добавка на основе хлебопекарских дрожжей (2);
- автолизат обогащенных селеном пекарских дрожжей (3);
- «Селена-вэл» - гидролизат обогащенных селеном пекарских дрожжей с добавлением спинурины (Гигиен, серт. № 72-ЦГС-2685, ТУ № 9284-001-18241879-97, Минздрав РФ);
- финский препарат «Селена» (4);
- деполен – эмульсия селенита бария в вазелиновом масле(5);
- «седефиз» – комплексный препарат солей железа, йода и селена(6).
- селенорутин – комплексный препарат селенита натрия с витамином Р (7);

Все перечисленные и многие другие препараты в своем составе либо имеют селенит натрия, или, как в случаях с дрожжами, получены с добавлением в культуральную среду высоких концентраций селенита натрия при их выращивании. При использовании всех видов обогащенных селеном дрожжей, потребитель имеет дело с недостаточно строго идентифицированным продуктом. Обычно в рекламных проспектах указывается, что селен находится в наиболее приемлемой, физиологически адекватной для организма форме – органической. При этом часто умалчивается соотношение в препарате минеральных и органических форм селена и в каком виде находится органический селен. В работе (4) при сравнении действия отечественного препарата "Биоселен" на основе пекарских дрожжей и финского "Селена", обнаружено содержание минерального селена в обоих препаратах до 10%, а селенометионина-60-70%.

Если это, обычно рекламируемые, автолизаты или гидролизаты дрожжей, то селен, помимо остаточного селенита натрия, должен находиться в них в виде селеноаминокислот и селеноолигопептидов, с включенными в них селеноаминокислотами. Селеноолигопептиды, точно также как и все остальные высокомолекулярные белковые соединения, перед включением в метаболический процесс проходят в организме естественную стадию эндогенного гидролиза до аминокислот. Селеноаминокислоты, появившиеся в свободном виде, а это прежде всего селеноцистеин и селенометионин, обладают столь же высокой токсичностью, что и селенит натрия.

За рубежом на протяжении последних 20 лет продолжает интенсивно изучаться органический препарат селена - эбселен (8). Препарат обладает самостоятельной глутатионпероксидазной активностью и исключительно малотоксичен. Но это, чрезвычайно ценное качество обусловлено его полной неметаболизируемостью в организме и, следовательно эбселен совершенно не может служить источником селена.

В Саратовском университете получен органический препарат селена ДАФС (диацетофенилселенид (16). Но он только в восемь раз менее токсичный селенита натрия и совершенно не обладает антиоксидантной активностью. Использование его людям для ликвидации дефицита селена или коррекции какой-либо другой функции, регулируемой с помощью

вводимого селена также связано с большим риском.

В последнее десятилетие широко исследуется отечественный органический малотоксичный, жирорастворимый препарат селена – селексен (СО). (11,12). В сравнении с широко применяемыми в настоящее время неорганическими и органическими препаратами селена, селексен выгодно отличается, от всех описанных выше препаратов, уникальным сочетанием метаболизируемости, с последующим высвобождением и включением в метаболический пул содержащегося в нем селена, и самостоятельной функциональной активностью, проявляемой собственно молекулой селексена. Желательно, чтобы органические соединения, на основе которых проводится синтез селенсодержащих веществ также оказывали положительный эффект на организм человека. Такими соединениями являются многочисленные производные тиоксантена, обладающие очень широким спектром действия (бактерицидным, радио защитным, противоопухолевым, седативным, спазмолитическим, болеутоляющим, снотворным и др.). Поэтому было предположено, что препараты полученные путем введения селена в ксантеновый гетероцикл (в случае тиоксантенов сера заменяется на селен) будут обладать такими же свойствами, как и тиоксантены и при этом могут служить источником селена. Селексен (селексенантен) оправдал предположения и применим во всех тех случаях, в которых применяются другие препараты селена. Кроме этого, он обладает широким спектром ценных свойств, отсутствующих у других препаратов селена.

В последнее время к микроэлементам, в том числе и к селену начали проявлять интерес и работники пищевой промышленности. Физиологические и биохимические характеристики человека, лабораторных и сельскохозяйственных животных и птицы по большому перечню критериев аналогичны. В практике животноводства для повышения продуктивности и профилактики целого ряда заболеваний с.-х. животных широко применяются препараты, используемые в медицине. Вследствие специфики отрасли, новые препараты быстрее испытываются именно в животноводстве. В животноводстве давно применяют неорганические соединения селена в качестве микродобавок к кормам или в виде инъекций и зарекомендовали себя как эффективные лечебные профилактические и стимулирующие рост средства, повышающие продуктивность, не нарушая физиологического статуса животных, а только мобилизуя внутренние резервы организма. Однако, несмотря на эффективность селенсодержащих препаратов, на производстве, из-за опасности передозировки при высокой токсичности всех известных соединений селена, их используют с большой опаской или они не нашли повсеместного применения.

Селексен, внесенный в жиры и корма, проявляет антиоксидантные свойства, не уступающие традиционно применяемым в ветеринарии и медицине антиоксидантам. Он активизирует ферменты антиоксидантной защиты организма. Снижает образование новых и нейтрализует ранее образовавшиеся активные продукты перекисного окисления липидов, улучшает функционирование клеточных мембран, нормализует обмен веществ, активизирует клеточное, гуморальное и фагоцитарное звенья иммунитета, повышает неспецифическую резистентность и продуктивность животных. Токсичность селексена ниже, чем у всех известных органических соединений селена и, по крайней мере, более чем в 100 раз меньше, чем у селенита натрия.

При испытании селексена на сельскохозяйственных животных и птице снижается падеж поголовья на 15-40 %, живая масса тела повышается на 3-16 % при улучшении физиологических и биохимических показателей или сохранении их в пределах нормы. После внесения селексена в жиры и продукты питания, богатые липидами, предотвращается перекисное окисление липидов, улучшаются их потребительские качества, увеличивается срок хранения. В соответствии с проведенными нами многочисленными экспериментами на животных, по использованию селексена в сухом виде или в виде масляного раствора добавляемого в корма, инъецированными в виде масляных растворов или в пролонгированной форме, с изучением обширного набора физиологических и биохимических показателей, мы пришли к заключению, что его можно с успехом применять для повышения защитных сил организма в борьбе с неблагоприятными факторами биологической, химической и физической при-

роды, содержащимися в воде, кормах и воздухе, включая радионуклидные, а также как:

1. Антиоксидантный препарат широкого спектра действия (как в продуктах питания, так и в живом организме).
2. Иммуномодулирующий препарат.
3. Адаптогенный, антистрессовый препарат (во всех случаях стрессиндуцированных патологий, где ведущую в патогенезе роль играют свободнорадикальные реакции).
4. Препарат, нормализующий воспроизводительную функцию мужских и женских особей.
5. Радиопротектор.
6. Профилактический и лечебный препарат при всех случаях дефицита селена в рационе.

Вышеперечисленные выводы сделаны на основании комплекса физиолого-биохимических и иммунологических показателей, исследовавшихся в экспериментах, проведенных с использованием селексена. (Временное наставление по применению селексена для животноводства утверждено Департаментом животноводства и племенного дела Минсельхозпрода РФ 22.07.1997 года).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Селексен – (9-фенил-симметричный октагидроселексенантен), кристаллический порошок от бежево-оранжевого до светложелтого цвета, стойкий при хранении, со специфическим запахом селеноводорода, напоминающим сероводород. Селексен растворим в жирах, а также хорошо растворим в органических растворителях - толуоле, диоксане, этилацетате, эфире, гептане, слабо растворим в бутаноле, ацетонитриле, н-пропаноле. Эмпирическая формула – $C_{19}H_{22}Se$.

Эксперименты были выполнены на лабораторных (мыши, крысы, морские свинки) и сельскохозяйственных животных. В экспериментах, проводимых на сельскохозяйственных животных селексен использовался либо в виде масляных растворов в дозе 1г на тонну корма, либо в инъекционной форме. Была разработана инъекционная пролонгированная форма, предполагающих однократную инъекцию, создающую в организме длительно действующее депо биологически активного вещества. Инъекционная пролонгированная форма селексена была получена путем стабилизации его масляного раствора стеаратом алюминия в концентрации 3%.

Состояние антиоксидантно-антирадикальной системы крови экспериментальных животных оценивали по активности основных ферментов антирадикальной защиты - супероксиддисмутазы (СОД) по методу Мисра и Фридович в модификации Брусова (20), глутатионпероксидазы по методу Моина (22), общую антиоксидантную защиту крови, с желтком куриного яйца (19). В печени оценивали функциональную активность монооксигеназной системы путем дифференцированного определения количества и каталитической активности основного фермента системы цитохрома Р-450. Относительное количество цитохрома Р-450 в микросомальной фракции печени определяли по методу Омура и Сато (17), каталитическую активность – по накоплению в системе формальдегида с помощью реактива Наша (18). Количество ТБК-активных продуктов (малонового диальдегида) определяли по методу Журавлева и др. (19). Гемоглобин определяли цианметгемоглобиновым методом (21), величину гематокрита, рассчитывали по формулам включающим средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, среднюю концентрацию гемоглобина в объеме эритроцита. Общий белок – по Лоури (23). Состояние иммунной системы оценивали характеризуя гуморальное и клеточное звенья иммунитета и фагоцитоз, концентрацию иммуноглобулинов классов G, M и A (количество В-лимфоцитов, процент фагоцитирующих клеток, фагоцитарный индекс, индекс завершенности фагоцитоза, элиминирующую способность крови, количество лейкоцитов (21). Содержание иммуноглобулинов класса G, M и A определяли с помощью иммуноферментного анализа – твердофазный, гетерогенный, неконкурентный ме-

тод с использованием моноспецифических антисывороток. Общее количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, лейкоцитарную формулу – в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза (на двух стеклах по 600 клеток на каждом). Содержание общей популяции Т-лимфоцитов (Е-РОК) определяли с помощью реакции спонтанного розеткообразования лимфоцитов с эритроцитами барана, В-лимфоцитов (М-РОК) – с эритроцитами мыши (24). Субпопуляции иммуннорегуляторных Т-лимфоцитов, обогащенных хелперной (Е-РОК_ф) и супрессорной (Е-РОК_{тч}) активностью – в реакциях розеткообразования, применяя нагрузочный тест с теофилином (21). Фагоцитарный показатель (ФП) рассчитывали как процент нейтрофилов, способных к поглощению частиц латекса, фагоцитарный индекс (ФИ) – как среднее число частиц латекса, поглощенных одним активным нейтрофилом, фагоцитарное число (ФЧ) - как среднее число частиц латекса, приходящееся на один нейтрофил, абсолютный фагоцитоз (АФ) по Чумаченко В.Е. и др. (24), резерв абсолютного фагоцитоза как отношение абсолютного фагоцитоза в условиях стимулирования зимозаном к ба-зальным условиям. Функционально-метаболическую активность нейтрофилов оценивали по результатам реакции восстановления нитросинего тетразолия (21). Индекс активации нейтрофилов (ИАН) вычисляли согласно инструкции "Риакомплекс" по использованию НСТ-тест набора, подсчет среднего цитохимического коэффициента (СЦК) проводили по формуле, предложенной Макаревичем Н.А. (24).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Идентификация препарата

Элементный анализ, проведенный в Институте органической химии РАН, показал следующее соотношение элементов в молекуле:

Навеска, г	Углерод, %	Водород, %	Селен, %
7,604	70,33	6,88	23,80
6,710	70,22	6,81	23,3

Это соответствует брутто-формуле селексена: $C_{19}H_{22}Se$.

