

**Галочкин В.А., Галочкина В.П.,
Крапивина Е.В., Боряев Г.И.**

**НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ
РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЖИВОТНЫХ**

**Что это такое?
Как ее охарактеризовать?
Как ее повысить?**

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФИЗИОЛОГИИ, БИОХИМИИ И ПИТАНИЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЖИВОТНЫХ

Что это такое?
Как ее охарактеризовать?
Как ее повысить?

Боровск – 2007

Методическое пособие. Предназначено для профессорско-преподавательского состава вузов и техникумов, научных сотрудников, аспирантов, студентов и зооветспециалистов хозяйств.

Подготовлено в рамках реализации Национального проекта РФ «Развитие АПК» сотрудниками ВНИИ физиологии, биохимии и питания с.-х. животных (В.А. Галочкин, В.П. Галочкина), Брянской Государственной сельскохозяйственной академии (Е.В. Крапивина) и Пензенской Государственной сельскохозяйственной академии (Г.И. Боряев)

Рассмотрено и одобрено на заседании Ученого Совета ВНИИФБиП с.-х. животных 16 мая 2007 года, протокол № 5 от 16.05.2007

Оглавление

Введение

Терминологический и смысловой аспекты проблемы..... 3

Свободные радикалы - унифицированные механизмы (элементы) неспецифической резистентности 6

Антиоксидантно-антирадикальная система защиты организма

Селен и селенопиран 9

Селен и программы национальной безопасности разных стран 11

Окислительный метаболический стресс

Наша гипотеза повышения неспецифической резистентности 18

Система глутатиона – компонент и критерий системы неспецифической резистентности животных 19

Окислительный метаболический стресс и теория Селье 23

Ферментная система антиоксидантной защиты 28

Многочисленность препаратов селена 30

Метаболизм селена в организме животных и проблема биологической доступности его различных форм 32

Селенопиран – новый антиоксидант широкого спектра действия 36

Анализ антиоксидантных свойств селенопирана *in vitro* 36

Результаты опытов на различных видах и половозрастных группах сельскохозяйственных животных и птице 41

Эксперименты на цыплятах-бройлерах 43

Профилактика нарушений репродуктивной системы коров введением пролонгированной формы селенопирана..... 47

Эксперимент на телятах..... 49

Влияние селенопирана на функциональное состояние иммунной системы, неспецифическую резистентность, продуктивность и качество мяса у откармливаемых бычков 49

Эксперимент на ягнятах 52

Опыт на супоросных и лактирующих свиноматках и поросятах (сравнение селенопирана с селенитом натрия) 53

Влияние селенопирана на организм свиней в условиях радиоактивно-загрязненной зоны..... 59

Заключение

Общие итоги 61

Физиолого-биохимические итоги экспериментов по повышению неспецифической резистентности животных и птицы с применением селенопирана 63

Некоторые характерные биохимические критерии, отмеченные в наших экспериментах по повышению неспецифической резистентности животных и птицы 64

Введение

Терминологический и смысловой аспекты проблемы

Какой смысл мы привыкли вкладывать в давно знакомое и, казалось бы, общеизвестное понятие «неспецифическая резистентность»? Обычно никто никаких ни терминологических, ни смысловых сложностей не испытывает. Все кажется предельно простым. Неспецифическая резистентность это неотъемлемое свойство, это жизненно необходимая способность каждого живого организма противостоять любому комплексу неблагоприятных факторов. Это способность всей совокупности самых различных систем в теснейшем взаимодействии самоорганизовывать поддержание защитных сил организма на должном уровне для обеспечения нормального роста, развития, продуктивности, воспроизводства, нормального здоровья даже в тех условиях, которые не всегда можно назвать комфортными и оптимальными для жизнедеятельности.

Чаще всего состояние неспецифической резистентности мы привыкли оценивать по нескольким, как нам иногда представляется, общепринятым показателям. Интересно то, что практически каждый исследователь выбирает свой, понятный и доступный ему для исполнения и интерпретации перечень критериев. Их бывает пять, десять, двадцать пять, а может быть и значительно больше. У многих сформировался свой собственный минимальный набор методов анализа, используя который люди приобретают уверенность, что им удалось приблизиться к пониманию сути неспецифической резистентности и охарактеризовать ее количественно. В итоге имеем ситуацию, когда разные специалисты, говоря о неспецифической резистентности, подразумевают под ней вещи, отражающие не столько нечто объективное, сколько свое персональное проникновение в проблему. Иными словами, у каждого специалиста, работа которого связана с этой важнейшей и сложнейшей проблемой, свой индивидуальный взгляд на нее и свое личное видение понятия «неспецифическая резистентность». Согласитесь, ситуация более чем двусмысленная, но таковы реалии положения, в котором мы сейчас находимся.

Все осознают, что неспецифическая резистентность является сложной комплексной категорией для понимания, описания и расшифровки которой требуется привлечение самых разных оценочных критериев. Сюда должны входить пакеты методических приемов, относящиеся к различным дисциплинам с обязательным учетом зоотехнических, клинических, гематологических, морфологических, физиолого-биохимических, генетических и иммунологических характеристик.

Возникают совершенно резонные вопросы: «А не слишком ли это много, не чрезмерно ли это сложно и нельзя ли все это упростить, не доводя до упрощенчества? Существуют ли в современной биологической науке и могут ли существовать в принципе некие единые унифицированные, общепринятые и объективные критерии, способные дать характеристику неспецифической резистентности любого организма? Разработаны ли на сегодняшний день индикаторные тесты количественной оценки функционального со-

стояния неспецифической резистентности?» В своей работе мы предпримем попытку аргументировать существование положительных ответов на все поставленные вопросы.

Ветеринарные и медицинские врачи четко понимают, что такое специфическая резистентность к конкретному заболеванию. А вот что такое общая неспецифическая резистентность к любому недугу вообще, ответ, основывающийся на ясных и четких формулировках, дать значительно сложнее. Это несколько напоминает ситуацию, имевшую место в первой трети прошлого века. Тогда молодой ученый Ганс Селье, незадолго до этого эмигрировавший в Канаду из Венгрии, впервые поднял вопрос о патологии. Только его, в отличие от всех, волновала не патология конкретного недуга, поразившая конкретного человека. Он оказался первым, кто задался вопросами, что такое патология вообще и что такое патология как таковая, безотносительно причин ее породивших и следствий, ею порожденных. О том, куда привело его целенаправленное стремление подняться над бесчисленными вопросами о бесконечном количестве мелких, исключительно важных и чрезвычайно значимых частных факторов, мы поговорим несколько позднее. А сейчас, не взирая на кем-то признаваемые или отвергаемые аналогии, мы попытаемся разобраться с пониманием термина общая неспецифическая резистентность.

Например, смысл одной из многих ее формулировок сводится к тому, что *под общей неспецифической резистентностью надлежит понимать состояние организма как следствие реализации метаболического генотипа, кодирующего его химический гомеостаз, который в конкретных условиях обеспечивает нормальное течение физиологических процессов.* Формулировка конечно емкая, но слишком уж декларативная, общая и вызывающая много вопросов. Например, один из них. Разумеется, метаболический генотип теоретически обязан кодировать химический гомеостаз, но реализуется-то он далеко не всегда в полной мере, и какова будет степень реализации генетической детерминированности в каждом конкретном случае, сказать невозможно. Т.е. фактически в данную формулировку заложено некое потенциальное свойство организма пребывать в определенном состоянии. А будет ли это состояние химического гомеостаза реализовано, в каких пределах его колебания можно трактовать как физиологически нормальные и какими количественными критериями его надлежит оценивать, из этой, несомненно, интересной формулировки вовсе не вытекает. Другая формулировка предлагает понимать неспецифическую резистентность как *способность сохранять в органах, системах или во всем организме режим оптимального функционирования как в стереотипных, так и в изменившихся условиях жизнедеятельности при самых всевозможных воздействиях.* Формулировка также глобальна, обща, но все-таки значительно более доступна для понимания. И ею на определенных этапах решения некоторых задач вполне можно руководствоваться.

Само понятие общей неспецифической резистентности не может плодотворно рассматриваться вне такой терминологической конструкции как общий *иммунобиологический надзор.* Дискуссионен именно этот термин или

очевиден, сейчас не об этом речь. Существует мнение, что *иммунобиологический контроль следует понимать как единство и взаимосвязь специфических иммунологических и неспецифических биологических факторов и механизмов гомеостаза, находящихся под генетическим контролем, регулируемых в системе прямых и обратных связей, направленных против агентов и причин, нарушающих гомеостаз и способствующих восстановлению структурно-функционального постоянства внутренней среды организма*. Легко прослеживается смысловая близость этого понятия с приведенной первой формулировкой неспецифической резистентности. Добавлены только кибернетические принципы саморегуляции, упоминаются иммунология и морфология. Не следует ли из такого родства формулировок вывод о неперспективности и нецелесообразности дальнейшей работы над самими формулировками, хотя, разумеется, можно продолжать их развивать и детализировать включением ферментных, гормональных систем, иных регуляторных факторов и механизмов обмена веществ? Суть-то от этого уже не изменится.

Сейчас практически в любом современном словаре, энциклопедии или просто учебнике уже не встретите, что иммунитет есть способность организма бороться со всем чужеродным и противостоять инфекциям, поскольку такое понимание иммунитета давно и безнадежно устарело. Иммунная система обладает функциями, далеко выходящими за рамки «живучих добрых старых» представлений о защите организма от болезнетворных факторов. Важнейшей функцией системы иммунитета уже давно признается контроль за генетическим гомеостазом. Система иммунитета по своей имманентной природе – система регуляторная, относящаяся к сфере межсистемных взаимоотношений. Она функционально абсолютно неразделимо и совершенно равноправно взаимосвязана в единой триаде регуляторных систем организма – нервной, эндокринной, иммунной. Эта триада для нас вещь аксиоматическая, принятие ее справедливости и всеобщности не требует доказательств. А вот что касается функционирования в рамках триады множественных самых разнообразных механизмов, причастных к единой системе неспецифической резистентности, то при их обсуждении придется прибегать к серьезной аргументации и отстаиванию прав на существование.

***Свободные радикалы – унифицированные механизмы (элементы)
неспецифической резистентности***

Что иммунная система – «щит и меч» организма, и напоминать-то неловко. Слишком тривиальный штамп. А вот, что без свободных радикалов щит не защищает и меч не разит – это пока еще не для всех самоочевидная истина. Задуматься есть над чем. Например, любой стресс, без исключений, какие только природа и мы с вами не изобрели, будь то эмоциональный, будь то физический, химический или какой угодно иной, это, прежде всего, радикальные изменения обмена веществ. Первопричина метаболических изменений – подстёгивание цепной реакции образования свободных радикалов. Любое отклонение от устоявшегося стереотипа, начиная с появления на свет, – всплеск свободнорадикальных реакций. Никотин, алкоголь, наркотики, избы-

ток высококачественных кормов, незначительное наличие недоброкачественных – повышенное образование свободных радикалов. Солнце, холод, вода, воздух (избыток кислорода, недостаток кислорода) – тоже самые отличные стимулы образования свободных радикалов. Прибегли к помощи самых необходимых процедур или медикаментов для лечения любого возникшего заболевания, итог прежний – очередной форсаж выброса свободных радикалов.

Пока ученые насчитывают свободных радикалов около восьми тысяч. В этот перечень входят не только радикалы реактивного кислорода, но и радикалы реактивного хлора, и радикалы реактивного азота. Если сравнить организм с двигателем, то для его работы действие радикалов реактивного азота можно с натяжкой приравнять к роли машинного масла, а влияние радикалов кислорода некоторые исследователи сравнивают с действием песка. Эту метафору мы не можем признать удачной. Пожалуй, наглядней будет сопоставление роли свободных радикалов кислорода в организме с назначением антидетонационных и антикоррозийных присадок к маслам и топливу для двигателя. Если их недостаточно – нехорошо. Если их избыток – тоже ничего хорошего. Вне зависимости от предпочтительности аналогий, все свободные радикалы объединяет и обуславливает их повышенную реактивность наличие у них на внешней орбитали одного неспаренного электрона. Для устойчивого состояния каждая молекула на внешней электронной оболочке должна иметь пару электронов. Свободные радикалы ищут и находят соседние молекулы, у которых отбирают недостающий им один электрон, и их молекула стабилизируется, а потерявшие свой электрон другие, не такие агрессивные молекулы, страдают.

В этом нюансе и заключается принципиальное отличие антиоксидантов от свободных радикалов. Обе группы веществ имеют на внешней электронной орбитали неспаренные электроны, но антиоксиданты способны жертвовать своим электроном во вред себе и во благо других молекул. Свободные радикалы также жертвуют, но не своим, а чужим электроном, вредя другим молекулам, но помогая себе.

С одной стороны, свободнорадикальное окисление липидов представляет собой физиологически естественный процесс. Только благодаря ему осуществляется целый ряд жизненно важных реакций организма: перенос электрона по флавиновой системе и окислительное фосфорилирование в митохондриях, митогенез (деление клеток при их размножении), передача гормональных и клеточных сигналов, проведение нервного импульса. Свободные радикалы обеспечивают нормальное функционирование генетического аппарата (транскрипция, экспрессия, трансляция). Постоянно протекающие в клеточных мембранах свободнорадикальные реакции ведут к обновлению их липидного состава. В результате перекисного окисления арахидоновой кислоты образуются простагландины и их производные простациклины и тромбоксаны. Эта группа веществ обладает невероятно широким ареалом действия – от разнообразного гормонального до медиаторного, рецепторного и регуляторного. Она не имеет специализированной эндокринной железы, ответственной за ее выработку, а синтезируется во всех клетках всех тканей и ор-

ганов каждого высшего организма и везде выполняет свою специфическую функцию.

Свободнорадикальные реакции принимают самое деятельное участие в осуществлении иммунной системой защитной функции. Иммунная система широко и успешно пользуется выраженным цитотоксическим эффектом свободных радикалов. Им нейтрофилы, макрофаги и другие иммунокомпетентные клетки обязаны не только своей компетентностью в адекватном иммунном ответе, но и своей бактерицидностью при уничтожении попавших в организм патогенных микроорганизмов. Их легкой, скорой на расправу «рукой» иммунная система уничтожает мутантные клетки, реализуя также и свою антиканцерогенную функцию. При любой воспалительной реакции в организме фагоцитам и Т-лимфоцитам, в том числе и их профессиональной популяцией киллеров, также благодаря свободным радикалам, удается развить активную противомикробную и противоопухолевую деятельность. Беда лишь в том, что свободные радикалы уничтожают не только патогенные микроорганизмы и дефектные молекулы, они разрушают без малейшего разбора все оказавшиеся в опасной близости молекулы и биологические структуры, включая очень полезные, нужные и жизненно необходимые.

С помощью тех же свободных радикалов в микросомальной монооксигеназной системе идет нейтрализация и элиминирование из организма как всех, поступающих извне, ксенобиотиков, так и эндогенно образующихся токсических продуктов метаболизма и просто отработанных шлаков. Этот перечень можно долго продолжать, но и перечисленного вполне достаточно для понимания жизненно важной значимости в организме свободнорадикальных реакций.

Мы постоянно будем проводить мысль, что свободные радикалы, при их избыточном образовании, оказывают губительное влияние буквально на все компоненты клетки, а, следовательно, и на организм в целом. В первую очередь страдают от перекисного окисления фосфолипиды мембран. Эти незаменимые и наиболее уязвимые компоненты всех биомембран содержат больше всего ненасыщенных жирных кислот. Вследствие взаимодействия свободных радикалов с их ненасыщенными жирными кислотами, в зонах с высокой активностью процессов липопероксидации, непосредственно на мембране образуются каналы пассивной проницаемости, что нарушает нормальный трансмембранный перенос веществ как из, так и внутрь клетки. Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) разрушают молекулярную структуру не только фосфолипидов, но и белков, и нуклеиновых кислот. Такие продукты ПОЛ как альдегиды и кетоны (взаимодействующие *in vitro* с тиобарбитуровой кислотой) необходимы для синтеза простагландинов и многочисленных стероидов гормональной и негормональной природы. Одновременно эти вещества, взаимодействуя со свободной аминной группой белков, в том числе и ферментов, лишают их функциональной активности и образуют опасные для организма высокомолекулярные конъюгаты. Страдают от них также и рибо-, и дезоксирибонуклеиновые кислоты. Все это, вместе взятое, и дестабилизирует мембраны клеток и субклеточных органелл, и вызывает деструкцию цитоплазматических элементов, что может привести к очень серьез-

езной патологии и даже к внеплановой и неконтролируемой организмом гибели клеток.

Мы уже твердо знаем, что свободные радикалы постоянно образуются в нормальных физиологических условиях в очень многих биохимических реакциях, являясь неотъемлемой составной частью процесса обмена веществ. Мы с вами убедились как они абсолютно необходимы организму и какой колоссальный вред они способны причинить. Ничего странного и никакого парадокса в этом нет. Проблема заключается не в самих свободных радикалах, а в их количестве. Насколько нам известно, в научной литературе никто, нигде и никогда серьезно не анализировал проблему недостаточности свободных радикалов и вреда для организма такой ситуации. Зато буквально все озабочены зловещими перспективами свободнорадикального взрыва, перепроизводством и избыточным количеством свободных радикалов, пагубным образом влияющих на обмен веществ.

Антиоксидантно-антирадикальная система защиты организма

Селен и селенопирин

Первоначально считалось, что свободные радикалы лежат у истоков развития нескольких заболеваний, затем этот список был продлен до нескольких десятков, сейчас счет идет на сотни. Сколько этих болезней и какие они – к этому мы еще вернемся и рассмотрим более обстоятельно, а пока продолжим. К сожалению современная наука еще не научилась непосредственно, точно и количественно оценивать ситуацию с обменом веществ в организме, наступление которой ведет к неконтролируемому перепроизводству свободных радикалов, и названную - окислительный метаболический стресс. Уж слишком сложен предмет и, очевидно, однозначного ответа в природе просто не существует. Но зато природа изобрела мощную, многокомпонентную, глубокоэшелонированную систему борьбы с окислительным стрессом. Именуется она антиоксидантно-антирадикальная система защиты организма. Естественно, она представляет собой часть единой системы неспецифической резистентности, часть всеобщей системы иммунобиологического надзора организма.

Глобальная задача всех животноводов: и селекционеров, и кормленцев, и физиологов, и биохимиков одна и заключается она в умении помочь животному отрегулировать обмен веществ, скорректировать интенсивность и направленность метаболических потоков таким образом, чтобы обеспечить хорошее здоровье и хорошую продуктивность.

Стратегическая научно-практическая задача у всех нас одна, но оперативные подходы к ее решению разные, они неисчерпаемы в своем многообразии. Мы полагаем, что одним из многих, весьма значимых тактических подходов, одной из многих потенциально результативных оперативных попыток ее решения можно признать активное вторжение в регуляцию антиоксидантно-антирадикальной системы организма продуктивного животного. Проиллюстрируем наше мнение об антиоксидантах вообще и о механизмах

их влияния на продуктивность и здоровье животных одним частным примером применения антиоксиданта широкого спектра действия – селенопирана. Все-таки, что дает нам основание из массы интереснейших биологически активных веществ ставить, казалось бы, гипертрофированный акцент именно на антиоксиданты, а среди десятка тысяч известных науке природных и синтетических антиоксидантов избрать именно селенопиран? Нам представляется это вполне логичным и аргументированным. Во-первых, селенопиран, обладая широкой гаммой разнообразных и совершенно удивительных свойств, полностью отсутствующих у других очень хороших антиоксидантов, представляет собой отличный эталон для сопоставительного изучения антиоксидантной активности всей массы иных антиоксидантов любой химической природы. Во-вторых, это селенсодержащий антиоксидант, обладающий уникальными свойствами проходить метаболические превращения по разным путям, в зависимости от обеспеченности рациона селеном. Именно в силу этого качества селенопиран способен выполнять разноплановые задачи либо экстренного снабжения организма недостающим селеном, либо, при достатке селена, выполнять функцию антиоксиданта, служа одновременно резервным хранилищем селена, но не пассивным, а метаболически активным и, кроме того, способным оперативно реагировать выбросом селена из своей молекулы на все случаи возникновения его дефицита. По этому принципу не работает ни один из известных нам антиоксидантов. Этот принцип справедлив для всех ферментов. Любой из двух тысяч ферментов работает как фермент, выполняя свою узко специализированную каталитическую функцию, только пока есть его субстрат. Нет персонального субстрата – фермент перестает быть ферментом, теряет свою уникальность и становится самым заурядным источником аминокислот. Мы провели эту аналогию работы селенопирана с работой ферментов совершенно не случайно. Селенопиран обладает еще одной, не менее интересной характеристической чертой. Молекула селенопирана способна проявлять самостоятельную глутатионпероксидазную активность.

Приведенная аргументация позволяет нам рекомендовать селенопиран, с одной стороны, как исключительно удобный модельный препарат для научных исследований, а с другой стороны, как заслуживающий самого пристального внимания для использования в животноводческой практике. Мы будем с разных сторон иллюстрировать эти две высказанные мысли многочисленным экспериментальным материалом, полученным в исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo*.

В последние три десятилетия идет громадное число публикаций по селену. Лавинообразный поток, как это ни странно, не собирается утихать. Всезнающая статистика утверждает, что в научных периодических изданиях мира ежедневно публикуется пять работ, затрагивающих различные аспекты, связанные с селеном. Во всем мире самым активнейшим образом продолжается поиск селенсодержащих веществ для введения их в продукты питания самостоятельно, либо в составе комбинированных пищевых добавок в рационы здоровых и больных людей, и в рацион животных в качестве профилактического, лечебного, либо корректирующего средства. Наверное, это, в

известной степени, и естественно. Ведь селен - последний из незаменимых факторов питания, открытых человечеством. Селен - единственный из всех элементов таблицы Менделеева, включение которого в белки организма высших животных контролируется на уровне генетического аппарата. С этим связана еще одна, исключительно важная, биохимическая специфика метаболизма селена, к которой мы еще обязательно вернемся. Заключается она в том, что для селена не существует каких бы то ни было приоритетных минеральных, либо органических форм, легко усвояемых, природных, натуральных, биологически наиболее адекватных для организма человека и животных. Хотя метаболическая судьба селена во всех видах организмов давно и детально изучена, к великому сожалению, такую особенность превращений селена в организме высших животных еще не осознали даже некоторые из ученых. Некомпетентно делая упор именно на эти пункты, беззастенчиво грешит недобросовестная реклама производителей многочисленных пищевых и биологически активных добавок селена – одни по умыслу, а другие по недомыслию, вводя в заблуждение рядовых потребителей. Разумеется, исключения существуют, они представлены органическими соединениями селена, встречающимися в растительном мире и являющимися физиологически недоступными для всех высших животных, включая человека.

На селен природа возложила регуляцию множественных ключевых метаболических реакций, ответственных за самое главное, что есть у всего живого на земле, – за здоровье. И, вместе с тем, в силу химических свойств этого элемента большая его часть оказалась смытой с поверхности земной коры во времена ледниковых периодов и около 80 % территории нашей планеты сейчас относится к селендефицитным биогеохимическим провинциям.

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.).

При недостатке селена в рационе у животных и человека возникают изменения, напоминающие авитаминоз Е: задержка роста, дегенеративные и дистрофические изменения в миокарде, скелетных мышцах, костной ткани, нервных клетках, печени, кожном и волосяном покровах и других органах и тканях. Происходят нарушения воспроизводительной функции: снижение либидо, нарушение овариального цикла, повышенная эмбриональная смертность, высокий процент бесплодия.

Селен и программы национальной безопасности разных стран

Проблема селенового питания в настоящее время пока еще не уступает пальму первенства в перечне проблем приоритетной национальной значимости. Практически все страны мира, включая развивающиеся, разработали и реализуют специальные селеновые проекты в рамках общегосударственных

продовольственных программ и программ по физическому и интеллектуальному здоровью нации.

Как и большинство регионов мира, все скандинавские страны дефицитны по селену. Финляндия была первой страной, которая в 1969 году приняла государственную программу по кормовым и пищевым добавкам селена. Затем были Дания – 1975, Норвегия – 1979, Швеция – 1980 год, а за ними Новая Зеландия и другие страны Европы, Америки, Азии и Африки. Интересная и совершенно специфическая ситуация по селену сложилась в США. Из 49-ти штатов приблизительно в половине констатируется дефицит селена в почве, воде и растениях, в трети его концентрация считается нормальной, а приблизительно в десяти штатах, и особенно на массивах Великих Равнин северо-запада, концентрация селена избыточна.

К сожалению, Россия до сих пор еще не имеет утвержденной национальной программы ликвидации дефицита селена у человека и животных, хотя, как и в целом по планете, у нас имеются единичные локализованные территории с избытком селена в почве и воде, но более 80 % территории нашей страны отнесены к селенодефицитным биогеохимическим провинциям (в том числе, к ним относятся Московская, Калужская, Тверская, Ленинградская и большинство других областей России).

После выяснения тесной биохимической взаимосвязи между селеном и витамином Е, скандинавские страны приняли решение об обязательном одновременном обогащении рационов животных и птицы этим витамином. Более того, сочтя и эти меры недостаточно эффективными, Финляндия с 1984 г приступила к осуществлению следующей (уже третьей) национальной селеновой программы. В XXI век финны твердо вознамерились войти бездефицитными по селену, обогащая свои пахотные земли, луга и пастбища селенитом натрия. Делается это вовсе не для увеличения урожайности растений, а с единственной целью повышения содержания селена в кормовых и пищевых культурах, которые затем войдут в рационы человека и животных.

Если биологическая роль селена и его влияние на организм давно являются предметом пристального внимания ученых, работающих в области медицинской и сельскохозяйственной биологии, то в последнее время к селену особый интерес стали проявлять и специалисты пищевой промышленности. Государственная политика в области питания человека в развитых странах мира ориентирована на конструирование новых пищевых, биологически активных добавок и создание функциональных продуктов питания, обеспечивающих улучшение физического и интеллектуального здоровья, продление жизни и улучшение качества жизни человека, сельскохозяйственных и домашних животных. РАСХН ставит перед производителями сельхозпродукции вопрос о необходимости производства «селенизированных» молока, яиц и обогащенного селеном мяса.

В 1980 году, после отнесения Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) селена к незаменимым факторам питания, были приняты международные нормы потребления селена, согласно которым при его содержании в пищевых и кормовых продуктах меньше 100 мкг/кг сухого вещества, рацион считается селендефицитным. Если селена больше 5000 мкг (5 мг), то

это явно избыточно. Оптимум принят в зоне от 100 до 300 мкг/кг сухого вещества пищи или корма.