Инфракрасный спектр содержит пик поглощения при волновом числе 1600 см^{-1} , соответствующий фенольному радикалу, входящему в состав селексена и три пика с убывающей интенсивностью при волновых числах 1710 , 1670 и 1640 см^{-1} , которые характеризуют наличие пиранового цикла.

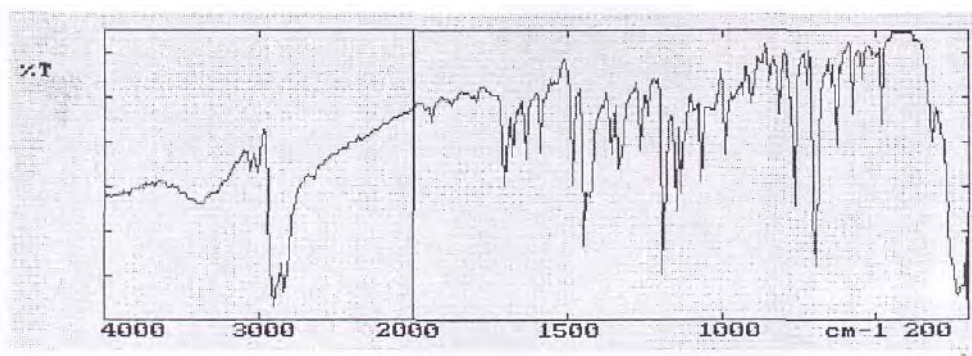


Рис.1. ИК-спектр селексена



Рис.2. фрагмент спектра селексена.

Спектр ядерного магнитного резонанса.

ЯМР спектр содержит одиночный пик при 3,5 м.д., две группы пиков при 7,25 и 7,45 м.д., которые соответствуют химическому сдвигу протонов фенильного радикала и пиранового цикла.

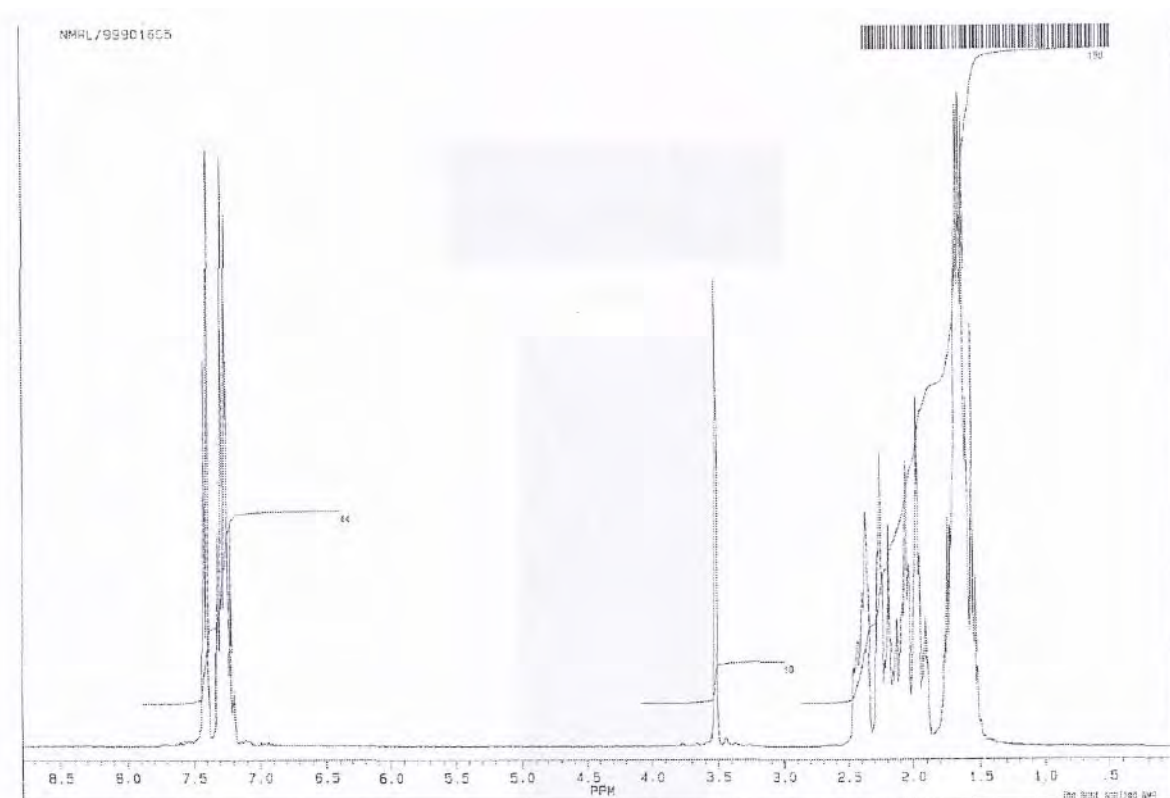


Рис.3 Спектр ядерного магнитного резонанса селексена

Эти данные подтверждают структуру полученной молекулы как 9-фенил-симм-октагидроселексенантена (или селексена).

Результаты исследований в условиях *in vitro*.

Анализ антиоксидантных свойств селексена *in vitro*

По результатам лабораторных исследований установлено, что селексен обладает выраженными и весьма специфическими антиоксидантными свойствами. Детальную оцен-

ку антиоксидантной активности (АОА) селексена изучали *in vitro* на моделях термического окисления метилового эфира олеиновой кислоты и натуральных растительных масел. Контролем служило окисление чистого метилолеата. Количество перекисей определяли йодометрическим методом, модифицированным нами для гидрофобных систем.

Исследовали ингибирующее влияние при разных температурных режимах и различных концентрациях СО на образование перекисных радикалов метилолеата и растительного масла при их принудительном окислении. Выявлено его преимущество перед ионолом и витамином Е. На примере окисленного метилолеата была показана способность селексена нейтрализовать имеющиеся перекисные радикалы.

Окисление метилолеата тормозилось при всех выбранных концентрациях СО (0,005 - 0,5 мг/мл). Накопление перекисей происходило обратно пропорционально концентрации селексена. Результаты свидетельствуют о явной антиоксидантной способности препарата. В опыте с использованием модели термического окисления метилового эфира олеиновой кислоты исследовали влияние 3-х концентраций селексена (0,012, 0,063, 0,125 мг/мл метилолеата) (Табл. 1).

Таблица 1.
Антиоксидантные свойства селексена

Доза СО, мг/мл	Концентрация перекисей, ммоль/г смеси				
	время, часы				
	0	1,5	3	7	Г9
Контроль	0	0,015	0,02	0,035	0,08
0,012	0,01	0,01	0,012	0,02	0,045
0,063	0,011	0,011	0,011	0,015	0,037
0,125	0,01	0,01	0,011	0,012	0,02

При всех исследуемых концентрациях селексена наблюдали выраженное дозозависимое торможение окисления метилолеата. Так, даже при минимальной из испытывавшихся концентраций СО - 0,012 мг/мл, количество перекисей спустя 9 часов было почти в 2 раза ниже, чем в контрольном образце.

Целью следующего исследования являлось сравнение АОА селексена с некоторыми антиоксидантами, применяемыми в медицине, животноводстве и пищевой промышленности, в частности, агидолом (ионолом) и природным антиоксидантом витамином Е (табл. 2). Концентрации антиоксидантов брали 0,005-0,05%, т.е. близкими к рекомендуемым в пищевой промышленности для замедления окисления жиров.

Таблица 2.
Накопление перекисей метилолеата

Время инкубации, часы	Контроль (метилолеат)		Известный вариант, ионол		Предлагаемый вариант, селексен	
	мкмоль	% к начальному содержанию перекисей	мкмоль	% к начальному содержанию перекисей	мкмоль	% к начальному содержанию перекисей
1	6,6	132	6,1	122	3,4	68
5	8,1	162	5,7	114	2,1	42
11 ³⁰	13,1	262	5,8	116	2,3	46
23 ³⁰	20,2	404	6,7	134	2,9	58
32	41,5	830	7Д	142	2,5	50

51	161,8	3236	10,5	210	4,3	86
72 ³⁰	276,0	5520	10,1	202	3,7	74
100	-	-	9,6	192	5,7	114
140	-	-	8,9	178	16,6	332

Данные таблицы наглядно показывают, что селексен не только приостанавливает образование перекисей, но и доводит их содержание до уровня меньше первоначального (нейтрализовал перекиси, находившиеся в метилолеате до внесения антиоксидантов) и выходит на первоначальный уровень содержания только через 51 час инкубации. К 100 часам инкубации, исчерпав свой электронный фонд, селексен переходит только на ингибирование образующихся радикалов. Ионол же обладает только способностью ингибирования образования перекисей.

Для приведения показателей антиоксидантной активности различных веществ к единой сравнительной величине определяют относительную величину их антиоксидантной активности, характеризующуюся временем достижения величины стандартного периода индукции, т.е. 20 мкмоль перекисей. Для контроля эта величина составляет 23 часа, для инола и селексена не достигает величины стандартного периода индукции и через 140 часов инкубации.

Антирадикальную активность селексена определяли при его инкубации с окисленным метилолеатом (табл 3), концентрация селексена 2%.

Таблица 3.
Антирадикальная активность селексена

Время инкубации при 80 С	Концентрация перекисей	
	мкмоль	% к начальной концентрации
0 (K ₀ , начальная концентрация)	345	100,0
20 минут	282	81,7
50 минут	255	73,9
2 часа	255	73,9

Как видно из таблицы селексен снизил концентрацию перекисей за 50 минут на 26 %. Полученный материал позволил вычислить, что одна молекула селексена способна нейтрализовать восемь молекул липоперекисей.

В таблице 4 суммированы результаты сравнительного изучения влияния различных концентраций селексена и инола на образование перекисных соединений в растительном масле при 60°C.

Таблица 4.
Влияние разных концентраций селексена и инола на образование перекисных соединений в растительном масле при 60°.

Концентрации антиоксидантов	Концентрация перекисей, мкмоль/г									
	Время, часы									
	0.	2.	4.	7.	14.	22.	30.	37.	42.	48.
Контроль	7	7	8	8	14	17	20	31	45	50
СО-0.005%	7	5	4	5	10	15	19	27	33	37
СО-0.05%	7	7	т	5	10	14	17	25	30	38
СО-0.5%	7	4	т	6	7	6	7	7	7	8
И-0.005%	7	8	7	8	9	15	22	22	29	37

И-0.05%	7	7	7	7	10	14	18	23	23	30
---------	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

Таблица 5.