Характерно, что со временем, по мере более глубокого проникновения в проблему, соответствующие медицинские и ветеринарные службы некоторых стран склоняются к пересмотру национальных программ в сторону повышения верхней планки нормы потребления селена, вплоть до 500 микрограммов на каждый килограмм потребляемой пищи в расчете на ее сухой вес.

Хорошо известно положительное влияние минеральных солей селена на общее состояние здоровья, продуктивность молодняка животных и воспроизводительную функцию самок. Также известно о положительном влиянии селена на либидо, величину спермопродукции и резистентность сперматозоидов. Связь селена с возникновением нарушений воспроизводительной функции животных и заболеваемостью метритами и маститами отмечена достаточно давно, и этой проблематике посвящено значительное количество исследований.

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. Вопреки бытующему мнению надо помнить, что в рационах высокопродуктивных животных невозможно полностью компенсировать недостаток витамина Е селеном, точно также, как и недостаток селена заменить витамином Е. Целесообразность дополнительного введения селена даже в рационы, достаточные по витамину Е, и наоборот, сейчас не подвергается сомнению. Однако самым главным сдерживающим фактором широкого использования селена остается высокая токсичность всех известных его препаратов.

Всеобщий характер действия селена и следствий его дефицита у человека и животных определяется многогранностью метаболической роли элемента и его влиянием на функционирование внеклеточных и внутриклеточных механизмов защиты организма, работоспособность мембран всех клеток и субклеточных органелл, всех органов и тканей.

Мы присоединяемся к точке зрения специалистов по селену, рассматривающих и гипоселенозы, и гиперселенозы как пансистемные (надсистемные) заболевания, отражающиеся не только и не столько на каком-либо отдельном органе, сколько на системе органов, на общем метаболизме. Следовательно, мы исходим из того, что как при недостатке, так и при избытке селена нарушается обмен веществ в целом. Изменением содержания селена в рационе мы вносим поправки не в функционирование отдельных органов и систем, а корректируем режим работы всего организма в целом, о чём свидетельствует приведенная ниже схема, составленная на обобщении литературных данных и результатов собственных исследований.

**Схема пансистемного влияния селена
и множественных следствий его дефицита**

ОРГАНЫ-МИШЕНИ	ЗАБОЛЕВАНИЯ
Система органов и тканей антиоксидантно-антирадикально-монооксигеназной защиты организма.	Недостаточность общей неспецифической резистентности организма. Широкий спектр «болезней свободных радикалов», “Free radical diseases”, в т. ч. канцерогенез.
Головной мозг	Селенодефицитная энцефаломалация, фенилкетонурия, болезни Альцгеймера, Паркинсона
Костный мозг	Селенодефицитная анемия
Костная ткань	Остеодистрофия (болезнь Кашина-Бека)
Сердце	Кардиомиопатия, ишемия, стенокардия, риск инфаркта, Кешанская болезнь
Мышечная ткань	Миодистрофия, беломышечная болезнь
Соединительная ткань	Ревматические заболевания, артриты, артрозы
Сосудистая система	Ангиомиопатия, атеросклероз
Иммунная система	Фагоцито-, Т-, В-иммунодефициты. Повышенный риск всех заболеваний, включая рак
Печень	Селенодефицитные гепатозы, гепатонекрозы
Почки	Селенодефицитная нефродегенерация
Щитовидная железа	Селенодефицитный кретинизм, селенодефицитный зоб
Кожа	Воспалительные заболевания, дерматиты, экземы, диатезы
Поджелудочная железа	Селенодефицитный панкреатит, селенодефицитный диабет
Селезенка	Селенодефицитный спленоз, анемия
Бронхи	Селенодефицитная бронхиальная астма
Глаза	Глаукома, катаракта
Волосы	Выпадение, потеря блеска, слабый рост
Ногти, когти, рога, копыта	Дистрофия, хрупкость, ломкость
Матка	Послеродовые задержания последа, снижение скорости инволюции, эндометриты,
Плод	Селенодефицитная эмбриональная смертность
Молочная железа	Селенодефицитные маститы
Яичники	Селенодефицитный оофороз, аномалии фолликулогенеза, снижение охоты у животных, у птиц яйценоскости и вылупляемости цыплят
Семенники	Селенодефицитный орхоз, пониженные спермопродукция, качество семени, либидо
Лейкоциты	Селенодефицитная лейкоцитомембранопатия, иммунодефициты
Эритроциты	Селенодефицитная эритроцитомембранопатия, гемолиз эритроцитов, анемия

Фигурирующий в первом пункте приведенной схемы термин «свободнорадикальные болезни» широко встречается не только в отечественной, но и во всей мировой литературе. В англоязычном виде он выглядит как «free radical diseases», объединяя под этим общим названием большую серию самых различных заболеваний. А коль скоро это так, то это укрепляет нас в уверенности, что к успешному решению задачи повышения неспецифической резистентности животных мы сможем приблизиться только на путях поиска новых, высокоэффективных антиоксидантов, естественно, без малейшей недооценки значимости условий адекватного кормления и содержания.

Ни на секунду не забывая и ни на йоту не отклоняясь от лейтмотива настоящей работы, мы вновь и вновь заостряем внимание, что на сегодняшний день, в сравнении с многочисленными, широко применяемыми и постоянно синтезируемыми в стране и мире новыми неорганическими и органическими соединениями селена, селенопиран выгодно отличается от всех существующих селенсодержащих препаратов уникальным сочетанием метаболизированности, с последующим высвобождением и включением в метаболический пул содержащегося в нем селена, и самостоятельной функциональной активности, проявляемой собственно молекулой селенопирана. По существу, селенопиран, поступивший в организм будь то оральным, либо парентеральными путями, следует рассматривать как работающую пролонгированную форму селена, как метаболически активно функционирующее депо селена, с самостоятельно проявляемыми в организме специфическими функциями. Эти специфические функции, как мы уже говорили, заключаются в способности селенопирана не только активировать каталитическую активность, но и самостоятельно выполнять в организме роль глутатионпероксидазы – главного фермента антиоксидантно-антирадикальной системы защиты организма. Однако и в этом случае селенопиран выглядит значительно более предпочтительным.

Глутатионпероксидаза нейтрализует токсические продукты перекисного окисления липидов, затрачивая для этих целей восстановленный глутатион – один из самых первых внутриклеточных лимитирующих факторов при окислительном стрессе любой этиологии, включая поражение радионуклидами. Причем на обезвреживание одной молекулы свободного радикала затрачивается две молекулы восстановленного глутатиона, тогда как одна молекула селенопирана способна нейтрализовать восемь молекул активных радикалов, выполняя одновременно глутатионсберегающую функцию. Таким образом, у нас имеются все основания полагать, что селенопиран при недостатке селена в рационе и, следовательно, в организме животного, быстро метаболизируется и используется как обычный источник селена. Этот путь метаболизма селенопирана мы считаем наименее эффективным. В этом случае он может быть заменен гораздо более дешевым минеральным соединением селена. Однако при сбалансированном по селену питании селенопиран начинает активно проявлять свои совершенно специфические метаболические функции, полностью отсутствующие у всех других соединений селена как минеральной, так и органической природы.

Важно подчеркнуть, что селенопиран способен нейтрализовывать и свободные радикалы, и перекись водорода, и органические гидроперекиси даже при осуществлении селенодонорной роли. Он повышает активность цитохрома P-450 (как гидролитическую активность, так и синтез ферментативного белка – ведущего компонента монооксигеназной системы элиминации ксенобиотиков), глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы, церулоплазмина, каталазы, пероксидазы, щелочной фосфатазы. Самое простое и минимально достаточное объяснение механизма повышения селенопираном активности монооксигеназной системы заключается в том, что свободные радикалы азота и, особенно, кислорода (супероксиданион) известны как мощные ингибиторы активности цитохрома P-450.

И все же, несмотря на многочисленные функции, которые удается выполнить молекуле селенопирана даже, в казалось бы, элементарном, селенодонорном пути превращений, мы продолжаем считать, что этот путь метаболизма не самый эффективный. А продукт, образовавшийся после выполненной работы разрушения гетероцикла и выделения селенита, так называемый кетол, неактивен и нетоксичен. Его удаление из организма идет самым обычным образом все в той же системе цитохрома P-450 утилизации ксенобиотиков.

Но ведь никто не может утверждать, что при достаточном селеновом питании организм в состоянии полностью застраховать себя от стрессовых ситуаций самой разной этиологии. А ситуации эти сопровождаются резким развитием окислительного стресса, с которым далеко не всегда способны справиться совместными действиями ферментативное и неферментативное звенья антиоксидантной системы защиты. Вот тут-то селенопиран работает с полной реализацией своих возможностей, претерпевая совершенно иные пути метаболических превращений. А именно – селенопиран проходит сложный и многокомпонентный метаболический путь превращений *без высвобождения селена* (с возможностью рециклинга на конкретной стадии, на чем и основано наше заключение о метаболически активном депо селенопирана с выполнением им целого ряда специфических биологических функций). Молекула селенопирана (напомним, что это – октагидроселеноксантен, то есть – ксантен, который обогащен восемью атомами водорода, это почти «насыщенный» гетероцикл) последовательно отдает один электрон, один протон и еще один электрон и так 4 раза. То есть, если бы одна молекула селенопирана встречала на своем пути исключительно перекиси, элементарным подсчетом можно определить, что ее восьми атомов водорода и еще восьми электронов хватило бы на разрушение четырех молекул перекисей. Причем, а на этом следует особо заострить внимание, - весь процесс идет по пути разрушения перекисей без образования свободных радикалов.

Помимо перекисей в организме при окислительном стрессе появляются и другие токсические соединения, в том числе – свободные радикалы (даже те же самые перекиси, которые не успели встретиться с селенопираном, тем и опасны, что способны образовывать гидроксил-радикалы, агрессивная окислительная активность которых значительно выше, чем у переки-

си водорода, молекулярного кислорода и даже супероксиданиона). В такой ситуации селенопиран становится практически незаменимым для организма.

Как в организме работает молекула классического антиоксиданта? При встрече со свободным радикалом она отдает свой водород с электроном, обезвреживает этот радикал, превращая его в стабильную молекулу, а сама превращается тоже в радикал, но уже долгоживущий, не способный продолжать цепную реакцию радикального окисления. Молекула антиоксиданта выполнила свою функцию, она прервала цепь. «Мавр сделал свое дело, мавр может уходить».

Молекула селенопирана также способна работать классическим способом. При этом образуется промежуточный продукт – октагидроселеноксантилий (селенопирилий). Этот водорастворимый метаболит тоже обладает антиоксидантными свойствами. При отдаче протона он превращается в гептагидроселеноксантен, разрушающий перекиси нерадикальным способом, а при отдаче электрона – в радикал селенопирана, метаболическую ловушку свободных радикалов. Селенопирилий в этой последовательности реакций, проходящих при наличии в окружающей его молекулу среде достаточного количества других биологических молекул – доноров электронов и протонов (восстановленные НАД, НАДФ, коэнзим Q₁₀ и др.), вполне способен, в силу обратимости этих реакций, вновь трансформироваться до исходной молекулы селенопирана (идет рециклинг молекулы селенопирана).

В процессе своего метаболизма и нейтрализации как перекиси водорода, так и гидроперекисей и свободных радикалов, от селенопирана отщепляется селенит-анион, который по точно установленному механизму восстанавливается в организме до селеноводорода (этот путь в организме претерпевают все без исключения селенсодержащие вещества и минеральной, и органической природы). Сам же селенопиран, являясь прекрасным донором электронов и водорода как в атомарной, так и в протонированной форме, выполняет функцию мощного антиоксиданта и выступает как участник неферментативного звена нейтрализации свободных радикалов.

Таким образом, мы вновь и вновь, с разных сторон возвращаемся к единожды высказанной мысли: селенопиран в живом организме играет множественную роль в антиоксидантно-антирадикальной системе защиты организма, повышая функциональную активность как ферментативного, так и неферментативного ее звеньев.

Что касается судьбы оставшейся ксантеновой структуры (после выхода селена из молекулы селенопирана), то она аналогична превращениям ксантенового кольца. Хорошо известно о том, что более 50-ти лет разнообразные производные тиоксантенов успешно используются в медицинской практике как терапевтические препараты очень широкого спектра действия. А селенопиран, как мы помним, это селеноксантен, и его единственное отличие от тиоксантена заключается в замене в молекуле ксантена атома серы на атом селена. При ферментативном гидролизе в организме ксантены не дают биологически активных метаболитов. Подготовка к их элиминированию из организма осуществляется в микросомальной фракции гепатоцитов, в полиферментной монооксигеназной системе железосодержащего цитохрома Р-

450. Там осуществляется дезалкилирование боковой цепи, если таковая имеется, и конъюгирование с сульфатами или глюкуроновой кислотой. После конъюгации жирорастворимые соединения становятся водорастворимыми, покидают внутриклеточное пространство и выводятся из организма с мочой.

В наличии обратимых стадий реакций на путях метаболических превращений молекулы селенопирана кроется еще один ответ на вопрос о его действительном функционировании как метаболически активного депо селена с выполнением целого ряда других специфических функций. По совокупности перечисленных причин мы имеем основания относить селенопиран к одному из лучших современных жирорастворимых антиоксидантов (включая и витамин E).