Влияние различной температуры на скорость образование перекисей в растительном масле, содержащем 0.01% испытуемых антиоксидантов.

(Условные обозначения: К - контроль, СО - селексен, И - ионол, Е - витамин Е).

А) при температуре 20°С.

	Концентрация перекисей, мкмоль/г масла					
	Время, (сутки)					
	0.	3.	5.	10.	24.	32.
К	6	7	11	26	27	30
СО	6	5	4	5	18	22
И	5	7	7	9	16	21
Е	6	7	11	И	20	22

В) При температуре 40°С.

	Концентрация перекисей, мкмоль/г						
	Время, сутки						
	0.	1.	2.	3.	4.	7.	9.
К	6	7	7	8	9	19	20
СО	6	4	3	5	6	16	19
И	6	5	5	6	6	12	14
Е	6	6	6	7	6	15	19

С) При температуре 80°С.

	Концентрация перекисей, мкмоль/г								
	Время, часы								
	0.	1.	3.	6.	9.	11.	13.	18.	26.
К	6	9	10	13	22	30	37	48	69
СО	6	4	5	9	16	21	26	38	59
И	6	7	8	13	25	25	33	54	66
Е	6	6	10	17	25	28	37	55	78

Как видно из приведенного цифрового материала (Табл. 4, 5), процесс автоокисления растительного масла сильно зависит от температурного режима; если концентрация перекисей 20 мкмоль/г (стандартный период инкубации) при 20°С в контрольном образце достигается за 10 суток, то при 80°С этот процесс занимает всего 9 часов.

При температуре 20° С все испытуемые препараты проявили свои антиоксидантные свойства примерно на одинаковом уровне, однако, при повышении температуры до 80°С витамин Е показал себя в качестве прооксиданта: концентрация перекисей в образце практически на всем протяжении эксперимента превышала таковую у контрольного образца. Ионол при значительном повышении температуры практически утратил свои АО свойства, и лишь селексен сохранил антиоксидантную активность. Но при всех испытывавшихся концентрациях антиоксидантов, при всех температурных режимах, только в образцах, содержащих селексен

сен, в начале опыта наблюдали значительное (иногда более чем вдвое) уменьшение содержания перекисей по сравнению с исходным их количеством. Следовательно, это также является подтверждением, что селексен, в отличие от ионола и витамина Е, не только тормозит процесс перекисного окисления липидов, но и способен к дозозависимой нейтрализации уже имеющихся в системе перекисей.

Определение антиоксидантной активности препаратов пирана и селексена

Определение антиоксидантной активности препаратов 1 (9-*R*-симм-нонаногидро-10-оксаантрацен или пиран) и 2 (9-*K*-симм-нонаногидро-10-селеноантрацен или селексен) проводили по методике Fukuzawa et.al, 1981. Коротко: в качестве субстрата индуцированного окисления использовали липосомы, приготовленные из общих фосфолипидов яичного желтка. Фосфолипиды растворяли в хлороформе и к ним добавляли растворы 1 и 2 (60 нмоль) или α -токоферол (Calbiochem) (6 нмоль) в хлороформе, который использовали в качестве эталона. Хлороформ отгоняли водоструйным насосом и к высушенным фосфолипидам приливали 0.005 М трис HCl буфер pH 7.5.

Фосфолипиды диспергировали с помощью ультразвукового дезинтегратора (Artek) в течение 20 сек. В результате получалась водная эмульсия фосфолипидов (липосом), в мембранах которых присутствовали либо 1 либо 2 либо α -токоферол. Эмульсии подвергали при 37° индуцированному окислению ионами двухвалентного железа в присутствии аскорбиновой кислоты. В результате перекисного окисления высоконенасыщенных жирных кислот образуется малоновый диальдегид (МДА), который определяли по цветной реакции с тио барбитуровой кислотой (ТБК-тест) при длине волны 532 нм (Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., 1975). Через определенные интервалы времени из реакционной среды извлекались аликваты, в которых определяли МДА измеряя поглощение на спектрофотометре SPECORD.

Результаты определения представлены на рис.4. Максимальное поглощение без ингибиторов соответствовало 0.23 оптических единиц.

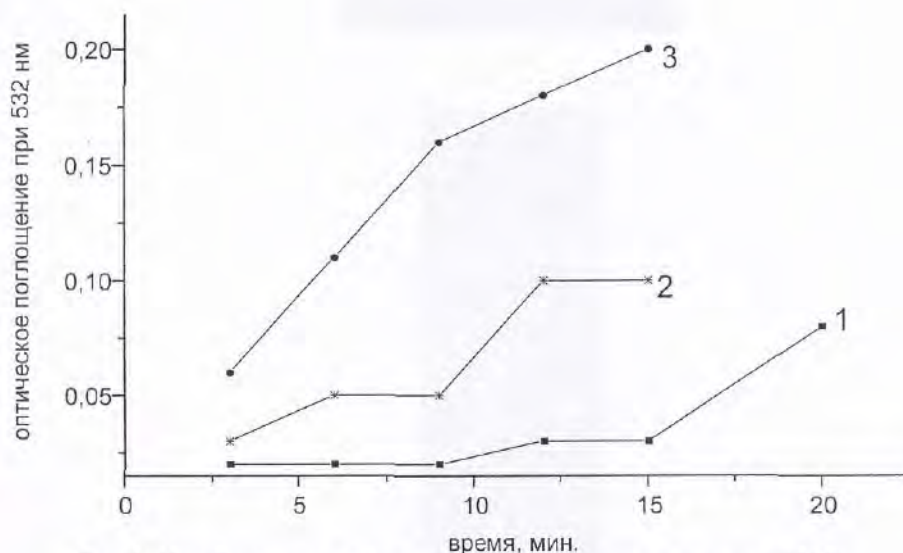


Рис.4. Ингибирование образования малонового диальдегида (МДА) препаратами СП-1, СП-2 и альфа-токоферолом в составе липосом

- 1 - пиран
- 2 - селенокс
- 3 - альфа-токоферол

На основании анализа кинетической реакции перекисного окисления липосом с добавленными препаратами 1 и 2 или α -токоферола можно заключить, что, во-первых, оба со-

единения обладают выраженной антиоксидантной активностью, хотя и меньшей, по крайней мере в 10 раз, чем альфа-токоферол, при этом антиоксидантная активность пирана примерно в 2 раза ниже, чем селксена. То есть, при введении селена в молекулу пирана эффективность антиоксидантной защиты возрастает вдвое.

Высокая электронодонорная способность молекулы селксена убедительно подтверждается нашими данными по изучению его антиоксидантной активности, а также исследованиями А.Ф. Блинохвотова (13). При непосредственном вольтамперметрическом изучении селксена показано его окисление в ацетонитриле и хлористом метиле. Результаты свидетельствуют, что по величине энергии основного состояния молекулы и ее ионизированной (катионорадикальной) формы, а также по значению первого ионизационного потенциала ($J_i = 7.46 \text{ В}$), электронодонорная активность селксена близка к самым мощным донаторам протонов в организме, таким как восстановленные производные никотинамида и хинона. Это дает неопровержимое доказательство отнести селксен по механизму функционирования к ряду высокоактивных эндогенных антиоксидантов, вступающих в реакции с окислителями за счет первичного допирования одного электрона. Механизм антиоксидантного действия селксена и вне организма (липиды, продукты питания), и в организме, заключается в способности его молекулы переносить электрон со своей высшей молекулярной орбитали на низшую молекулярную орбиталь активных окислителей в том числе перекисей водорода и липопересей. Благодаря своим свойствам мощного антиоксиданта селен и проявляет многофункциональную защиту организма и вне его.

Антиоксидантная активность *in vivo* (опыты на животных)

Способность селксена нейтрализовать свободные радикалы показана не только в опытах *in vitro*, но и *in vivo* в опыте на цыплятах с окисленным жиром.

Для получения дополнительных, более весомых, доказательств антиоксидантных свойств селксена был проведен специальный модельный эксперимент на цыплятах. Цыплятам намеренно скармливали предварительно высокоокисленный жир (концентрация гидроперекисей 0.265 мМ/г жира - опытная группа №1) и жир, окисленный в присутствии селксена (опытная группа № 2), нормальный жир (контрольная группа). Жир окисляли при температуре 60° С с постоянной аэрацией в течение 10 суток. Для ускорения процесса окисления в жир вносили 33% перекись водорода в соотношении 300 : 1. Для цыплят второй опытной группы жир окисляли в присутствии селксена (10 мг/кг жира). На 100 кг комбикорма вносили по 3 кг нативного, окисленного или окисленного в присутствии селксена жира.

Было сформировано три группы цыплят по 100 голов в каждой. Цыплят кормили в соответствии с рекомендуемыми нормами. В 14-, 28- и 49- суточном возрасте проводили взвешивание и убой цыплят для взятия образцов крови и тканей на биохимические исследования.

Влияние окисленного жира с образовавшимися в нем перекисями жирных кислот на организм цыплят было подтверждено изменением биохимических показателей (активность СОД, ГПО содержание гемоглобина, количество Т-лимфоцитов, табл.6). Живая масса цыплят первой опытной группы в конце опыта была на 9% ниже, чем в контроле, а во второй опытной группе она даже превышала контрольную на 1%. В контрольной и 2 опытной группах выживаемость цыплят была 100% в то время как в 1 опытной группе -93%.

Изменения биохимических показателей подтверждают данные лабораторных испытаний антиоксидантных свойств селксена о том, что данный препарат, предварительно внесенный в жир перед началом окисления, снизил образование продуктов перекисного окисления липидов в жире в процессе его окисления, и которые отрицательно сказываются на метаболических процессах. С другой стороны селксен, поступив в организм с жиром способствовал активации ферментов СОД и ГПО. Каталитическая активность СОД в группе цыплят с селксом была значительно выше в 14- и 28-суточном возрасте, чем в группах без него. В 49-суточном возрасте в группе без селксена активность фермента снижалась, но остава-

лась выше, чем у цыплят опытной группы. Активность ГПО была во все возрастные периоды выше, чем в контроле. Снижение активности ферментов в 14-суточном возрасте у цыплят, получавших окисленный жир, свидетельствует о высокой интенсивности протекания в организме свободнорадикальных процессов, инициированных повышенным поступлением продуктов перекисидации липидов с окисленным жиром. Снижение активности СОД и ГПО указывает на истощение эндогенной системы антиоксидантной защиты организма цыплят этой группы. К 28-суточному возрасту снижение активности ферментов продолжалось, но оно было менее выражено, а в возрасте 49 суток отмечено резкое повышение активности. Этот факт подтверждает естественное стремление и адаптивную возможность системы снижать концентрацию продуктов перекисного окисления липидов. По содержанию гемоглобина между группами значимых и достоверных отличий выявлено не было. Количество Т-лимфоцитов в группе с окисленным жиром снизилось до 79,6% в то время как в группе с жиром, окисленным в присутствии селексена их содержание снизилось только на 5,2%. Живая масса цыплят с окисленным жиром была ниже контрольных на 11.2% , в группе с жиром, окисленным в присутствии селексена, на 4,7%.