Окислительный метаболический стресс

Наша гипотеза повышения неспецифической резистентности

Теоретически в организме существует физиологически гомеостатированный уровень свободно-радикальных процессов и перекисного окисления липидов, необходимый для нормального функционирования как всех внутриклеточных компонентов, так и для регуляции липидного состава, жидкостности и, следовательно, нормальной проницаемости цитоплазматических мембран, без которых немислимо протекание всех биохимических процессов. Такое стационарное состояние определяется тканевым балансом антиоксидантов и прооксидантов. В определенной метаболической ситуации тканевой баланс смещается в сторону прооксидантов. Это состояние биохимии назвали *окислительным стрессом*. Следствием этого состояния непременно будет срыв функционирования защитных систем и развитие окислительного повреждения тканей.

В начальной фазе окислительного стресса вся работа внутриклеточных регуляторных механизмов подчинена задаче нормализации процессов ферментативного и неферментативного перекисного окисления липидов и сопряженных с ними оксидазным и оксигеназным путями окисления кислорода. Одноэлектронный путь окисления кислорода в организме является основным инициатором цепных реакций образования нестабильных, «недоокисленных» продуктов – свободных радикалов. Свободные радикалы (как уже упоминалось) это наши лучшие друзья и наши злейшие враги. Без них немислимо нормальное протекание обмена веществ в любой клетке любого органа. Все беды в организме не от свободных радикалов, а от их избытка.

Именно в связи со сказанным, в основу нашей рабочей гипотезы разработки способов повышения продуктивности и неспецифической резистентности животных заложена попытка целенаправленного воздействия на интенсивность и направленность метаболических потоков путем поддержания оптимального уровня свободнорадикальных процессов и сбалансированности функционирования иммунной, антиоксидантной и монооксигеназной систем организма.

По современным биохимическим воззрениям процесс образования и нейтрализации свободных радикалов правомочно 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 (а может быть и всех) патологических процессов в любой клетке, ткани и органе, безотносительно причин, вызвавших патологию.

В организме всегда отмечается почти строго математическая зависимость между активизацией функционального состояния систем, ответственных за общую неспецифическую резистентность и снижением интенсивности процессов образования свободных радикалов. Столь же выраженная взаимосвязь всегда наличествует между снижением сопротивляемости организма и повышением активности свободнорадикальных процессов.

Именно поэтому в начальной фазе стресса весь настрой метаболизма, определяемый взаимодействием нервной, иммунной и эндокринной систем, направлен на нормализацию процессов липопероксидации.

Система глутатиона – компонент и критерий системы неспецифической резистентности животных

А в одной ли липопероксидации вся суть? Конечно же, нет. В организме все определяется донорно-акцепторными взаимоотношениями. Вот это абсолютная истина. Все решается на элементарном уровне - у кого, где, когда и сколько электронов и протонов будет отнято и кому, где, когда и сколько их будет отдано. Вся регуляция метаболизма определяется неким динамическим балансированием между этими процессами. По словам Альберта Сент-Дьерди это и есть главнейший параметр жизни. Изменение этого баланса в допустимых пределах как раз и используется для регуляции множественных частных функций и общего состояния клетки, а выход за пределы дозволенного, естественно, приводит к патологии и гибели.

Объективная оценка функциональной активности систем, ответственных за неспецифическую резистентность, за адаптационные резервы организма, за состояние антиоксидантной защиты и механизмы неспецифических ответных реакций на любые неблагоприятные воздействия внешней среды, могут быть весьма успешно оценены характеристикой тиол - дисульфидной системы. Тиол-дисульфидное соотношение (ТДС), т.е. отношение сульфгидрильных групп к дисульфидным, служит важным регуляторным параметром и одновременно мобильным реакционноспособным диагностическим тестом оценки неспецифической резистентности организма.

Оно может наиболее информативно характеризовать «буферную емкость» антиоксидантной системы как в норме, так и при патологии. Наше повышенное внимание к этому соотношению и отнесение его к числу важнейших регуляторных параметров организма человека и животных обусловлено тем обстоятельством, что тиоловые соединения (как низко-, так и высокомо-

лекулярные), благодаря своей способности быстро, но обратимо окисляться, оказываются наиболее чувствительными к неблагоприятным воздействиям самой различной природы и интенсивности. При большинстве патологий инфекционной и неинфекционной природы, в том числе и аллергических состояниях, и радиационном поражении, одним словом, в состоянии окислительного стресса любой этиологии, однозначно отмечается снижение содержания SH-групп и повышение концентрации SS-групп.

Существует весьма интересная гипотеза, по которой очень быстрое, легкое и, самое главное, обратимое образование дисульфидных связей является адаптивным механизмом, изобретенным природой для защиты чувствительных мембранных и внутриклеточных структур от необратимого окислительного разрушения. Сульфгидрильная группа – великая жертвенница высших организмов, она приносит на алтарь жизни свой единственный восстановительный эквивалент, свой протон. Сама же быстро и легко гибнет, жертвует собой, спасает от окислительной атаки те молекулы и структуры, которые жизненно важны.

Самым ярким представителем тиол-дисульфидной системы является глутатион. Глутатион представляет собой трипептид со свободной сульфгидрильной группой – гамма-глутамил-цистеинил-глицин. В продуктах гидролиза белков он никогда не обнаруживается, следовательно, глутатион синтезируется организмом в специальной последовательности реакций. Этот трипептид имеет чрезвычайно разнообразные и ответственные биохимические функции. В 1965г был открыт шестичленный энзиматический гамма-глутамилтранспептидазный цикл активного энергозависимого транспорта аминокислот через все мембраны, начиная с кишечной и кончая внутриклеточными. Ключевым метаболитом этого цикла является глутатион.

Многие ферменты в активном центре содержат сульфгидрильную группу – аденозил-S-РНК-синтетазы (ферменты активации аминокислот, без которых немислим протеосинтез), рибонуклеотид-редуктазы и тиоредоксин-редуктазы (ферменты, без которых не идет синтез дезоксирибонуклеотидов и нуклеиновых кислот), гемсинтазы (фермент, необходимый для синтеза гемоглобина) и обширный перечень других ферментов, окисление сульфгидрильной группы в которых влечет потерю ферментативной активности. Многие белки в нативном состоянии содержат в строго упорядоченных и строго определенных местах дисульфидные мостики внутри цепей или между цепями. Эти ковалентные мостики образуются ферментативным путем уже после того, как синтезировался углеродный остов полипептидной цепи. Например, биологически активный инсулин имеет три дисульфидные связи, образование которых осуществляется в результате реакции с окисленным глутатионом.

В эритроцитах нет цикла трикарбоновых кислот. Пентозофосфатный путь – единственный источник НАДФН в этих клетках, поэтому при недостаточности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы образование НАДФН уменьшается. А главная роль восстановленного НАДФ в эритроцитах состоит в восстановлении окисленной формы глутатиона. Реакция катализируется глутатион-редуктазой. Кроме многого прочего, восстановленный глутатион необходим для поддержания нормальной структуры эритроцитов. Клетки с пониженным

содержанием восстановленного глутатиона обладают повышенной чувствительностью к гемолизу.

В силу очень низкого редокspotенциала аскорбиновой кислоты и ее высоких восстановительных способностей многие ученые полагают, что главная биологическая функция витамина С заключается в восстановлении им окисленного глутатиона. Заболевание цингой при дефиците витамина С связано с нарушением синтеза коллагена в связи с инактивацией фермента пролилгидроксилазы, ответственной за его синтез. Пролин синтезируется недогидроксилированным, имеет очень низкую температуру плавления и не в состоянии образовать волокна нормальной структуры и плотности, чем и определяется вся симптоматика цинги. Проллин синтезируется не-догидроксилированным, имеет очень низкую температуру плавления и не в состоянии образовать волокна нормальной структуры и плотности, чем и определяется вся симптоматика цинги. Проллин синтезируется недогидроксилированным, имеет очень низкую температуру плавления и не в состоянии образовать волокна нормальной структуры и плотности, чем и определяется вся симптоматика цинги. Проллин синтезируется недогидроксилированным, имеет очень низкую температуру плавления и не в состоянии образовать волокна нормальной структуры и плотности, чем и определяется вся симптоматика цинги. Проллин синтезируется недогидроксилированным, имеет очень низкую температуру плавления и не в состоянии образовать волокна нормальной структуры и плотности, чем и определяется вся симптоматика цинги.

Восстановленная форма глутатиона служит во внутриклеточном пространстве в качестве главного сульфгидрильного буфера с задачей поддерживать в восстановленном состоянии все SH-группы во всех белках от гемоглобина, сохраняя его в ферроформе, до остальных ферментов, гормонов и цистеина.

При биосинтезе нуклеиновых кислот одним из переносчиков восстановительного потенциала является специфический белок тиоредоксин с М.м. около 12 000 Да. Он содержит 2 цистеиновых остатка, которые окисляются при синтезе дезоксирибонуклеозидфосфатов из рибонуклеозид-фосфатов. Эта реакция катализируется флавопротеином тиоредоксинредуктазой. Источником восстановленных эквивалентов для этой реакции является глутатионредоксиновая система во главе с восстановленным глутатионом и необходима она для синтеза всех четырех дезоксирибонуклеотидов для синтеза ДНК. По химическим свойствам глутатион способен самостоятельно участвовать в процессах детоксикации, реагируя как с перекисью водорода, так и с органическими перекисями. Иными словами, глутатион является в организме важнейшим тиоловым антиоксидантом.

Сказанное далеко не исчерпывает всех функций, но этого вполне достаточно, чтобы признать за глутатионом ключевую роль внутриклеточного метаболита в регуляции обмена веществ в норме и патологии. Он относится к специальной группе тиоловых антиоксидантов, обладает выраженными противоопухолевыми и радиопротекторными свойствами.

Среди тканевых антиоксидантов тиолы занимают особое место, обладая следующими характерными свойствами:

– исключительно высокой реакционной способностью сульфгидрильных групп, благодаря которой тиолы окисляются с феноменально высокой скоростью;

– обратимостью реакции окисления сульфгидрильных групп в дисульфидные, что предполагает возможность наиболее энергетически выгодного поддержания гомеостаза тиоловых антиоксидантов в клетке без активации их биосинтеза;

– способностью проявлять как антирадикальное, так и антиперекисное действие;

– гидрофильностью, которая обуславливает их высокое содержание в водной фазе клетки и возможность защиты от окислительного повреждения биологически важных гидрофильных молекул, в т. ч. гемоглобина. Вместе с тем, присутствие в тиолах неполярных группировок обеспечивает им возможность проявления антиоксидантной активности в липидной фазе клетки.

Причем, главная специфика глутатиона заключается в том, что никакое его скапливание, никакие внутримышечные или внутривенные инъекции абсолютно не помогают. Он очень плохо транспортируется через все мембраны, начиная от кишечной и кончая внутриклеточными. И, таким образом, работает только тот восстановленный глутатион, который образовался непосредственно во внутриклеточном пространстве каждой клетки.

Следовательно, иницируя и поддерживая реакции, ведущие к сохранению восстановленных тиоловых эквивалентов, мы повышаем адаптательность организма и его устойчивость к воздействию комплекса неблагоприятных факторов.

Тяжесть заболевания, периоды его обострения, воздействие неблагоприятных факторов внешней среды, стрессовые ситуации у здоровых людей и животных коррелируют со степенью снижения тиол-дисульфидного отношения. Динамика и величина изменений тиол-дисульфидного отношения являются отражением развития адаптивной реакции и позволяют непосредственно оценить уровень неспецифической резистентности организма. Повышение содержания SH-групп и снижение SS-групп связывают с активным извлечением резерва низкомолекулярных тиолов из печени в ответ на истощение редокс-системы крови и мобилизацией резервов организма на восстановление окисленных тиолов.

В ряде заболеваний выявлено снижение SH / SS-коэффициента, что связано с разбалансированностью окислительно-восстановительного процесса тиолов. Причиной этому является снижение ферментативной активности глутатионредуктазы, дегидрогеназ гликолиза, цикла Кребса, пентозо-фосфатного пути окисления углеводов и β -окисления липидов. Причем, как правило, увеличение активности названных дегидрогеназ не в состоянии обеспечить нормализацию редокс-потенциала тиолов, поскольку лимитирующим ферментом в процессе восстановления окисленной формы глутатиона является глутатионредуктаза. Перед летальным исходом отмечается характерный сбой работы ферментной системы, ответственной за поддержание тиол-дисульфидного гомеостаза.

Можно напомнить и более новую информацию о роли сульфгидрильных групп в связи с широким и ныне очень модным обсуждением в литературе сигнальной и регуляторной роли оксида азота, вообще, и в работе сердечно-сосудистой системы, в частности (Нобелевская премия 1998 года Роберту Фурхготт с коллегами). Интерес к этому вопросу колоссальный, а экспериментальных работ очень мало. До сих пор механизмы наукой не выяснены, но оксид азота может выступать, в зависимости от метаболической ситуации в клетке, и как антиоксидант, и как прооксидант, и как активатор митохондриального тканевого дыхания и сопряженного синтеза макроэргов, и как ингибитор. А связаны эти и множественные другие функции окиси азота, в первую очередь, с ее влиянием на внутриклеточную концентрацию циклического ГМФ, который рассматривается, как это всем известно, в качестве вторичного мессенджера клеточной активности. Гуанилатциклаза – фермент, синтезирующий цикло-ГМФ, работает только при сохранении в ее активном центре восстановленной сульфгидрильной группы, которая, естественно, может быть в восстановленном виде только при высоком уровне восстановленности тиолов за счет глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы. Иными словами, активация окисью азота гуанилатциклазы успешно идет при участии тиолов, вообще, и восстановленного глутатиона, в частности.

Некоторые систематизированные нами факты из массы имеющихся убедительно свидетельствуют о неспецифическом и универсальном характере изменений тиолов при действии на организм любых экстремальных факторов. Любой стресс характеризуется низким содержанием тиоловых групп (и повышением дисульфидов), которые рассматриваются в качестве значимого критерия уровня неспецифической резистентности организма.

В силу высказанного комплекса соображений о центральной регуляторной роли в организме тиол-дисульфидного соотношения, мы сочли аргументированным уделить самое пристальное внимание этому критерию. Тем более, что ранее мы неоднократно подчеркивали, что селенопиран обладает самостоятельной глутатионпероксидазной активностью и глутатионсберегающей функцией. Будучи активным донатором электронов и протонов, селенопиран способен непосредственно восстанавливать окисленный глутатион. Кроме того, тиол-дисульфидное отношение, как нам это представляется, совершенно оправданно и аргументированно может быть отнесено к числу важнейших интегративных регуляторных параметров, способных объективно, информативно и оперативно характеризовать функциональное состояние систем, ответственных за общую неспецифическую резистентность организма.

Окислительный метаболический стресс и теория Селье

Биохимическая правомерность постановки вопроса в данном звучании приобретает более весомую аргументацию при теоретическом рассмотрении интересующих нас процессов в экстремальной метаболической ситуации, каковой можно признать окислительный стресс. Прежде чем приступить к рассмотрению способов повышения неспецифической резистентности и

стрессустойчивости животных возникает необходимость разобраться – как современное биохимическое понятие метаболический окислительный стресс согласуется с физиологическим понятием стресс классической теории Селье, выдвинутой им еще в середине тридцатых годов прошлого столетия.

По нашему мнению, максимального приближения к пониманию особенностей работы как отдельных клеток, органов, тканей, так и организма в целом можно достигнуть, поняв характер специфики и закономерности функционирования организма в условиях стресса. Было бы не лишним с самого начала предупредить, что всякий раз, когда мы произносим слово стресс, по любому поводу или без него, уместно, а чаще совершенно не к месту, осознанно или не очень, хотим мы того или нет, но мы вторгаемся в зону повышенного риска. Это абсолютный чемпион XX века по частоте встречаемости среди биологических терминов и далеко не только на устах ученой публики, а значительно чаще у неимеющей даже отдаленного отношения к науке и к биологии. Коль скоро толк заходит о стрессе, - все чувствуют себя профессионалами, дилетантов в этой проблеме нет. И как это водится в любом сложном вопросе, только в понятии стресс это выразилось в наиболее концентрированном виде, - чем менее мы знаем, тем более категорично мы судим.

«Стресс – это аромат и вкус жизни». Не правда ли, красиво сказано? А вот еще парочка цитат: «Стресс – это великое благо, ибо без стресса наша жизнь была бы похожа на бесцветное прозябание», «Стресс – это главный механизм выживания» и еще одна, абсолютная по категоричности и обреченной недвусмысленности: «Полная свобода от стресса означает смерть».

Все эти выражения и масса других, не менее ярких и образных, принадлежат Гансу Гуго Бруно Селье. Да, это тот самый великий Селье, который не открыл ни одного нового гормона и ни одного фермента, который не описал ни одной новой биохимической реакции, который не создал ни одного нового лекарственного средства. Да, это он, основатель и первый директор единственного в мире института СТРЕССА в Монреале. Сейчас даже невозможно себе представить, что этот термин, введенный Селье в 1936 году, вначале единодушно и полностью отвергался научной общественностью, мало того, он был предметом бесчисленных насмешек. Сколько раз его научно убеждали и просто по-человечески уговаривали бросить эту «бессмысленную и авантюрную затею». А сейчас она признана одним из величайших биологических открытий XX века.

Не можем отказать себе в удовольствии на небольшое медико-лирическое отступление. Мы прогнозируем не угасание, а предстоящий очередной бум популярности слова стресс. Дело в том, что относительно недавно был открыт вирус, коему будто мы и обязаны возникновением стресса. Это давно известное человечеству вирус Эпштейна-Барр. Им обычно заражается около 80 % людей еще в младенческом возрасте. Сейчас же вирус признан ответственным за такой столь распространенный и не только в нашем отечестве недуг, как синдром хронической усталости. Не знаем, найдется ли кто из нас, не испытавший его на себе. Каждый вирус славен изощренностью и изобретательностью в выживании, а этот далеко превзошел своих

собратьев. Дело в том, что он виртуозно освоил технику дезинформировать иммунную систему организма. Дескать, все хорошо, меня вовсе нет или я полностью побежден, оставьте меня в покое. Ему поверили, а он продолжает размножаться и процветать. Но этого мало, он еще овладел искусством как щитом прикрываться своим злейшим врагом – лимфоцитом. Пока организм относительно здоров, он нам и не ахти как страшен. Но вот немного ослабла наша иммунная система, или еще банальнее, мы просто переволновались, перетрудились и он становится окончательно неуправляем, неумно размножается и успешно пробивает брешь в обороне организма. Итог – синдром хронической усталости – стресс.

К счастью, Селье обо всем этом и не догадывался. Тем не менее, согласитесь, в вопросах стресса его авторитет не пошатнулся, он, как и прежде, продолжает оставаться для нас незыблемым и непререкаемым. А теперь, положив руку на сердце, минуту назад Вы были такого же мнения о стрессе? Не стесняйтесь говорить нет. Вы окажетесь в весьма приличной компании. Подавляющее просвещенное большинство, частенько произносящее любимое словечко, тоже не подписалось бы под его фразами. Тогда резонный вопрос. Что же такое стресс и в чем величие Селье?

Создатель учения о стрессе Селье вошел в историю мировой науки прежде всего потому, что первым сформулировал и первым приступил к разработке ответов на вопросы – что такое патология вообще как таковая, безотносительно причин ее вызвавших, и последовавших следствий?; существует ли, и если да, то в чем заключается единая неспецифическая ответная реакция организма на повреждение любого характера? Неустанный и напряженный поиск не каких-то мелких, хотя и исключительно важных и значимых частных, а пристальный интерес к глобальной проблеме «синдрома ответа на повреждение как таковое», привел его к созданию учения о стрессе и общем адаптационном синдроме.

Рассматривая стресс как специфическое состояние биологической системы, включающее весь комплекс строго специфических и неспецифических изменений, Селье заметил, что широчайший спектр самых разнообразных воздействий, включающий инъекции очень многих чужеродных и природных веществ – холод, тепло, радиацию, кровопотери, мышечные и эмоциональные нагрузки и т.д., всегда вызывает в организме неожиданно поразительные по сходству изменения и ответные реакции: увеличение коркового слоя надпочечников с одновременным снижением в них липидов и холестерина, инволюцию иммунокомпетентных органов и тканей и особенно тимус-лимфатического аппарата, эозинопению и изъязвление желудочно-кишечного тракта. Описав динамику основных метаболических изменений в организме и разделив на три последовательные фазы развитие общего адаптационного синдрома – 1 - тревога, 2 - резистентность, 3 - истощение, Селье сформулировал генерализованную эндокринную теорию стресса.

Не следует забывать, что в соответствии с уровнем развития науки своего времени, Селье в начале своей работы был абсолютно уверен, что любое раздражение обязательно должно повышать прежде всего активность гипофиза – тогдашней вершины в иерархической пирамиде всех желез внут-

ренной секреции. Гипофиз резко увеличивает выброс в кровь адренокортикотропного гормона, под влиянием которого из коркового слоя надпочечников секретируется повышенное количество кортикостероидов. Кортикостероиды не столь различны по своему химическому строению, но многообразны по биологическому действию. В совокупности проявляемой биологической активности кортикостероиды представляют собой главные гормоны адаптации, т.е. ведущие факторы, обеспечивающие наиболее важную для жизнедеятельности организма способность приспосабливаться к конкретным условиям существования.

Здесь и возникает вопрос, который нами так и остался не понятым. Дело в том, что еще в 1901 году из экстрактов гипофиза были выделены низкомолекулярные вещества – производные фенилаланина с биологической активностью. Они впоследствии были названы катехоламинами. Уже в 1904 г был получен синтетический адреналин. К началу работы Селье гормоны мозгового слоя надпочечников – катехоламины и главный из них адреналин были прекрасно известны и достаточно хорошо охарактеризованы по биологической функции. Была известна также и причастность катехоламинов к нервной системе, как ее главных медиаторов, функционирующих в нервных синапсах. Открытым остается вопрос, почему через 30 лет после открытия катехоламинов Селье не обратил на них никакого внимания, а главный акцент сделал на кортикостероиды. Значительно позже, в пятидесятых - шестидесятых годах прошлого столетия, была последовательно открыта продуцируемая гипоталамусом серия различных релизинг-факторов, стимулирующих выработку гипофизом тропных гормонов, в том числе и релизинг-фактор тиреотропина. Все релизинг-факторы стали уже относиться к регуляторным пептидам, связывающим нервную и эндокринную системы.

Таким образом, все последующее время, с начала тридцатых годов XX столетия, теория Селье дорабатывалась и совершенствовалась с постепенным перенесением акцента в определении роли главных пусковых механизмов защитных реакций организма с гипофизарно-кортикоидной на гипоталамо-адреналовую систему, т.е. эндокринная теория стресса, по первой версии Селье, переросла в современную нейро-эндокринную теорию. Это, не беря в расчет самую последнюю – вирусную теорию стресса. И, естественно, катехоламины (адреналин, норадреналин) стали рассматриваться как главные регуляторы приспособительных реакций, обеспечивающие быстрое, радикальное и адекватное реагирование организма. Эту роль катехоламины в состоянии играть благодаря их способности к мощному воздействию на обменные процессы: а) инициировать распад гликогена и липидов; б) активировать окисление жирных кислот; в) повышать концентрацию в крови глюкозы, неэстерифицированных жирных кислот, триглицеролов; г) усилить потребление тканями кислорода; д) изменять просвет сосудов и бронхов; е) увеличивать работоспособность сердца и скелетной мускулатуры; ж) способствовать возбуждению центральной нервной системы. Именно за катехоламинами признана сейчас основная связующая функция между нервной, иммунной и эндокринной системами организма через релизинг-факторы гипоталамуса, большую группу регуляторных пептидов, общих для всех трех

главнейших жизненно важных систем и, продолжая гормонами гипофиза, и всех нижележащих гормонсинтезирующих желез и клеток в специфических и неспецифических органах.

В самые последние годы, по мере развития наших знаний о природе регуляции функций организма, у катехоламинов была выяснена еще одна, совершенно новая и очень интересная функция - способность выполнять роль метаболических ловушек свободных радикалов.

По современному варианту классической схемы Селье *в первую фазу общего адаптационного синдрома (срочная адаптация)* уровень общей неспецифической резистентности организма резко возрастает при одновременном столь же резком снижении концентрации свободных радикалов. *Во второй фазе (тревога)* сопротивление организма существенно понижается, а концентрация свободных радикалов увеличивается. *Третья фаза (долговременная адаптация)* характеризуется вновь стабильным ингибированием свободнорадикальных процессов, что в первую очередь обеспечивается высокой способностью перехвата супероксидных радикалов. *В четвертой фазе*, если таковая наступает, идет истощение организма, падение его резистентности, вновь инициируемое, сопровождаемое и направляемое ростом активности свободнорадикальных процессов вплоть до летального исхода. Как видим, четко прослеживается строжайшая синхронность между повышением жизненных сил организма (общей неспецифической резистентностью) и снижением интенсивности процессов образования свободных радикалов и столь же выраженная взаимосвязь между снижением сопротивляемости и повышением активности свободнорадикальных процессов. Одновременная утрата способности к нейтрализации образующихся свободных радикалов связывается, прежде всего, с губительным воздействием свободных радикалов на мембраны клеток. Первым окисляется их липидный слой. Нарушение структуры и функции мембраны естественно сопровождается функциональными нарушениями клеток, причем самых различных органов и тканей. И виной всему – избыточная активизация свободнорадикальных процессов.

Именно в силу высказанных причин свободнорадикальные процессы мы рассматриваем как общий знаменатель, как ведущий унифицированный механизм, лежащий в основе развития патологического состояния как такового. И первопричина пагубного действия свободных радикалов заключается в том, что наряду с другими биологически активными молекулами разрушаются чисто физически и теряют свою каталитическую активность и ферменты антиоксидантно-антирадикальной защиты организма. Организм перестает справляться с нейтрализацией избыточного потока губительно действующих свободных радикалов и активируемых ими процессов перекисного окисления липидов. Нарушается окислительно-восстановительный баланс организма, наступает окислительный стресс. Естественно, в первую очередь страдают клеточные мембраны и прежде всего кровяных, а затем и всех без исключения остальных органов и тканей. Происходит это вследствие перекисидации липидного бислоя фосфолипидов цитоплазматических мембран со снижением их микровязкости (текучести) и сопровождающимися эти изменения нарушениями процессов активного и пассивного трансмембранного пе-

реноса веществ самой различной химической природы как из клетки, так и во внутриклеточное пространство.