Таблица 6.
Биохимические показатели в крови цыплят

Показатели	Опытные группы цыплят								
	Контрольная группа			1 (с окисленным жиром)			2 (окисленный жир ± селексен)		
	Возраст цыплят, сутки								
	14	28	49	14	28	49	14	28	49
Активность СОД	8.3 ±2.0	9.0 ±0.56	5.4 ±1.44	7.0 ±0.59	6.1 ±0.69	15.1 ±1.73	17.6 ±2.99	8.3 ±1.0	5.9 ±0.31
%	100	100	100	84	68	278	212	92	109
Активность ГПО	359 ±50	345 ±20	500 ±60	226 ±9	283 ±30	569 ±54	444 ±25	655 ±46	950 ±52
%	100	100	100	63	82	114	124	190	190

Примечание: активность ГПО - мк. Моль восстановленного глутати о на/мин/г белка; активность СОД - условн. Ед./г белка.

Таким образом, модельным опытом *in vivo* были подтверждены результаты опытов *in vitro* о том, что селексен, внесенный в жир перед его окислением, предотвращает образование перекисей липидов и, обладая антиоксидантными свойствами в организме, повышает функциональную активность системы антиоксидантно-антирадикальной защиты организма. Дополнительная информация была получена нами в нижеописываемых опытах на цыплятах, свиноматках и их потомстве.

В опытах на цыплятах для выявления оптимальной дозы было сформировано 4 группы по 100 голов в каждой. Опыт проведен в течение всего производственного цикла - 49 суток. Все группы получали полноценный поднорационный комбикорм в соответствии с нормами кормления. 1-ая опытная группа получала селексен из расчета 0.1 мг селена на 1 кг комбикорма, 2-я группа - 0.2 мг и 3-я - 0.3 мг. Селексен вводили в комбикорм в виде масляного раствора. Контрольная группа получала равное количество растительного масла без селексена.

Взвешивание и убой цыплят для взятия проб для анализа проводили в возрасте 14, 28

и 49 суток. В крови анализировали активность СОД, ГПО. Кроме того, в печени анализировали каталитическую активность цитохрома Р-450 - основного фермента оксигеназной системы метаболизации продуктов перекисного окисления липидов и утилизации ксенобиотиков. Помимо активности цитохрома Р-450, в микросомах печени определяли его относительное содержание методом градиентного электрофореза в полиакриламидном геле. Микросомальную фракцию выделяли методом дифференцированного центрифугирования. После завершения эксперимента живая масса цыплят третьей опытной группы была на 8% выше, чем в контроле. Биохимические показатели представлены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7.

Активность ферментов антиоксидантной системы и содержание ТБК-активных продуктов в крови цыплят

Группы	ТБК-активные продукты			Активность ферментов					
				СОД			ГПО		
	Возраст цыплят, сутки								
	14	28	49	14	28	49	14	28	49
Контрольная	4.31 ±0.22	4.82 ±0.84	4.00 ±0.30	13.4 ±0.93	11.3 ±2.09	6.4 ±0.97	228 ±20	437 ±9	263 ±60
Опытные: 1	3.87 ±0.23	4.65 ±0.24	3.89 ±0.32	14.0 ±1.83	16.7 ±2.31	7.0 ±1.8	300 ±80	485 ±35	384 ±30
2	4.05 ±0.28	4.00 ±0.32	3.95 ±0.30	13.7 ±0.77	16.3 ±2.24	7.7 ±0.93	404 ±49	566 ±45	384 ±29
3	3.77 ±0.29	3.46 ±0.47	3.06 ±0.21	15.7 ±1.12	19.4 ±1.67	7.5 ±0.58	341 ±45	575 ±46	422 ±33

Примечание: ТБК-активные продукты - нМ малонового диальдегида/мл крови, активность ГПО - мк. Моль восстановленного глутатиона/мин/г белка; активность СОД - условн. Ед./г белка.

Таблица 8.

Характеристика монооксигеназной системы цыплят

Группы	Цитохром Р-450					
	Содержание в микросомах печени			Гидроксимирующая активность		
	Возраст цыплят, сутки					
	14	28	49	14	28	49
Контрольная	0.61 ±0.09	0.57 ±0.07	0.53 ±0.06	8.64 ±0.23	7.50 ±1.36	2.42 ±0.80
Опытные: 1	0.51 ±0.10	0.66 ±0.20	0.52 ±0.14	9.31 ±1.97	7.34 ±0.70	3.57 ±1.60
2	0.52 ±0.13	0.74 ±0.09	0.77 ±0.14	9.25 ±0.39	9.21 ±0.57	5.17 ±0.64
3	0.63 ±0.06	0.90 ±0.05	1.02 ±0.19	10.00 ±1.02	10.06 ±0.66	5.47 ±0.50

Примечание: содержание цитохрома Р-450 - нМоль/мг микросомального белка, гид-

роксилирующая активность – нМоль формальдегида/мин.

Результаты опыта показали, что применение селексена повысило активность антиоксидантно-антирадикально и системы организма цыплят и, как следствие этого, показатели интенсивности роста были более высокими. Лучшей дозировкой по влиянию на интенсивность роста и биохимические показатели была 1.2 мг селексена на кг комбикорма, что в пересчете на содержание селена, составляет 0.3 мг. Если в первой и второй опытных группах в 14- и 49-суточном возрасте не было отмечено индукции синтеза ферментного белка цитохрома P-450, то гидроксигирующая активность его была выше, чем у цыплят контрольной группы. В остальных случаях как количество цитохрома P-450, так и активность монооксигеназной системы была выше у цыплят опытных групп (особенно в третьей). Выживаемость цыплят во всех опытных группах была 100%, а в контрольной группе -94%.

Следующий опыт, проведен с целью выявления влияния селексена на супоросных и лактирующих маток и на их потомство и сравнение его действия с известным препаратом селена, селенитом натрия.

Опыт проведен на трех группах свиноматок по 5 голов в каждой и на трех группах поросят по 50 голов. Свиноматки контрольной группы получали основной рацион, сбалансированный по всем питательным и биологически активным веществам (Нормы РАСХН 1993 г) кроме селена, естественное содержание которого составило 55 мкг/кг корма, что считается как селендефицитный рацион (современные нормы содержания селена в рационе - 100 - 300 мкг/кг корма). Свиноматки первой опытной группы в составе премикса дополнительно получали минеральную форму селена в виде селенита натрия из расчета 0.2 мг селена/кг корма. Свиноматкам второй опытной группы дважды инъецировали подкожно разработанную пролонгированную форму селексена. Первая инъекция в количестве 280 мг селексена осуществлена в момент постановки животных на опыт (первый день супоросности), вторая инъекция - 135 мг селексена за 10 суток до опороса. Общее количество, в расчете на селен, животные обеих опытных групп получили одинаковое.

Поросятам всех трех групп, соответственно полученных от трех групп свиноматок, с двухнедельного возраста скармливали комбикорм без добавок селена. Поросятам третьей группы однократно в суточном возрасте ввели по 14 мг селексена в составе той же пролонгированной формы. Длительность опыта на поросятах - один месяц, затем был проведен убой поросят для взятия проб на анализ.

У свиноматок кровь для анализов брали в конце второго месяца супоросности, в первые сутки после опороса и в конце первого месяца лактации, у поросят - в суточном и месячном возрасте. У супоросных и подсосных свиноматок и поросят изучали активность основных ферментов антирадикально-антиоксидантной защиты организма и показатели, характеризующие не специфическую резистентность.

В результате проведенного опыта было выяснено, что специфическая активность супероксиддисмутазы крови существенно зависела от обеспеченности организма животных селеном (Табл. 9). Препараты селена также повышали активность другого фермента защиты клеток от накопления свободных радикалов - глутатионпероксидазы. Причем, стимулирующее действие добавок селенита натрия на активность глутатионпероксидазы было недостоверным, тогда как влияние селексена на этот селенсодержащий фермент проявилось весьма выражено как у свиноматок, так и у их потомства.

Совершенно закономерно оба препарата селена снизили концентрацию в крови свиноматок и поросят основного продукта перекисного окисления липидов - малонового диальдегида. Интересен факт большего влияния на этот показатель у поросят селексена в сравнении с селенитом натрия. Так, содержание малонового диальдегида у новорожденных и месячных поросят третьей группы снизилось на 47 и 36%, а у животных второй группы - на 21 и 14% в сравнении с первой группой (Табл.9).

Таблица 9.

Активность основных ферментов анти радикально и защиты и концентрация малонового диальдегида в крови свиноматок и поросят

Физиологическое состояние	Группы		
	1	2	3
Супероксиддисмутаза (СОД) цельной крови, усл.ед./мд крови			
Свиноматки:			
Холостые	0.52±0.008		
56-е сутки супоросности	1.89±0.11	1.69±0.15	1.75±0.32
1-е сутки после опороса	2.76±0.14	4.27±0.37*	2.88±0.38
28-е сутки лактации	2.37±0.23	2.47±0.18	3.60±0.11*
Поросята:			
Новорожденные	2.18±0.17	3.20±0.15*	2,45±0.24
28-е суток	1.59±0.20	2.70±0.31*	1.86±0.12
Глутатионпероксидаза (ГПО) эритроцитов, мкмоль/мин/г гемоглобина			
Свиноматки:			
Холостые	251±1.9		
56-е сутки супоросности	480±19	493±17	647±24*
1-е сутки после опороса	107±21	147±18	333±37*
28-е сутки лактации	245±19	263±32	335±6.5*
Поросята:			
Новорожденные	161±26	161±18	180±16
28-е суток	84±3.6	100±14	129±11*
Малоновый диальдегид (МДА) сыворотки крови, нмоль/л			
Свиноматки:			
Холостые	4.81±0.59		
56-е сутки супоросности	3.58±0.31	2.43±0.13*	
1-е сутки после опороса	3.52±0.19	3.30±0.22	
28-е сутки лактации	5.50±0.16	4.65±0.13*	
Поросята:			
Новорожденные	5.95±0.39	4.70±0.10*	3.17±0.11*
28-е суток	8.19±0.47	7.06±0.31	5.21±0.72*

* - P < 0.05 по сравнению с 1-й группой

Использование селексена в качестве неспецифического препарата, повышающего защитные силы организма

Наряду с активацией функции антиоксидантно-антирадикальной защиты организма селексен оказывает стимулирующее влияние на иммунную систему животных и человека, чем способствует более стойкому сопротивлению инфекционным и неинфекционным заболеваниям. В связи с частыми простудными заболеваниями в межсезонные переходные периоды и, при этом, с частыми осложнениями провели испытания по влиянию селексена на бронхолегочные заболевания. Телята слабо противостоят бронхолегочным заболеваниям, часто вызывающим смертность в раннем возрасте, поэтому они послужили модельными животными испытания способности селексена противостоят этим заболеваниям.

Селексен в качестве неспецифического препарата, повышающего защитные силы организма новорожденных телят при возникшей в хозяйстве энзоотической бронхопневмонии телят. Испытание проведено на двух группах телят по 40 голов в каждой. Телятам опытной группы в недельном возрасте однократно ввели внутримышечно пролонгированную инъекционную форму селексена из расчета содержания в одной дозе 100 мг препарата. Срок наблюдения за животными – 60 дней.

За этот период из опытной группы выявлено с клиническими признаками бронхопневмонии 4 теленка, которых стали лечить по традиционной схеме антибиотиковой терапии. Все телята остались живы и выздоровели. За этот же период из 40 контрольных телят заболело 26, из них два теленка пало и 9 были вынужденно забиты с выраженной патологоанатомической картиной бронхопневмонии. Среднесуточный прирост живой массы телят опытной группы был 302 г, а в контрольной группе - 270 г. Разница составила 12%.

В опытах на ягнятах во время отъема их от матерей (сильное стрессовое воздействие) были обнаружены существенные различия в концентрации иммуноглобулинов класса А у животных получавших селексен и селенит натрия. После отъема ягнят от матерей отмечено довольно резкое снижение концентрации IgA в сыворотке крови ягнят всех трех групп (контрольная, с добавкой селенита натрия, с добавкой селексена) с 1.41 мг/мл до 0.77.

Введение в организм ягнят селексена значительно смягчило влияние послеотъемного стресса на содержание в сыворотке крови иммуноглобулина А. Уже через неделю после отъема в селексеновой группе концентрация IgA после первичного снижения начала подниматься и с 47-го по 77-й день эксперимента находилась на уровне вблизи 3 мг/мл. Примечательно, что в это же время у ягнят контрольной группы и группы получавшей селенит натрия концентрация IgA колебалась в пределах 1.5 мг/мл. Поскольку селенит натрия не оказал влияния на содержание в крови этого иммуноглобулина, можно предположить, что на концентрацию в крови иммуноглобулинов класса А влияет не селен, а сама молекула селексена.

Селексен проявляет иммуностимулирующий эффект на животных разных видов и возрастов. Опыт, проведенный на половозрелых бычках в возрасте 12 месяцев с вполне сформировавшимися защитными системами, подтвердил активирующее действие на показатели, характеризующие состояние их иммунной системы (табл. 10) и, как критерий хорошего самочувствия животных, повысился прирост живой массы тела на 6%. Особо подчеркиваем, что эта разница четко прослеживалась даже у бычков на заключительной стадии роста, при очень хороших условиях кормления и содержания.

Таблица 10.

Показатели, характеризующие состояние иммунной системы бычков

Группы	Взятие крови (по месяцам опыта в возрасте)			
	12 месяцев	13 месяцев	14 месяцев	15 месяцев
Общая бактерицидная активность (%)				
Контрольная	40.6±1.6	40.2±3.4	43.7±2.9	46.0±2.4
Опытная	41.6±3.7	40.8±2.4	50.6±4.1	56.5±3.5
Уровень активности лизоцима (%)				
Контрольная	9.3±1.3	10.0±1.0	11.7±2.0	12.0±1.5
Опытная	9.0±1.1	9.9±0.0	12.5±3.5	14.0±2.3
Концентрация иммуноглобулинов класса М (мг/мл)				
Контрольная	3.8±0.1	3.7±0.1	3.7±0.2	3.9±0.1
Опытная	3.8±0.4	3.8±0.9	3.9±0.2	4.3±0.1
Концентрация иммуноглобулинов класса G (мг/мл)				
Контрольная	11.4±0.2	11.5±0.4	12.5±0.5	13.1±0.4
Опытная	11.5±0.9	11.7±1.6	13.0±0.3	13.7±0.1
Уровень активности р-лизинов (%)				
Контрольная	26.2±1.6	27.3±1.6	33.7±0.6	34.5±0.6
Опытная	26.3±1.9	27.5±2.3	34.3±2.1	35.9±3.1

Применение селексена взрослым здоровым животным, находившимся в благоприятных условиях, повысило основные показатели, характеризующие неспецифическую резистентность, а именно: общую бактерицидную активность, активность лизоцима, (β-лизинов и концентрацию иммуноглобулинов классов G и M.

Осмотр внутренних органов у этих бычков показал, что они были без выраженных, визуально наблюдаемых изменений. Края печени острые, паренхима вишнево-красного цвета, плотная, очаги некроза или абсцесса не обнаружены. Сердце в норме. Легочная ткань упругая, без кровоизлияний и отечности. Трахея и легкие чистые. Селезенка без патологических изменений. Почки обычных размеров без видимой патологии. Серозные оболочки органов желудочно-кишечного тракта без очагов воспалений и геморрагии, слизистые оболочки серовато-розового цвета. Лимфоузлы также не имели видимой патологии, на разрезе сероватого цвета, без кровоизлияний.

Морфологические исследования внутренних органов и эндокринных желез показали, что у опытных животных наблюдалась активная гиперемия, расширение клубочковой зоны и мозгового слоя в надпочечниках, увеличение числа и размеров островков Лангерганса в поджелудочной железе, повышение мелких фолликулов в щитовидной железе. Это свидетельствует об усилении кровотока, расширении капилляров, способствующих лучшей клеточной трофики и обеспечивает лучшие условия функционирования тканей и органов.

Использование селексена, как вспомогательного средства, для смягчения побочных эффектов основного средства лечения с одновременным повышением функции защитных систем организма.

Цыплята (особенно в первые сутки их жизни и при высокой интенсивности роста) обладают очень слабыми защитными системами организма. Опыт проведен на цыплятах-бройлерах при применении агониста α -адренорецептора кленбутерола, широко применяемого за рубежом в качестве анаболического препарата для стимуляции продуктивности животных. В медицине этот препарат применяется как бронходилататор при аллергиях.

Опыт проведен на пяти группах: 1 группа - контрольная (интактные животные); положительный контроль: 1-ый - 1,0 мг кленбутерола; 2-ой - 0,3 мг кленбутерола; предлагаемые варианты: 1-ый - 1,0 мг кленбутерола + 0,3 мг селексена; 2-ой - 0,3 мг кленбутерола и 0,3 мг селексена на килограмм корма. Использование кленбутерола и селексена с кленбутеролом проводили с суточного возраста цыплят до конца выращивания (49 суток).

В таблице 11 представлены данные по влиянию использования кленбутерола и кленбутерола совместно с селексеном на активность показателей защитных систем организма.

Таблица 11.

Активность показателей, характеризующих защитные системы организма, и положительный эффект от применения селексена

Биохимические показатели	Контрольная группа	Положительный контроль (кленбутерол)		Предлагаемые варианты	
		1	2	1	2
Активность сод,	392±90	452±75	315±51	375±102	524±140
Активность ГП	28,3±0,40	24,4±1,50	27,8±1,52	39,2±3,26	33,702,79
АОАЛ крови	300±21	218±22 ^x	435±40 ^x	540±82 ^x	482±59
Содержание цитохрома P-450	0,25±0,02	0,16±0,02	0,27±0,02	0,23±0,02	0,25±0,03
Каталитическая активность цитохрома P-450	3,01±0,25	3,09±0,80	4,4±0,68	4,93±1,20	4,55±1,00
Содержание В-лимфоцитов, %	13,0±1,0	11,0±2,3	11,0±1,2	13,0±2,0	13,0±0,5
Содержание Т-лимфоцитов, %	40,0±1,3	39,0±0,5	40,0±1,4	43,0±1,1	40,0±0,9
Живая масса в 49 суток, кг	K1536±25 П1812±35	1572±29 1810±24	16160±20 1866±31	1617±25 1876±20	1645±23 1832±30
Сохранность поголовья, %	93,1	92,9	94,7	97,5	97,5

Примечание: Активность СОД (супероксиддисмутаза), Е/мл крови; активность ГП (глутатиоппероксидазы), Е/л крови; АОАЛ (антиокислительная активность липидов) крови, относительные единицы; содержание цитохрома Р-450, нмоль/мг микросомального белка печени; каталитическая активность цитохрома Р-450, Е/мг белка печени; х - данные достоверные относительно контроля; К - курочки; П - петушки.

Селексен в сочетании с кленбутеролом не только повышает защитные системы организма, но и дает дополнительно положительный эффект - повышение интенсивности роста, как показатель нормального развития изучаемого объекта (повышение живой массы по варианту 1 на 10,4 %). При очень высокой интенсивности роста во всех группах. Положительный эффект применения селексена при использовании кленбутерола получен и по сохранности поголовья (падеж цыплят меньше на 2,8 - 4,6 % при высокой сохранности поголовья в контрольной группе). Причем применение селексена при использовании кленбутерола повышает защитные системы организма и положительный эффект в большей степени при более высокой дозировке кленбутерола.

Как видно из таблицы 11 селексен повысил активность основных ферментов антиоксидантной системы организма и антиокислительную активность липидов крови, снизившиеся при использовании кленбутерола. Повысилась активность и детоксифицирующей монооксигеназной системы печени (цитохрома-Р450) Содержание микросомального белка цитохрома Р-450 заметных изменений не претерпела, но значительно повысилась каталитическая (гидролитическая) активность цитохрома Р-450 на 64 и 51% в группах с селексеном и соответственно использованием кленбутерола в дозе 1,0 и 0,3%. Наряду с повышением функции антиоксидантно-антирадикально и защиты организма при использовании селексена, было отмечено повышение содержания В- и Т-лимфоцитов.

Таким образом, применение селексена повышало функциональную активность защитных систем организма при введении кленбутерола.

Влияние селексена на воспроизводительную функцию

У сельскохозяйственных животных, особенно у коров, остро стоит проблема с воспроизводством в связи с нарушениями функции органов, осуществляющих этот процесс и которые часто подвержены послеродовым осложнениям. Связь селена с возникновением нарушений воспроизводительной функции животных и заболеваемостью маститами отмечена достаточно давно и этой проблематике посвящено значительно количество исследований. При недостатке селена в рационе у животных возникают изменения, напоминающие авитаминоз Е: задержка роста, нарушения воспроизводительной функции, снижение либидо, нарушение овариального цикла, повышенная эмбриональная смертность, высокий процент бесплодия. Недостаточность селена приводит к высокой заболеваемости новотельных коров: у 75% отмечается задержание последа, острые и хронические эндометриты, продление сроков инволюции матки, поздний приход в охоту, повторные многократные осеменения, выкидыши. Процент яловых или многократно осемененных коров очень высок. Поэтому, как объект для изучения нормализации функции органов размножения, были взяты коровы. По нормализации процесса воспроизводства судили о состоянии органов, связанных с репродукцией.

Влияние пролонгированной формы селексена на воспроизводительную функцию исследовали на 4 группах коров, по 15 голов в группе. Все животные находились в сухостойном (не дойные коровы перед отелом) периоде после завершения второй лактации. За 15 дней до предполагаемого отела коровам однократно ввели подкожно селексен в следующих дозах: 1 группа - 80 мг, 2 группа - 160 мг, 3 группа - 240 мг, контрольной группе инъектировали плацебо. Все подопытные животные отелились в срок. Учитывались следующие показатели: задержание последа, количество эндометритов, продолжительность сервис-периода (количество дней от отела до плодотворного осеменения), оплодотворяемость от первичного осеменения, индекс осеменения.