Одного этого вполне достаточно, чтобы полностью нарушился обмен веществ в клетке, органе и организме в целом. Однако необходимо всегда помнить, что свободные радикалы абсолютно необходимы для проявления всех жизненных функций организма, они постоянно образуются в естественных метаболических реакциях и служат природными регуляторами межклеточных и межорганных взаимоотношений в регуляции метаболических процессов в организме всех известных видов животных. Проблема заключается не в самих свободных радикалах, а в их количестве. Мы уже знаем, что, как это ни странно, но в серьезной научной периодике совершенно не рассматривается проблема недостаточности свободных радикалов и вреда их дефицита для организма. Вся литература изобилует материалами о губительном влиянии на обмен веществ их избыточного количества. В норме свободные радикалы образуются в оксигеназном одноэлектронном пути окисления кислорода, по которому обычно окисляется около 5 % кислорода.

Ферментная система антиоксидантной защиты

Одним из главнейших компонентов широко разветвленной и глубоко эшелонированной системы антиоксидантно-антирадикальной защиты, стоящей на страже организма от окислительного стресса, по праву считается фермент супероксиддисмутаза (СОД). Назначение фермента состоит в превращении сверхреакционноспособного метаболита кислорода супероксиданиона (в сотни раз более активного, чем молекулярный кислород) в молекулярный кислород и перекись водорода. Обе эти образующиеся молекулы далеко не безобидны для клетки и обладают высокой окислительной активностью. Задача их нейтрализации решается следующими за СОД ферментами – каталазой и пероксидазой. Но главнейшим из них является глутатионпероксидаза (ГПО), которая катализирует реакцию гидролиза перекиси водорода или чаще органических гидроперекисей, сопровождающуюся окислением восстановленного глутатиона.

Селен может находиться в активном центре глутатионпероксидазы 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. Основная активность ГПО приходится на долю цитозоля. Основными субстратами фермента являются органические гидроперекиси. Главное назначение фермента – защита клеточных структур, в первую очередь биомембран, от окислительной атаки. Говоря об этих двух ферментах, следует особо подчеркнуть, что и СОД, и ГПО являются типичными адаптивными ферментами. Их активность может резко возрасти в условиях активизации окислительных стрессовых реакций, что имеет следствием ограничение и ликвидацию очагов интенсивной липопе-

роксидации в клетке. Поскольку оба фермента работают в связке, то совершенно очевидно, что повышение каталитической активности СОД, как правило, влечет за собой индуктивное увеличение активности ГПО и наоборот. Принимая самое непосредственное участие в долговременной регуляции уровня перекисного окисления липидов, эти оба фермента представляют собой важнейшие компоненты антиоксидантно-антирадикальной системы защиты организма.

Эта оценка биологической роли данных ферментов вполне справедлива, несмотря на хорошо известные факты того, что в начальные фазы стресса организм обладает еще достаточными резервными мощностями для вполне успешной борьбы с перекисными процессами и при довольно низкой активности СОД и ГПО. Осуществляется это преимущественно быстрой и, как правило, кратковременной интенсификацией неферментативного пути перехвата и нейтрализации свободных радикалов. В качестве правила, уже завоевавшего права гражданства в биохимии, можно сформулировать – возрастание тотальной (ферментативной и неферментативной) способности организма противостоять свободным радикалам предшествует увеличению собственно ферментативного пути их нейтрализации.

В свете последних достижений биохимии совершенно новую трактовку получил общеизвестный факт экстренного выброса в кровь катехоламинов, как первичной реакции организма на любую стрессовую ситуацию. Эти гормоны давно ассоциировались со срочной ответной реакцией организма в связи с их хорошо известной ролью мощных метаболических регуляторов, которая, как считалось, изучена достаточно глубоко и всесторонне. Совершенно новый аспект деятельности соединений этой группы сейчас связывается с их способностью осуществлять функцию «метаболических ловушек» свободных радикалов. Результатом этой деятельности является первичное уменьшение свободных радикалов, снижение перекисного окисления липидов с соответствующим увеличением количества легкоокисляемых липидов и уменьшением содержания холестерина в мембране. В качестве сопутствующей физиологической ответной реакции довольно резко изменяется скорость органного кровотока и, в первую очередь, микроциркуляции мозга. Вместе с тем, хорошо известно, что даже сам факт резкого снижения или повышения скорости кровотока неотъемлемо влечет за собой новый всплеск образования избытка свободных радикалов.

Казалось бы, имеем налицо совершенно парадоксальную ситуацию – соединения, призванные нейтрализовывать свободнорадикальные реакции, фактически их инициируют. Существуют логические объяснения этой ситуации. В начальную фазу стресса организм еще располагает солидным запасом антиоксидантов и дополнительным выбросом в кровь «ловушек» успешно справляется с ингибированием перекисных процессов. После эффективного начального ингибирования вполне может создаться комплекс условий для активации свободнорадикальных реакций: а) изменение химического состава и липидного бислоя мембран (увеличение относительного содержания легкоокисляемых фосфолипидов и уменьшение доли холестерина), что вызывает заметное снижение устойчивости мембран к пероксидации; б) постепенное

истощение пула эндогенных антиоксидантов; в) повышенное образование радикалов кислорода (известно, что супероксиданион в сотни раз активней молекулярного кислорода); г) быстрое окисление мембранных липидов при избытке свободных радикалов; д) ингибирование продуктами пероксидации активности СОД; е) разрушение компонентов микросомальной монооксигеназной системы утилизации ксенобиотиков – НАДФ-цитохром Р-450-редуктазы, терминального участка пути транспорта электронов – цитохрома Р-450 и цитохром-Р-450-оксидазы, которые, в зависимости от конкретной метаболической ситуации, могут быть одновременно либо факторами нейтрализующими, либо генерирующими перекисные процессы; ж) в результате естественных метаболических превращений катехоламины могут из «ловушек» также превращаться в генераторы свободных радикалов.

Из данного беглого рассмотрения значимости проблем, связанных с антиоксидантно-антирадикальной системой защиты организма, становится совершенно понятен наш акцент на необходимость ее изучения и разработку новых препаратов и способов, обеспечивающих повышение ее функциональной активности, а, следовательно, и неспецифической резистентности.

Многочисленность препаратов селена

Биологическая роль селена и его влияние на организм сельскохозяйственных животных и птицы давно являются предметом пристального внимания ученых. Известно немало способов повышения продуктивности и неспецифической резистентности сельскохозяйственных животных и птицы при применении неорганических соединений селена (в основном селенита натрия) как в качестве ультрамикродобавок к составу основного рациона, так и парэнтерально. Недостатком способов является то, что использование неорганических форм селена в перечисленных способах затруднено из-за опасности передозировки. Препараты чрезвычайно токсичны (LD_{50} – около 7 мг/кг живой массы), а дозировки их введения в рацион очень низки (меньше 1 г/тонну корма). С некоторыми оговорками сказанное справедливо и для селенизированных дрожжей, производство которых налажено уже целым рядом отечественных и зарубежных фирм. Подавляющее большинство органических соединений селена, как, например, селенометионин и селеноцистеин, так же высокотоксичны, и, кроме того, дорогостоящи.

В последние два десятилетия не прекращается самый активный поиск селеносодержащих веществ для использования человеку и животным при введении их в продукты питания или в виде самостоятельной, либо комбинированной пищевой добавки в рационы здоровых и больных людей и животных, либо в виде инъекционных форм в качестве средства, повышающего в организме содержание селена или используемого в качестве профилактического, лечебного, либо корректирующего средства. Наибольшее распространение среди селеносодержащих добавок получили препараты в виде селенита натрия или полученные на его основе. Но селенит натрия высокотоксичное соединение и свободная доступность его использования может привести к непредсказуемым последствиям. Органические соединения селена – селено-

метионин, селеноцистеин, селеномочевина очень дороги, а их токсичность находится на уровне селенита натрия. В последнее время предложен ряд новых селенсодержащих препаратов, приводим только некоторые из них:

1. «Неоселен» – водный раствор селенита натрия;
2. «Биоселен» – селеновая добавка на основе хлебопекарских дрожжей;
3. Автолизат обогащенных селеном пекарских дрожжей;
4. «Селена-вэл» – гидролизат обогащенных селеном пекарских дрожжей с добавлением спирулины;
5. «Спирулина-оргселен» – селенизированная спирулина;
6. «Спирулог» – селенизированная спирулина, витамин С и β-каротин;
7. «Спирулан» – селенизированная спирулина, морская капуста, витамин С, β-каротин;
8. «Спирулина-Сочи-селен» – селенизированная спирулина;
9. «Нутрикон-селен» – отруби ржаные и пшеничные, плоды шиповника, корень лопуха, листья боярышника, семя льна, мята перечная;
10. «Стахисел» – клубеньки стахиса с добавкой солей селена;
11. «Витасил-Se» – на основе хлебопекарных дрожжей с добавками олеиновой кислоты, селенизированного дрожжевого молока и кристаллической целлюлозы;
12. «Аминоселен-100» – органический селен с йодом;
13. «Селенорутин» – комплексный препарат селенита натрия с витамином Р (препараты, одобренные Минздравом РФ);
14. ДАФС-25 – диацетофенилселенид;
15. «Деполен» – эмульсия селенита бария в вазелиновом масле;
16. «Седефиз» – комплексный препарат солей железа, йода и селена (препараты, одобренные Минсельхозпродом);
17. «Селена» – финский препарат, селенизированные дрожжи;
18. «Селплекс» – американский препарат, селенизированные дрожжи.

Все перечисленные и многие другие, оставшиеся неупомянными препараты, в своем составе или имеют селенит натрия, или, в случаях с дрожжами или микроводорослями, получены с добавлением в культуральную среду высоких концентраций селенита натрия при их выращивании. При этом производителями часто замалчивается соотношение в таких препаратах минеральных и органических форм селена. Не указывается обычно и в каком виде находится органический селен. При сравнении отечественного препарата «Биоселен» на основе пекарских дрожжей и финского «Селена» обнаружено содержание минерального селена в обоих препаратах до 10%, а селенометионина – 60-70%. При использовании всех видов обогащенных селеном дрожжей потребитель обычно имеет дело с недостаточно строго идентифицированным продуктом. Обычно в рекламных проспектах производители либо вследствие своей биохимической безграмотности, либо умышленно вводя в заблуждение наивного покупателя, указывают, что селен находится в «наиболее приемлемой, физиологически адекватной для организма форме – органической». Если это обычно рекламируемые автолизаты или гидролизаты дрожжей, то селен, помимо остаточного селенита натрия, должен нахо-

даться 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 обменные процессы 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, а о метаболической судьбе всех селенсодержащих соединений и органической, и минеральной природы мы сейчас поговорим.

Метаболизм селена в организме животных и проблема биологической доступности его различных форм

В 1980 году крупнейший специалист по метаболизму селена американец Роджер Санд из миссурийского университета сделал вывод, впоследствии многократно подтвержденный, что неорганические селенит и селенид лучше метаболизируются и являются более предпочтительными предшественниками селенопротеинов, чем селен из метионина и даже из селеноцистеина. Иными словами самая биодоступная форма селена – это селенит натрия. Объяснение заключается в том, что селен селенитов и селенидов включается не непосредственно в селеноцистеин, а в другую аминокислоту – *серин*, которая собственно и является предшественником селеноцистеина, т.е. организм сам *de novo* синтезирует селеноцистеин, используя углеродный скелет серина и минеральный селен. Сам же селеноцистеин (не говоря уже о селенометионине) не является непосредственным предшественником для синтеза селенсодержащих белков. Вот вам и цена всех разговоров о биологически адекватной органической форме селена. Неорганические селенит натрия (селен в степени окисления +4), селенат натрия (селен в степени окисления +6) и даже селенид (ведь селеноаминокислоты, триметилселеноний - тоже селениды, селен в степени окисления -2) являются действительно наиболее доступными, биологически адекватными предшественниками и формами селена для включения в селенсодержащие белки. Этот факт сейчас общепризнан.

Другой, около 30 лет назад доказанный факт заключается в том, что в растительном мире, включая микроорганизмы, селен находится преимущественно в виде селенометионина, он также может встречаться там и в минеральном виде, и в виде неметаболизируемых органических соединений. Характерный пример *астрагал*, который считается одним из самых хороших аккумуляторов селена из почв. Астрагаловые способны накапливать селена в сотни раз больше, чем его содержится в почве и других растениях, растущих на этих же самых почвах. В свое время рассматривался, но не нашел положительного решения, вопрос о включении растений – концентраторов селена в состав пищевых селеновых добавок. Этот интересный факт был объяснен высоким содержанием в астрагалах органических форм, преимущественно в виде различных *производных селеноцистеина*, которые не являются естественными продуктами метаболизма этой аминокислоты и не включаются в белки.

Однако, никогда в растениях и микроорганизмах не встречается селен в составе селеноцистеина. Также однозначно общеизвестно, что в селенсодержащих белках всех позвоночных встречается только селеноцистеин и полностью отсутствует селенометионин. Но метионин, по тому же Роджеру Санду, может включать селен. Такой селенометионин может быть перепутан метиониновой транспортной РНК и он может вместо метионина включаться в белки, которые не приобретают от этого каких-либо новых свойств, а просто служат его переносчиками до того, как селен будет востребован организмом! Теоретически такая возможность существует, практическая ее значимость минимальна. Селенометионин у высших животных может включаться только в альбумин нековалентно, на основе ван-дер-ваальсовых сил, электростатических и гидрофобных взаимодействий, т.е. без образования истинной химической связи. Пул селенометионина в альбумине оценивается в очень скромные 1-2 % от общего селена в организме. Своей транспортной РНК для селенометионина до сих пор не обнаружено.