Прослеживается четкий дозозависимый эффект влияния селексена на все изучавшиеся показатели (табл. 12).

Таблица 12.

Влияние инъекций пролонгированной формы селексена на воспроизводительную функцию

Показатели	Контроль	1 группа	2 группа	3 группа
	Физраствор	80 мг СО	160мг СО	240мг СО
Задержание последа (%)	26,3	15,3	13,3	6,2
Процент к контролю	100	60	51	24
Эндометриты (%)	30,5	30,7	20,0	18,7
Процент к контролю	100	100	66	61
Сервис-период (дни)	107	98	90	87
Процент к контролю	100	92	84	81
Оплодотворяемость от первичного осеменения (%)	52	61	63	66
Процент к контролю	100	117	121	127
Индекс осеменения	2,1	1,7	1,7	1,6
Процент к контролю	100	81	81	76

Если в контрольной группе у 26.3% коров отмечалось задержание последа, то при минимальной из испытывавшихся доз селексена - 80 мг на одно животное, количество задержаний последа снизилось до 15,3%, при дозе 160 мг оно составило уже 13.3%, а при введении 240 мг, количество коров с задержанием последа составило 6.2%, т.е. снизилось более чем в 4 раза.

Выраженное положительное влияние селексена проявилось в нашем эксперименте и на количестве коров, заболевших послеродовыми эндометритами, которое снизилось почти в два раза. Продолжительность сервис-периода сократилась в третьей опытной группе на 20 дней. Величина оплодотворяемости коров после первичного осеменения, возросла на 27%. а количество осеменений коров, потребовавшихся для достижения стельности (индекс осеменения) снизилось с 2.1 до 1.6, т.е. на 24%.

Если принять во внимание, что селексен вообще и разрабатываемые его пролонгированные формы в частности, не рассматриваются нами как специфический препарат, предназначенный для профилактики и лечения самых различных аномалий воспроизводительной системы, то все полученные эффекты можно считать весьма интересными и: отнести за счет снижения количества свободных радикалов и повышения функциональной активности иммунной системы.

Радиопротекторное действие селексена

Были проведены исследования по способности селексена защищать структуру ДНК (на примере защиты ДНК тимоцитов мышей) от радиационной деградации. Мыши гибридов линии F1 (СВА x С 57 В1) массой 18-20 г при их облучении в дозе 1 Гр гамма-квантами Со на установке «Гамма-целл» (Канада) при помощи дозы 1 Гр/мин в специальных пластмассовых кюветках на подставке высотой 5 см от дна камеры. Протекторную активность селексена определяли при однократном и двукратном его введении внутрибрюшинно. При однократном введении препарат вводили мышам за 1 час или за 24 часа до облучения. При двукратном введении препарат вводили за 24 часа и 1 час до облучения. Исследовали два уровня вводимых доз препарата, а именно 1 мг/кг и 20 мг/кг живой массы тела.

Появление разрывов в структуре ДНК тимоцитов было исследовано методом контролируемой щелочной денатурации. Согласно этой методике, увеличение (уменьшение) числа разрывов в ДНК оценивали по уменьшению (увеличению) содержания фрагментов

двуспиральной ДНК после проведения контролируемой щелочной деградации ДНК анализируемых клеток (табл.13).

Для характеристики процесса перекисного окисления липидов, усиления его под влиянием облучения и ингибирующее влияние селексена на этот процесс через 24 часа после облучения проводили определение в сыворотке крови содержание малонового диальдегида (МДА), активности каталазы и в тимусе числа клеток (табл. 14).

Таблица 13.

Влияние селексена на процентное содержание двуспиральных фрагментов после проведения контролируемой денатурации ДНК тимоцитов облученных мышей (проведение анализа через 24 часа после облучения)

Показатели	Контроль (интактные)	Варианты, условия облучения мышей				
		Положительный контроль (облученные)	СО, 1кг /кг за час до облучения	СО, 1мг/кг за 24 и 1 час до облучения	СО, 20мг/кг за час до облучения	СО, 20мг/кг за 24 часа до облучения
Содержание двуспиральных фрагментов ДНК, %	84,3±0,7	69,3±1,7 (x)	72,5±1,2 (x)	83,6±2,8 (xx)	84,±0,7 (xx)	71,8±0,8 (x)
% к контролю	100,0	82,2	86,0	99,2	99,6	85,2
% к положительному контролю	121,7	100,0	104,6	120,6	121,2	85,2
Количество животных	6	7	8	3	5	4

Примечание, (x) - результаты статистически достоверны ($P < 0,05$) отличаются от контроля; (xx) - результаты статистически достоверно ($P < 0,05$) отличаются от облученных животных.

Результаты опыта определенно говорят о способности селексена защищать структуру ДНК от радиационной деградации. Из всех анализируемых схем введения облученным мышам селексена максимальная защита имеется при двукратном его введении в количестве 1 мг/кг живой массы за 24 и 1 час до облучения. Однократное введение селексена в количестве 1 мг/кг за час до облучения не оказало защитного влияния на деградацию ДНК, хотя при более высоких (20 мг/кг) дозах однократного введения селексена за 1 час до облучения наблюдался защитный эффект. При более ранних (24 часа) сроках введения препарата дозы 20 мг/кг до облучения защитный эффект отсутствовал.

Защитный эффект селексена на деградацию ДНК при облучении зависел от дозы и от времени введения препарата.

Таблица 14.

Влияние селексена на содержание МДА, активность каталазы в сыворотке крови и количество клеток в тимусе

Показатели	Варианты по способам использования селексена					
	Контроль (интактные)	Положительный контроль (облученные)	1, СО, 1мг/кг за 1 час до облучения	2, СО, 1мг/кг за 24 и 1 час до облучения	3, СО, 20 мг/кг за 1 час до облучения	4, СО, 20 мг/кг за 24 часа до облучения
Содержание	40,8±2,6	61,7±2,3 ^x	45,6±3,1 ^x	39,9±4,1	53,2±1,8	

МДА, микро-моль/л						
% к контролю	100,0	151,2	111,8	97,8	130,4	125,0
% к положительному контролю	66,1	100,0	73,9	64,7	86,2	83,3
Уровень защиты от индукционного повышения содержания МДА, %			73,0	Практически полная	41,0	51,0
Количество животных в группе	15	15	10	5	15	8
Относит. увеличение активности каталазы	1,0	1,68±0,13 (x)	1,53±0,15(x)	0,94±0,15 (x x)	1,26±0,15 (xx)	1,71±0,13 (x)
% к контролю	100,0	168,0	153,0	94,0	126,0	171,0
% к положит. контролю	59,5	100,0	91Д	56,0	75,0	101,8
К-во животных в группе	8	8	10	5	8	4
Кол-во клеток в тимусе, 10 ⁻⁷	8,47±0,66	2,34±0,23 (x)	1,73±0,20 (x)	3,75±0,56 (x), (xx)	3,27±0,38 (x), (xx)	2,38±0,50 (x)
% к контролю	100,0	27,6	20,4	44,3	38,6	28,1
% к полож. Контролю	36,2	100,0	73,9	160,3	139,7	101,7
Кол-во животных	15	16	9	4	10	10

Примечание. (x) – результаты статистически достоверно ($p < 0,05$) контроля; (xx) - результаты статистически достоверно ($P < 0,05$) отличаются от облученных животных.

Результаты опыта показывают, что селексен оказывает радиопротекторное действие, которое зависит от дозы препарата и времени его введения

Иммуностимулирующее действие селексена

Было изучено влияние селексена на показатели неспецифического иммунитета животных, находящихся в экологически неблагоприятных районах (в зоне, загрязненной в результате аварии на ЧАЭС)

На супоросных свиноматках и полученных от них поросятах в зоне с поверхностной активностью почвы по ¹³⁷Cs от 10 -15 Ку/км², и в зоне с плотностью загрязнения 5-10 Ку/км² было изучено влияние селексена в этих условиях на иммунный статус поросят. Контролем служил опыт, проведенный на поросятах в условно-чистой зоне с поверхностной активностью почвы не превышающей 1 Ку/км² по ¹³⁷Cs. Табл. 13 - 18). Количество подопытных животных было по 10-15 голов в группе.

Для изучения состояния иммунной системы поросят в зонах с различной поверхностной активностью почв по ¹³⁷Cs в хозяйстве с поверхностной активностью почвы от 10 до 15 Ку/км² (1Б, 2Б, 3Б и 4Б группы) по ¹³⁷Cs от 10 до 15 Ку/км², в хозяйстве с плотностью загрязнения по Cs 5-10 Ку/км² (группы 1В и 2В) и в хозяйстве условно-чистой зоны (1 Ку/км² поверхностная активность по ¹³⁷Cs) был проведен эксперимент на свиньях. Животные 1Б, 1В и 1К групп являлись контрольными для 2Б, 3Б, 4Б, 2В и 2К (соответственно). Поросятам 2Б и 2К групп в 10-дневном возрасте подкожно ввели по 2мл 1% масляного раствора селексена на голову, 3Б группа состояла из поросят, полученных от свиноматок, которым за 3-4 недели до опороса инъекцировали по 5 мл 4% масляного раствора селексена, а в 4Б группу были выделены поросята от тех же свиноматок, но которым дополнительно в 10-дневном возрасте ввели по 2мл 1% масляного раствора селексена. Поросята группы 2В с кормом по-

лучали селексен за неделю до отъема и в течение недели после отъема поросят из расчета 1,2 г селексена на тонну корма. В каждой группе было по 10-15 голов поросят. Всем подопытным животным скармливали основной рацион (и подкормку) согласно рекомендуемым для данной половозрастной группы нормам. Перед отъемом (в возрасте 60 ± 5 суток) у подопытных поросят групп Б и К были отобраны пробы крови для анализа. У поросят группы В кровь брали через 18 дней после окончания скармливания препарата. Содержание селена в рационе не превышало 0,1 мг/кг сухого вещества корма (определено атомно-адсорбционным методом).

Так как хороший прирост живой массы тела является показателем нормального роста, развития и переносимости вводимых препаратов, то нами был определен и этот показатель. Установлено достоверное увеличение прироста живой массы поросят, полученных от инъекцированных селексом матерей (2Б группа), в 30- и 60-дневном возрасте (121,44 и 127,44 % соответственно относительно поросят 1Б группы). Инъекция селексена пороссятам от инъекцированных свиноматок вызвала еще более значительное увеличение живой массы. По сравнению с пороссятами, выращенными по обычной технологии (1Б группа), их живая масса была выше на 38,79 и 34,96 % в 30- и 60-дневном возрасте соответственно. Однако, следует заметить, что инъекция селексена пороссятам от инъекцированных свиноматок (2 Б группа) позволила получить дополнительный, по сравнению с неинъекцированными пороссятами, полученными от тех же матерей (2Б группа), статистически значимый прирост живой массы на 14,29 % ($P < 0,05$) только в 30-дневном возрасте. К 60-дневному возрасту различия уменьшились и составили 6,14% ($P < 0,05$).

Количество эритроцитов в крови и насыщенность их гемоглобином у исследованных поросят была практически одинакова и соответствовала физиологическим значениям.

По соотношению отдельных показателей лейкоформулы поросят, с различными схемами использования селексена, можно говорить об антистрессорном действии препарата только при введении его свиноматкам и их пороссятам в 10 дневном возрасте. У поросят, полученных от этих же свиноматок, но без дополнительной обработки препаратом отмечается стресс-реакция адаптационного синдрома с повышенным, относительно нормы, содержанием моноцитов и сегментоядерных нейтрофилов. В крови только этих животных обнаружены юные нейтрофилы. У поросят, полученных от свиноматок необработанных во время супоросности, соотношение показателей лейкоформулы близко к стрессорному.

Изучение бактерицидной способности нейтрофильных гранулоцитов крови показало, что потенциально возможное количество этих клеток, способных проявлять оксидазную активность (по НСТ-тесту с зимозаном), достоверно выше ($P < 0,01$) у поросят, полученных от обработанных препаратом селена свиноматок, и составляет $74,73 \pm 1,89$ % всех нейтрофилов. Однако самое высокое число нейтрофильных гранулоцитов, способных проявлять оксидазную активность ($P < 0,01$), установлено у животных, полученных от свиноматок, которым вводили во время супоросности селексен, и дополнительно обработанных им в 10-дневном возрасте, 338,72 % в сравнении с животными не получавшими дополнительно селен во время эмбрионального и подсосного периодов.

В опыте на пороссятах в зоне умеренного радиационного загрязнения была отмечена постоянная тенденция к увеличению живой массы тела. Достоверных различий в лейкограммах поросят обеих групп в количестве эритроцитов и гемоглобина в них не обнаружено. У поросят, которым в рацион вводили селексен, обнаружена более высокая активность оксидазных ферментов нейтрофилов. По данным оксидазной активности нейтрофилов, индекса активации нейтрофилов и пониженных значений показателя резерва и коэффициента метаболической активации можно предположить у животных обеих групп наличие легкой инфекции (без повышения температуры). Однако выраженность этих сдвигов была почти вдвое значительнее у поросят не получавших с рационом препарат селена, т.е. их резистентность ниже, чем у поросят получавших с кормом селексен.

Поросята, получавшие селексен в опыте в условно чистой зоне также обнаруживали стимуляцию нейтрофилов зимозаном, модулирующую условия бактериальной инфекции, и проявляли достоверное увеличение функциональной активности нейтрофильных гранулоци-

ТОВ.

Таблица 15.

Морфологический состав крови 2-месячных поросят в зоне с повышенным радиационным фоном

Показатели	1 Б группа	2 Б группа	3Б группа	4Б группа
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,75±0,25	6,06±0,38*	5,11±0,08	5,11±0,37
Гемоглобин, г/л	100,08±1,56	98,83±5,76	99,10±(0,08	88,30±5,89
Лейкоциты, $10^9/л$	17,68±1,71	16,22±0,03	23,26±2,47 •	21,07±1,00 •
Нейтрофилы, %	40,38±1,99	37,85±1,68	47,96±0,52 •	34,62±3,39 ♦
Нейтрофилы, $10^9/л$	7,12±0,69	6,07±0,21	11,35±1,81 •	7,22±0,61
Эозинофилы, %	3,91±1,47	4,36±0,45	4,52±1,58	2,81±0,74
Моноциты, %	3,74±0,41	2,75±0,22	4,55±0,39 •	3,27±0,47
Лимфоциты, %	50,89±1,86	54,40±1,24	42,Н±2,60 •	58,78±2,76*♦
Клетки Тюрка, %	0,39±0,14	0,22±0,07	0,51±0,П	0,21±0,09
Конволюты, %	0,05±0,03	0,17±0,09	0,06±0,03	0,06±0,03

Примечание. * - $P < 0,05$ по отношению к поросятам 1Б группы,
 • - $P < 0,05$ по отношению к поросятам 2Б группы,
 ♦ - $P < 0,05$ по отношению к поросятам 3Б группы.

Таблица 16.

Морфологический состав крови 2-месячных поросят в условно чистой зоне

Показатели	1К группа	2 К группа
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,65±0,66	6,29±0,62
Гемоглобин, г/л	132,38±7,58	127,75±8,10
Лейкоциты, $10^9/л$	29,76±1,83	22,69±2,34*
Нейтрофилы, %	31,80±2,23	25,63±2,16
Нейтрофилы, $10^9/л$	9,41±0,80	5,94±1,07*
Эозинофилы, %	5,09±1,41	7,42±0,91
Моноциты, %	3,79±0,51	2,45±0,28*
Лимфоциты, %	58,21±1,60	63,31±2,03
Клетки Тюрка, %	0,73±0,02	0,53±0,02
Плазмоциты, %	0,23±0,07	0,16±0,02
Конволюты,	0,04±0,02	0,03±0,02

Примечание. * - $P < 0,05$ по отношению к поросятам 1К группы.

Таблица 17.

Функциональная активность нейтрофилов 2-месячных поросят в зоне с повышенным фоном радиационного загрязнения

Показатели	1Б группа	2Б группа	3Б группа	4Б группа
+НСТ, (баз), %	63,62±1,16	44,14±1,02*	25,65±1,73* •	29,61±1,47* •
+НСТ (стим), %	66,73±0,96	72,06±0,85*	74,73±1,89*	84,09±1,12* • ♦
ПР	1,05±0,01	1,64±0,05*	2,98±0,27* •	2,87±0,16* •
ИАН (баз)	0,97±0,02	0,66±0,02*	0,42±0,01* •	0,38±0,01* • ♦
ИАН (стим)	1,01±0,03	1,20±0,03*	1,10±0,06	1,33±0,05* • ♦
СЦК	1,40±0,11	1,55±0,09	1,58±0,03	1,74±0,03* ♦
ФП (баз), %	46,05±1,16	40,83±7,33	39,98±3,90	29,37±1,90*

ФП (стим), %	39,33±6,41	42,77±4,03	50,35±5,40	66,74±6,55* •
ФИ (баз), ч.л./а.н.	4,96±0,15	5,50±0,34	5,05±0,22	4,48±0,21 •
ФИ (стим), ч.л./а.н.	4,45±0,31	4,57±0,15	4,79±0,31	5,45±0,38
АФ (баз), ч.л./л	16,34±1,92	14,46±3,47	23,57±5,44	9,76±0,72* •
АФ (стим), ч.л./л	12,55±2,98	11,95±1,36	29,83±9,34*	25,82±2,88* •
Δ АФ, ч.л./л	(-3,79±2,57)	(-2,51±4,63)	6,26±5,38	16,06±2,67* •
ФЧ (стим), ч.л./н.	1,82±0,38	1,98±0,32	2,36±0,48	3,73±0,61*

Примечание. * - P<0,05 по отношению к пороссятам 1Б группы,
• - P<0,05 по отношению к пороссятам 2Б группы, ♦ -
P<0,05 по отношению к пороссятам 3Б группы.

Таблица 18.

Функциональная активность нейтрофилов 2-
месячных пороссят (условно чистая зона)

Показатели	1 К группа	2К группа
+НСТ, (баз), %	56,89±2,59	32,19±3,32*
+НСТ (стим), %	41,0±4,83	68,09±4,17*
ПР	0,72±0,08	2,21±0,31*
ИАН (баз)	1,06±0,06	0,50±0,05*
ИАН (стим)	0,70±0,07	1,36±0,03*
СЦК	1,66±1,58	2,14±0,10*
ФП (баз), %	33,94±4,52	18,24±4,78
ФП (стим), %	32,29±4,28	48,25±2,54*
ФИ (баз), ч.л./а.н.	3,98±0,12	4,87±0,22*
ФИ (стим), ч.л./а.н.	3,75±0,17	5,50±0,11*
АФ (баз), ч.л./л	13,16±2,28	4,99±1,62*
АФ (стим), ч.л./л	11,92±2ДО	15,88±3,14
Δ АФ, ч.л./л	(-1,3±0,93)	10,89±2,15*
ФЧ, ч.л./н.	1,15±0,19	2,67±0,11*

Примечание. * - P<0,05 по отношению к пороссятам 1К группы.

Таблица 19.

Иммунный статус 2-месячных поро-
сят (повышенный радиационный фон)

Показатели	1Б группа	2Б группа	3Б группа	4Б группа
Е-РОК, %	31,25±4,53	29,2±3,72	47,50±4,89 •	43,20±6,44
Е-РОК _{ГР} , %	45,17±2,30	37,75±4,17	53,4±9,90	44,00±7,05
М-РОК, %	15,37±4,83	20,00±3,93	29,20±2,60*	29,00±1,05*
Ig G, мг/мл	11,80±0,77	13,77±2,29	12,42±1,17	9,34±0,18*
Ig M, мг/мл	1,79±0,12	2,06±0,13	1,78±0,14	1,61±0,18
Ig A, мг/мл	0,50±0,05	0,46±0,05	0,36±0,03*	0,39±0,0,04
Общий белок, г%	6,52±0,23	5,98±0,10	6,45±0,21	6,30±0,31
Альбумины, %	53,32±0,84	54,34±1,80	54,28±2,85	54,62±2,40
α-глобулины, %	15,74±0,76	14,67±1,42	17,50±1,73	16,21±0,54
β-глобулины, %	15,44±0,71	14,70±1,93	12,56±1,89	13,73±1,21
γ-глобулины, %	15,50±0,96	16,29±1,40	15,66±0,34	15,45±1,81
АГ	1,15±0,04	1,21±0,08	1,20±0,15	1,23±0,13

Примечание. * - P<0,05 по отношению к пороссятам 1Б группы,

- - $P < 0,05$ по отношению к пороссятам 2Б группы.

Таблица 20.
Иммунный статус 2-месячных пороссят (условно чистая зона)

Показатели	1 К группа	2К группа
Е-РОК, %	48,05±2,59	51,13±7,49
Е-РОК _{ТР} , %	48,29±6,26	39,81±4,12
Е-РОК _{ТЧ} , %	(-0,24±7,51)	11,32±7,95
М-РОК, %	8,81±1,64	11,63±1,82
Ig G, мг/мл	14,25±1,25	15,63±1,53
Ig M, мг/мл	1,48±0,06	1,76±0,17
Ig A, мг/мл	0,62±0,08	0,70±0,05
Общий белок, г%	5,91±0,10	6,33±0,10*
Альбумины, %	49,12±3,49	52,95±1,23
α-глобулины, %	21,37±3,75	17,66±1,94
β-глобулины, %	16,15±1,22	15,23±0,68
γ-глобулины, %	13,37±2,10	14,17±2,78
А/Г	1,00±0,14	1,14±0,06

Примечание. * - $P < 0,05$ по отношению к пороссятам 1К группы.

Таким образом, по гематологическим показателям, характеризующим резистентность, можно заключить, что защитные системы организма активируются под влиянием селексена в зонах с различной степенью радиационного загрязнения и эти животные лучше переносят радионуклидное воздействие, в том. числе и по более высокой интенсивности роста.