Более того, сейчас абсолютно точно доказан и в некоторой степени парадоксальный факт, а именно, - даже потребляемый животными селеноцистеин не имеет метаболических путей включения непосредственно в селенопептиды. Почему этот факт можно отнести к числу парадоксальных? Нам не известен ни один прецедент, подтверждающий видоспецифичность аминокислот. Тем удивительней, почему же селеноцистеин, поступивший в организм с пищей, не включается непосредственно в белки, а обязательно проходит фазу превращения в минеральный селен и только после этого - через серин - в селеноцистеин? В конце 1980-х годов был открыт *UGA*, как триплет, кодирующий селеноцистеин. И на протяжении 10-ти лет доминировало представление о трансляционном механизме включения селеноцистеина в селенопротеины, несмотря на то, что к тому времени уже было известно, что *UGA* - один из трех кодонов - терминаторов элонгации полипептидной цепи. Сейчас допускается, что этот триплет может быть «бессмысленным» кодоном для селеноцистеина. И, одновременно, допускается, что он кодирует включение селеноцистеина в белки по *контрансляционному механизму* (т.е. кодирует и соединение серина со своей специфической транспортной РНК, и кодирует на рибосоме присоединение образовавшегося из серина и минерального селена селеноцистеина в селенопротеины). Как пойдет эволюция наших знаний об этом вопросе, пока трудно прогнозировать.

Таким образом, *первый и обязательный этап* включения всех органических форм селена в селенопротеины состоит в их превращении до единой минеральной формы (селеноводорода). На *втором этапе* включения минерального (и только минерального) селена в белки происходит его активация (фосфорилирование) селенофосфатсинтазой (это селенсодержащий фермент). *Третий шаг* заключается в присоединении серина к своей специфической транспортной нуклеиновой кислоте с образованием соответствующего комплекса - серино-ацил-т-РНК-аденилата. На *четвертом этапе* идет ферментативное присоединение активированного минерального селена к комплексу серин-транспортная РНК. Реакцию катализирует фермент селеноци-

стеинсинтетаза. В результате этой реакции на комплексе серина со своей транспортной РНК образуется селеноцистеин.

Перечисление сведений о метаболических превращениях всех селенсодержащих соединений мы на этом завершаем. В качестве заключения еще раз обращаем внимание на то, что, если мы встречаем в научной литературе выражения типа «биодоступный селен», «физиологически адекватный селен», «легко метаболизируемые, легко усвояемые формы селена» и тому подобное, то мы должны сразу относить все их к научно некорректным выражениям, к устаревшей и совершенно неприемлемой научной терминологии. Специфика метаболизма селена в организме высших животных и заключается в том, что для этого элемента даже теоретически отсутствует наличие более биодоступных или менее биодоступных и органических, и минеральных форм. Естественно, за исключением форм селена, включая органические, входящих в состав совершенно неметаболизируемых соединений (пример с астрагалами). В тканях животных на сегодняшний день известен единственный путь метаболизма, который претерпевают все селенсодержащие соединения и органической, и минеральной природы. Селен, содержащийся и в селените натрия, и в селенате натрия, и в селенометионине, и в селеноцистеине, и в селенопиране обязательно претерпевает в организме всех без исключения высших животных метаболические превращения и, в конечном итоге, превращается в селеноводород, а если биохимически точнее, то в находящийся в организме гидроселенид анион HSe^- .

Селеноводород – высокотоксичное соединение и организм от него избавляется двумя главными метаболическими путями: 1 – *катаболический путь* – идет последовательное ферментативное метилирование до *триметилселенония*, который и является основным нормальным продуктом метаболизма всех селенсодержащих соединений. Очень важно подчеркнуть, что этот путь в организме обратим только на первой стадии метилирования селена, следовательно, при изменении условий селенового питания из этого пути могут начаться процессы включения селена в эндогенные белки. Триметилселеноний выводится из организма через почки с мочой. При избытке селена в рационе он не успевает весь превратиться в триметилселеноний и выводится параллельно с потом и через легкие в виде *диметилселенида*, придавая поту и выдыхаемому воздуху запах чеснока, что обычно служит качественным критерием избытка селена в рационе; 2 – *анаболический путь* – эта же форма минерального селена (селеноводорода) претерпевает последовательные ферментативные превращения, соединяется с углеродным скелетом серина и превращается в селеноцистеин. И только образовавшийся *de novo* (из селеноводорода и серина) селеноцистеин способен включаться в селенсодержащие белки организма высших животных, но не тот селеноцистеин, который поступил в организм будь то оральным, либо парентеральным путями. С научной литературой ситуация в настоящее время довольно ясна и однозначна, хотя отдельные механизмы котрансляционного включения селеноцистеина в белки еще предстоит расшифровать.

Что же касается многочисленных рекламных изданий, то в этом случае, если выражения о какой бы то ни было преимущественности селена

встречаются в коммерческих проспектах (а это, к сожалению, продолжает оставаться основной подачей различных форм селена), то надо четко понимать, что покупатель в данном случае имеет дело с недобросовестной, неадекватно агрессивной рекламой. В равной степени сказанное относится к селенизированным дрожжам, в которых селен (около 75 %) находится в виде селенометионина, а оставшаяся часть в виде недостаточно идентифицированных минеральных соединений.

В научной литературе (как это ни странно) до сих пор все еще продолжает соседствовать громадное количество очень противоречивой информации о наличии или отсутствии преимуществ селеноаминокислот перед минеральными формами селена. В любом потребляемом нами естественном продукте будь то растительного, либо животного происхождения, в разной пропорции для каждого из них, но обязательно присутствуют и органические, и минеральные формы селена. И какая из этих фракций естественного селена предпочтительнее, на настоящем уровне наших знаний вопрос решен. Они действительно довольно близки к равноценности. Повторяем, научная литература по этому вопросу исключительно обширна. Мнения разделились почти поровну. Правда, с некоторой натяжкой можно сказать, что, все-таки, большинство исследователей (далеко не подавляющее) продолжает считать, что селеноаминокислоты более предпочтительны, чем минеральные формы селена. Селен, поступивший в виде аминокислот, медленнее выводится из организма. Вот этот факт почти общепризнан. Но убедительные доказательства более благотворного влияния на продуктивность и здоровье животных органических форм селена перед минеральными до сих пор отсутствуют. Их уже, очевидно, и не будет.

На протяжении полувека животноводы провели массу сравнительных работ. Если кто из ученых и отмечал преимущества селеноаминокислот, то они никогда не были значительными и достоверными. В практике селенового питания животных (как жвачных, так моногастричных и птиц) этот вопрос уже давно перестал быть актуальным и дискуссионным. И совершенно непонятно, почему медицинские работники еще продолжают его муссировать. Единственное объяснение, как нам представляется, заключается исключительно в индивидуальных привязанностях конкретных врачей к конкретным селеносодержащим препаратам.

Может быть завершающим аккордом следует признать серию работ японских исследователей, выполненную на лабораторных животных в 1999 – 2000 годах, из которой с полной определенностью следует, что при дефиците селена в рационе несколько активнее включается селен из селенита натрия, в то время как при высоком общем уровне потребления селена он несколько лучше ассимилируется из дрожжей. Почему так происходит, скромно умалчивается, но различия во всех случаях были не слишком впечатляющими.

Итак, на сегодняшний день доподлинно известно и все в этом едины: основная масса селена в микроорганизмах и растениях находится в виде селенометионина, а столь же подавляющее его количество в животных тканях содержится в селеноцистеине. Вот для человека и получается, если Вы вегетарианец – Вам абсолютно безразлично потребляете ли Вы селен в виде селе-

нита натрия или в виде селенометионина. Если Вы предпочитаете продукты животного происхождения, то потребленный Вами селен будет в виде селеноцистеина, и он точно также будет практически эквивалентен по биологической доступности и селениту натрия, и селенометионину. И травоядным, и плотоядным и всеядным животным формы потребляемого селена то же самое совершенно безразличны.

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

В Саратовском университете получен органический препарат селена ДАФС (диацетофенонил-селенид, но он всего в восемь раз менее токсичней селенита натрия и совершенно не обладает антиоксидантной активностью. Использование его животным для ликвидации дефицита селена или коррекции какой-либо другой функции, регулируемой с помощью вводимого селена, также связано с большим риском.

Селенопиран – новый антиоксидант широкого спектра действия

Во ВНИИФБиП с.-х. животных по разрешению и с помощью создателя селенопирана, талантливого химика, крупнейшего специалиста по селеноорганическим соединениям и замечательного человека, профессора Александра Федоровича Блинохвотова, к сожалению ныне покойного, был воспроизведен синтез нового высокоэффективного, низкотоксичного органического соединения селена – селенопирана (9-фенил-октагидроселеноксантен). Эмпирическая формула – $C_{19}H_{22}Se$. М.м. 329. Устойчивый при хранении порошок, растворимый в жирах.

Анализ антиоксидантных свойств селенопирана in vitro

При испытаниях *in vitro* препарат проявил антиоксидантные свойства, превосходящие таковые традиционно применяемых в ветеринарии и медицине антиоксидантов. Селенопиран по целому ряду критериев не имеет аналогов в мире среди громадного количества селенсодержащих препаратов, обладает рядом уникальных свойств и очень выгодно отличается от всех известных нам органических соединений селена.

По результатам лабораторных исследований установлено, что селенопиран обладает выраженными и весьма специфическими антиоксидантными свойствами. Детальную оценку антиоксидантной активности (АОА) селенопирана проводили *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 разных температурных режимов и различных концентраций селенопирана (СП) на образование перекисных радикалов метилолеата и растительного масла при их принудительном окислении. Окисление метилолеата тормозилось при исследовании 3-х концентраций селенопирана (0,012, 0,063, 0,125 мг/мл метилолеата). Накопление перекисей происходило обратно пропорционально концентрации селенопирана (табл. 1).

Таблица 1. Антиоксидантные свойства селенопирана

Доза СП, мг/мл	Концентрация перекисей, ммоль/г смеси				
	время, часы				
	0	1,5	3	7	9
Контроль	0	0,01	0,02	0,03	0,08
0,012	0,01	0,01	0,01	0,02	0,04
0,063	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03
0,125	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02

При всех исследуемых концентрациях селенопирана наблюдали выраженное дозозависимое торможение окисления метилолеата. Так, даже при минимальной из испытывавшихся концентраций СП - 0,012 мг/мл, количество перекисей спустя 9 часов было почти в 2 раза ниже, чем в контрольном образце. Целью настоящего исследования являлось, кроме того, сравнение АОА селенопирана с некоторыми антиоксидантами, применяемыми в животноводстве и медицине, в частности, агидолом (ионолом) и синтетическим витамином Е.

Концентрации антиоксидантов брали 0,005-0,05%, т.е. близкими к рекомендуемым в пищевой промышленности для замедления окисления жиров.

Таблица 2. Влияние различной температуры на скорость образования перекисей в растительном масле, содержащем 0,01% испытуемых антиоксидантов

а) при температуре 20°C

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

б) при температуре 40°C

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

в) при температуре 80°C

	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
СП	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

(Условные обозначения: К – контроль, СП – селенопиран, И – ионол, Е – витамин Е).

Таблица 3. Влияние разных концентраций селенопирана и ионола на образование перекисных соединений в растительном масле при 60° С

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
СП-0.005%	7	5	4	5	10	15	19	27	33	37
СП-0.05%	7	7	3	5	10	14	17	25	30	38
СП-0.5%	7	4	3	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

Как видно из приведенного цифрового материала, процесс автоокисления растительного масла сильно зависит от температурного режима: если концентрация перекисей 20 мкмоль/г 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 проявил себя в качестве прооксиданта: концентрация перекисей в образце практически на всем протяжении эксперимента превышала таковую у контрольного образца. Ионол при значительном повы-

шении температуры практически утратил свои АО свойства, и лишь селенопиран сохранил антиоксидантную активность. Но при всех испытывавшихся концентрациях антиоксидантов, при всех температурных режимах только в образцах, содержащих селенопиран, в начале опыта наблюдали значительное (иногда более, чем вдвое) уменьшение содержания перекисей по сравнению с исходным их количеством. При испытании достаточно высоких концентраций СП (0,5%) концентрация перекисей, снизившаяся вначале вдвое по сравнению с исходной, к концу опыта практически не превышала фоновую величину, тогда как содержание перекисей в контрольном образце превысило исходный уровень более, чем в 7 раз.

Следовательно, селенопиран, в отличие от традиционно применяемых в медицине и ветеринарии антиоксидантов ионола и витамина Е, не только активно тормозит процесс перекисного окисления липидов, но и обладает совершенно новыми, отсутствующими у них свойствами. Он способен к дозозависимой нейтрализации свободных радикалов при внесении в системы с наличием в них ранее образовавшихся продуктов перекисного окисления липидов.

Завершая обсуждение сопоставительного изучения антиоксидантных свойств различных антиоксидантов в стандартной метилолеатной системе, мы хотели бы еще раз подчеркнуть совершенно уникальное и чрезвычайно важное свойство. Изучение способности ингибировать процесс окисления липидов при температуре 80° С показало, что в этом режиме витамин Е превращается из антиоксиданта в прооксидант и начинает усиливать процесс перекисного окисления липидов. И только селенопиран продолжает сохранять свои антиоксидантные функции.