Влияние селексена на образование метастазов

Эффект селексен изучали на мышах линии С57В1/6, самцах, в возрасте около 3 месяцев (масса 21-22 г), которым была трансплантирована в мышцу правого бедра – карцинома легких Льюис (штамм LLC) при величине инокулята 10^6 опухолевых клеток. На 6 сутки, когда опухоль у мышей достигла среднего размера около 500 мм и у большинства мышей пальпировалась, мышей разбили на 3 группы по 20 голов в каждой: контрольная – интактные животные; положительный контроль – внутрибрюшинно вводили раствор стандартного химиопрепарата платидиама из расчета 3 мг/кг массы тела; предлагаемый вариант - за 30 минут до введения платидиама также внутрибрюшинно вводили селексен в дозе 10 мг/кг массы тела в виде мелкодисперсной эмульсии на 1% крахмальном геле + Твин-80. На 21 день после начала опыта мышей забивали, в легких подсчитывали количество легочных метастазов опухоли, диаметр которых превышал 0,1 мм. Результаты опыта приведены в таблице 21.

Таблица 21.
Влияние селексена на метастазирование в легкие опухоли LLC у мышей при лечебном воздействии на них платидиама

Варианты	Среднее количество метастазов	% к контролю	% к положительному контролю
Контроль	8,8±0,6	100,0	141,9
Положительный контроль	6,2±0,7 ^X	70,5	100,0
Предлагаемый вариант	5,4±0,5 ^X	61,4	87,1

Примечание. ^X - значимое различие ($P < 0,05$) с контрольной группой.

Применение селексена при лечении мышей с опухолью LLC с использованием пла-

тидиама, снижает число метастазов легких у мышей на 13 % по сравнению с действием только химиопрепарата.

Применение препарата селексена для ликвидации дефицита селена

В связи с тем, что около 90% территории России являются недостаточными по селену, стране остро необходим нетоксичный источник селена. Таким источником является селексен.

Токсичность селексена по сравнению с другими источниками селена очень низка.

Способность селексена повышать содержание селена в крови была показана в опыте на ягнятах с использованием препаратов селена. Животные были разбиты на три аналогичные группы по 30 голов в каждой: 1 - контрольная, 2 группа получала селексен, 3 - селенит натрия. Оба препарата по предлагаемым вариантам животные получали из расчета на элементарный селен по 0.1 мг/кг живой массы. Через сутки, семь, восемнадцать и двадцать восемь суток после начала эксперимента у ягнят брали кровь для анализов.

Результаты подтвердили ранее полученные закономерности на других видах животных. Концентрация гемоглобина практически не отличалась у всех трех групп и колебалась в пределах биологической нормы для данного вида и возраста животных (от 90 до 110 г/л), гематологическая картина также не указывала на какие-либо отрицательные влияния использования селексена и селенита натрия. Величины показателей, характеризующих неспецифическую резистентность и антиоксидантную активность организма ягнят находились в пределах физиологической нормы. Концентрация селена в крови подопытных ягнят представлена в таблице 22.

Таблица 22.

Содержание селена в крови подопытных ягнят, мкг/литр.

Сутки после начала эксперимента	Контроль	Опытные группы	
		Селексен	Селенит натрия
1	115.4±8.4	119.5±6.3	116.1±7.7
7	133.0±2.0	160.1±8.1 ^x	154.9±6.0 ^x
18	97.7±7.1	135.0±7.3 ^x	144.8±3.3 ^x
28	87.7±5.4	129.5±9.9 ^x	126.3±9.1 ^x

Примечание.^x - значимое различие ($P < 0.05$) с контрольной группой.

Анализ данных, представленных в таблице 22 позволяет сделать вывод о том, что при использовании органического соединения селена - селексена - концентрация селена в сыворотке крови подопытных животных возрастала и была приблизительно такой же, как и при скармливании неорганического соединения - селенита натрия. Концентрация селена в сыворотке крови контрольных животных была достоверно ниже.

Косвенным доказательством того, что селен высвобождается в организме из органического соединения - селексена, включаясь в формы, обладающие антиоксидантной активностью, служат эксперименты по определению антиоксидантной активности сыворотки крови крыс, которым ежедневно однократно на протяжении 7 суток вводили *per os* по 0.2 мл масляного раствора селексена из расчета 0.1 мг на 1 кг массы животного. Антиокислительную активность (АОА) сыворотки определяли по ее торможению перекисного окисления липидов (ПОЛ). В качестве модели окисления были выбраны общие фосфолипиды из яичного желтка в виде липосом. В условиях индуцированного ПОЛ ионами двухвалентного железа образуется конечный продукт ПОЛ - малоновый диальдегид (МДА). Добавление сыворотки крови к такой окисляющейся системе замедляет скорость образования МДА из-за присутствия в сыворотке естественных антиоксидантов. Степень такого торможения ПОЛ зависит от количества антиоксидантов в сыворотке крови. Определение АОА сыворотки крови проводилось по методу Владимирова Ю.А. и Арчакова А.И.. 1975. Образующийся МДА извлекали бутанолом и измеряли оптическое поглощение на спектрофотометре SPECORD при дли-

не волны 532 нм.

Было получено, что сыворотка контрольных животных тормозила ПОЛ слабее (0.332 ± 0.014 оптических единиц), чем сыворотка крови крыс получавших селексен ($0,300 \pm 0.018$), $P < 0,05$, $n=8$ для каждой группы животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты экспериментальных исследований, проведенных на лабораторных и сельскохозяйственных животных, а также полученных *in vitro* показали, что органическое соединение селена - селексен - обладает следующей функциональной активностью:

- а) активизирует ферментативную антиоксидантную систему организма животных, повышая активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы;
- б) активизирует монооксигеназную систему, индуцируя синтез ферментного белка и повышая каталитическую активность цитохрома P-450;
- в) повышает неспецифическую резистентность организма, активизирует клеточное, гуморальное и фагоцитарное звенья иммунитета;
- г) ингибирует образование свободных радикалов и тормозит перекисное окисление липидов;
- д) нейтрализует ранее образовавшиеся свободные радикалы и ингибирует спонтанный и принудительный процессы перекисного окисления липидов;
- е) подобно минеральным солям селена, способен отдавать свой селен для включения в состав селеносодержащих ферментов.
- ж) обладает положительным эффектом на воспроизводительную функцию животных
- з) проявляет антиметастатическое действие при совместном использовании с противоопухолевыми химиопрепаратами.

Полученный экспериментальный материал позволяет рекомендовать новый препарат СЕЛЕКСЕН в качестве биологически активной пищевой добавки в регионах с дефицитом селена, с дефицитом йода, а также в регионах с неблагоприятной экологической обстановкой (промышленные районы).

ЛИТЕРАТУРА

1. Каталог компании Стана, выпуск 4, 1999, Чита.
2. Давыдова А.П. Актуальность, показатели и критерии применения "Биоселена" в лечении гнойно-воспалительных заболеваний носа и околоносовых пазух.// Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека. Тез. Всерос. конф. С междунар. участием. - Москва, 1999. - с. 15,
3. Голубкина Н.А., Гмошинский И.В., Зорин С.Н. и др. Влияние биологически активной добавки автолизата обогащенных селеном пекарских дрожжей на состояние кишечного барьера у крыс при анафилаксии.//Вопросы питания. - 1998. - N3.- с. 18-21.
4. . Голубкина Н.А., Соколов Я.А., Хотимченко С.А. и др. Селено-обогащенные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. // Биотехнология. -1996. - N5. - с.52-56.) Сравнение действия отечественного препарата "Биоселен" на основе пекарских дрожжей и финского "Селена".
5. Пониткин Д.М., Биохимическая оценка эффективности применения деполена при выращивании и откорме быков, автореф. дис. канд. биол. наук, Всерос. н.-и. вет. ин-т патологии, фармакологии и терапии. Воронеж, 1997);
6. Шешко П.М., Иванов Д.П., Кучинский М.Л. и др. СЕДИФИЗ - препарат для одновременной профилактики и лечения беломышечной болезни, зоба и алиментарной анемии у поросят и телят. // Вет. наука - производству. Минск. - 1992. - Вып.30. - 154- 162
7. Hercberg S, Preziosi P, Briancon S, et al., Control Clin Trials 1998 Aug;19(4):336-5L A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population, J Trace Elem Med Biol 1998 Nov;12(3):177-82, The TSH-dependent variation of the essential elements iodine, selenium and zinc within human thyroid tissues.
8. H.Safayhi, G. Tiegs, A. Wendel, A novel biologically active seleno-organic compound - V, Inhibition by ebselen (PZ-51) of rat peritoneal neutrophil lipoxygenase, Biochemical Pharmacology, v.34, No. 15, pp. 2691-2694, 1985.
9. Галочкин В.А., Кузнецова Т.С., 2000, Вестник РАСХН, № 2, стр. 51-54, Антиоксидантный статус организма свиноматок и их потомства при использовании минеральных и органических форм селена.
10. А. РойтД991 Основы иммунологии, Москва, Мир, 1991, 328 стр.
11. Галочкин В.А. Боряев Г.И., Блинохватов А.Ф. и др. 1995. Патент РФ № 2004158, Способ выращивания цыплят.
12. Галочкин В.А., Боряев Г.И., Харитонов И.Г. и др. 1995. Патент РФ № 2045200, Способ выращивания поросят.
13. Блинохватов А.Ф. Автореферат докт. дисс., Саратов 1993.
14. Berry M.J., Larsen P.R.. Cloning of the selenoenzyme type 1 iodothyronine deiodinase. Selenium in Biology and Medicine, 5 Int. Symp. 1992, Tennessee USA.
15. Hartfield D. et al. Selenocystein t RNA isoacceptors in mammalian cells, // Selenium in Biology and Medicine, 5 Int. Symp. 1992, Tennessee USA.
16. У.В. Перунова, Г.А. Трифонов, Р.И. Древки. Сравнительная эффективность применения селенистых препаратов при выращивании поросят// Обеспечение стабилизации АПК в условиях рыночных форм хозяйствования. Тез. докл. межрегиональной науч.-практич. конференции молодых ученых и специалистов. -Воронеж, 1997. -ч.2. - с.69-71
17. Omura T., Sato R., J. Biol. Chem. ,1984, v.239. p. 2370 - 2378.
18. Nash T., Biochem. J., 1978, v.55, p. 416-423.
19. Журавлев А.И. и др. Методы регистрации свободнорадикального окисления липидов в сыворотке, плазме и мембранах клеток крови. Методические рекомендации, М. 1989.
20. Брусов О.С. и др. Влияние природных ингибиторов радикальных реакций на автоокисление адреналина. Бюлл. Эксп. Биол. и Мед., 1976, стр. 33-35.
21. Ронин В.С. и др. Руководство к практическим занятиям по методам клинических лабораторных исследований. М. 1982.

22. Моин В.М. Простой и специфичный метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. Лаб.дело, 1986, стр. 724-727.
23. Lowry O.H et al., J. Biol. Chem., 1971, v. 193, p. 265-275.
24. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. М. 1975.