Высокая электронодонорная способность молекулы селенопирана убедительно подтверждается не только нашими экспериментальными данными по изучению его антиоксидантной активности в жирах и организме сельскохозяйственных и лабораторных животных, но и при непосредственном вольтамперометрическом изучении окисления чистых препаратов селенопирана в ацетонитриле и хлористом метиле. Результаты свидетельствуют, что по величине энергии основного состояния молекулы и ее ионизированной формы, а также по значению первого ионизационного потенциала, электронодонорная активность селенопирана близка к самым мощным донорам протонов в организме, таким соединениям как восстановленные производные никотинамида и хинона. Это дает неопровержимое доказательство для отнесения селенопирана по механизму функционирования к ряду высокоактивных эндогенных антиоксидантов, вступающих в реакции с окислителями за счет первичного донирования собственного электрона. Механизм антиоксидантного действия селенопирана и вне организма (липиды, продукты питания), и в организме заключается именно в способности его молекулы переносить электрон со своей высшей молекулярной орбитали на низшую молекулярную орбиталь активных окислителей, в том числе перекисей водорода и липоперекисей. Благодаря этой способности молекулы селенопирана он и проявляет мощную, многофункциональную защиту организма и является

ся активным антиоксидантом в кормах, продуктах питания и жирах, на длительное время продлевая их качество.

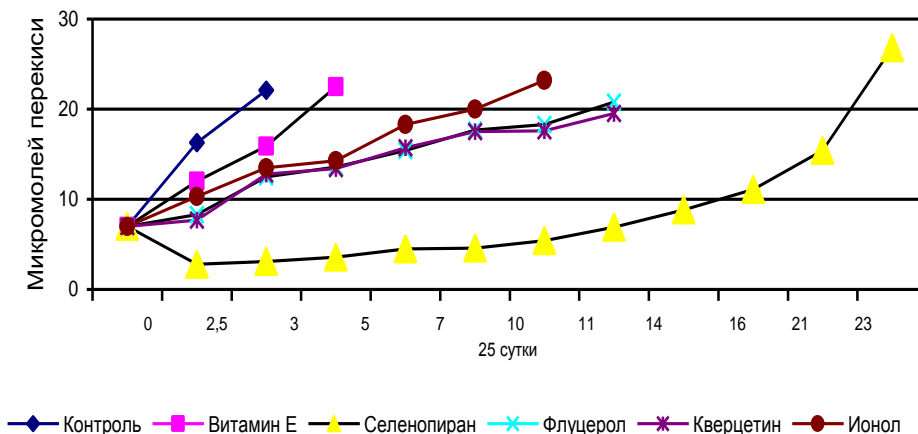


Рис. 1. Сравнительная антиоксидантная активность различных антиоксидантов

В другой серии экспериментов при изучении антиоксидантных свойств пяти антиоксидантов – селенопирана, ионола, кверцетина, флуцерола и витамина E селенопирин также проявил лучшие качества по предотвращению перекисного окисления липидов в метилолеате и растительном масле. Вновь полностью подтвердилась прежняя картина. При всех испытывавшихся концентрациях приведенных антиоксидантов, при всех температурных режимах только в образцах, содержащих селенопирин, в начале опыта наблюдали значительное уменьшение содержания перекисей по сравнению с исходным их количеством. Таким образом, только селенопирин был единственным, в отличие от всех испытанных антиоксидантов, способным выполнять функцию метаболической ловушки. Он нейтрализовал перекисные соединения, присутствовавшие в системе до начала эксперимента и, тем самым, способен не только предотвращать преждевременную порчу жиров, но и улучшать их качество.

Это же уникальное качество селенопирана более красноречиво подтверждается и на графике при его сопоставлении с кверцетином и флуцеролом. Оба эти вещества относятся к классу биофлавоноидов. Оба эти вещества исключительно широко используются в качестве антиоксидантов в многочисленных пищевых и биологически активных добавках для людей. Оба вещества рекламируются как лучшие антиоксиданты и мы видим как существенно они уступают селенопирану. В животноводстве эти препараты не используются по экономическим соображениям, хотя в настоящее время в России уже налажен их полупромышленный синтез и их можно приобрести по вполне приемлемым ценам.

Результаты опытов на различных видах и половозрастных группах сельскохозяйственных животных и птице

Наша целенаправленная ориентация на антиоксиданты как на одно из главнейших средств повышения неспецифической резистентности животных совершенно отчетливо прослеживается из всего сказанного ранее и она, по нашему мнению, не нуждается в привлечении дополнительной аргументации.

Мы полагаем, что руководствуясь концепцией о функциональной взаимосвязи иммунной, нервной, эндокринной и антиоксидантно-антирадикальной систем, возможно вести плодотворный научный поиск и практическую разработку новых комплексных биологически активных добавок, включающих антиоксиданты, а на их основе разрабатывать новые и совершенствовать старые приемы эффективного влияния на обмен веществ, а следовательно, на состояние здоровья, продление жизни и продуктивного долголетия животных. Именно осуществление идеи повышения неспецифической резистентности, а следовательно, качества жизни и продуктивного долголетия является одновременно и исходной посылкой, и магистральным направлением дальнейшего совершенствования разрабатываемых элементов рационализации технологий ведения различных отраслей животноводства.

В большинстве своих экспериментов, с использованием селенопирана в строгом соответствии с изложенными представлениями о критериях оценки резистентности, мы изучали активность двух разновидностей неспецифической глутатионпероксидазы (ГПО) – ведущих ферментов антиоксидантной системы защиты организма: – ГПО-1 - КФ 1.11.1.9 и ГПО-2 – КФ 2.5.1.18. Первоначально считалось, что существует селензависимая и селеннезависимая глутатионпероксидазы. Однако сейчас выяснено, что селеннезависимая (не содержащая селен) глутатионпероксидаза представляет собой глутатионтрансферазу – другую группу ферментов с широкой субстратной специфичностью. Именно с открытием ГПО и выяснением ее биологической функции связан значительный прогресс в понимании роли селена в организме. ГПО – одно из 30 селенсодержащих биологически активных веществ. Одна грамм-молекула фермента включает 4 грамм-атома селена. Различные авторы считают, что от 30 до 60 % селена, содержащегося в организме, находится в ГПО. В любом случае ГПО является главным депо селена в организме, затем идут протеин Р (от 10 до 30 %), протеин W (от 2 до 10 %), а потом уже все остальные селенсодержащие протеины, включая йодотирониндейодиназы, тиоредоксинредуктазу и др., которых насчитывается уже более 30. Активность ГПО в крови и тканях всегда считалась надежным биохимическим тестом на функциональное состояние антиоксидантной системы и индикатором содержания селена в рационе. Однако, если животные находятся на достаточном или повышенном уровне селенового питания, то активность фермента выходит на плато и дополнительное введение в рацион селена не вызывает повышения активности ГПО.

Каждая из четырех известных типов глутатионпероксидаз содержит на молекулу по четыре остатка Se-цистеина и различаются они по внутриклеточной, органной и видовой специфичности. Все четыре фермента экспрес-

сируются различными генами и все иммунологически различны. Три из них – внутриклеточные (цитоплазматические, мембраносвязанные) и одна – внеклеточная (плазматическая). Единственная внеклеточная ГПО состоит из 4 субъединиц с М.м. 24 кДа и отличается функционально, иммунологически и структурно от остальных глутатионпероксидаз. Основные ткани, имеющие внеклеточную ГПО – почки, плацента, бронхи, легкие. Эти органы находятся под наибольшим влиянием окислительного стресса и нуждаются в дополнительной защите от пероксидов и кислородных радикалов. ГПО – мощные антиоксидантные ферменты, участвующие, кроме того, и в других функциях: регулирование биосинтеза простагландинов, простациклинов, лейкотриенов и тромбоксанов. В реакциях нейтрализации глутатионпероксидазой одной молекулы перекисей окисляется две молекулы глутатиона.

Главное назначение фермента – защита молекул и клеточных структур, в том числе и биомембран, от окислительной атаки. Семейство ГПО представлено типичными адаптивными ферментами. Их активность может резко возрасти в условиях активизации окислительных стрессовых реакций, что необходимо для ликвидации очагов интенсивной липопероксидации в клетке. Принимая самое непосредственное участие в долговременной регуляции уровня перекисного окисления липидов, фермент представляет собой важнейший компонент антиоксидантно-антирадикальной системы защиты организма.

Даже при достаточном селеновом питании организм не в состоянии полностью застраховать себя от стрессовых ситуаций самой разной этиологии. А любой стресс, как мы уже твердо знаем, сопровождается резким выбросом свободных радикалов и развитием метаболического окислительного стресса, с которым далеко не всегда способны справиться совместными действиями ферментативное и неферментативное звенья антиоксидантной системы защиты организма. В такой метаболической ситуации селенопирин будет очень полезен, поскольку его молекула обладает глутатионсберегающей способностью, передавая протон и электрон окисленному глутатиону и восстанавливая его.

Коль скоро одна молекула глутатионпероксидазы в активном центре содержит 4 атома селена, без которых фермент не обладает каталитической активностью, полученная нами информация весьма интересна в плане выяснения зависимости величины активности фермента, как одного из главных индикаторов обеспеченности селеном организма, от концентрации селена в крови животных.

К сожалению, в своих экспериментах нам ни разу не удалось проконтролировать активность другого класса селенсодержащих ферментов. Эти ферменты также необходимы для нормальной жизнедеятельности каждой животной клетки. Семейство из трех других селенсодержащих ферментов относится к йодотирониндейодиназам. Ферменты катализируют реакцию превращения $T4 \rightarrow T3$ и $T3 \rightarrow T2$. Тироксин ($T4$) – основной гормональный продукт щитовидной железы ($T4$ – тироксин) биологически неактивен, но его 5*монодеиодирование дает активный метаболит – трийодтиронин ($T3$). Трийодтиронин в 4-5 раз активнее тироксина. 90-92% биологического дейст-

вия тиреоидных гормонов на периферии осуществляется Т3. Полагают, что эти три дейодиназы работают совместно и вместе с другими компонентами тиреоидной системы регуляции, обеспечивая тканеспецифичные уровни гормонов щитовидной железы. Экспериментальные данные показывают, что селенодефицитные крысы и жвачные животные имеют пониженные уровни Т3 и повышенные – Т4. Однако, мозг и некоторые эндокринные органы сохраняют достаточное количество селена, что является механизмом уменьшения действия селенонедостаточности на метаболизм, в частности, тироидных гормонов.

Щитовидная железа содержит значительно больше селена (в составе ферментов), чем остальные органы и ткани. Она имеет самое высокое содержание селена на грамм ткани по сравнению с другими органами. О важном значении селена для нее можно сделать вывод при сравнении концентраций этого микроэлемента: в норме щитовидная железа содержит 0.7 ± 0.11 мкг/г, а такой метаболически активный орган как печень содержит селена в два раза меньше. Специфика функционирования щитовидной железы заключается в том, что тироциты испытывают мощную оксидантную нагрузку вследствие повышенного содержания перекиси водорода и нуждаются в надежной антиоксидантной защите. После стадии активного транспорта через мембраны апикальной части тироцитов, анионы йода должны окислиться до активного молекулярного состояния. Реакция идет в присутствии перекиси водорода и катализируется ферментом тиропероксидазой. Тиреотропный гормон (ТТГ), помимо стимуляции транспорта ионов йода через клеточную мембрану, стимулирует и образование перекиси водорода в реакции, осуществляемой оксидазой с участием НАДФН и Ca^{++} .

Дейодиназы у разных животных изучались в нескольких работах. В частности у крупного рогатого скота в норме показана очень низкая активность, которая может быть увеличена почти в 40 раз при дефиците йода; при этом подчеркивается необходимость селена для селективного поступления йода в щитовидную железу, чтобы поддержать метаболизм тироидных гормонов.

Кроме того, тироциты содержат и тиоредоксинредуктазу, еще один селенсодержащий фермент, необходимый для синтеза дезоксирибонуклеотидов, потенциальный регулятор оксидантного статуса, способный защитить клетку от опасного воздействия продуктов метаболизма окислителей, возникающих при синтезе гормонов щитовидной железы. Активность этого фермента нами, к сожалению, также не была определена в зависимости от концентрации селена в рационе. Он оказывает и на фоне достаточного по селену питания весьма благоприятное действие по поддержанию и усилению защитных сил организма и его общей неспецифической резистентности.

Эксперименты на цыплятах-бройлерах

Состояние антиоксидантно-антирадикальной системы цыплят оценивали, наряду с другими показателями, по активности основных ферментов антирадикальной защиты – глутатионпероксидазы (ГПО) и супероксиддис-

мутазы (СОД). В микросомальной фракции печени оценивали функциональную активность монооксигеназной системы путем дифференцированного определения количества и каталитической активности основного фермента системы цитохрома Р-450. Для получения дополнительных, более весомых доказательств антиоксидантных свойств селенопирана был проведен специальный модельный эксперимент на цыплятах-бройлерах. Было сформировано три группы цыплят-бройлеров по 100 голов в каждой. Цыплятам намеренно скармливали предварительно высокоокисленный жир (концентрация гидроперекисей 0.265 мМ/г жира – 1-я опытная группа), жир, окисленный в присутствии селенопирана (2-я опытная группа) и нормальный жир (контрольная группа). Жир окисляли при температуре 60°С с постоянной принудительной аэрацией в течение 10 суток. Для ускорения процесса окисления в жир вносили 33%-ю перекись водорода в соотношении 300:1. Для цыплят 2-й опытной группы жир окисляли в присутствии селенопирана (10 мг/кг жира). На 100 кг комбикорма вносили по 3 кг нативного, окисленного или окисленного в присутствии селенопирана жира. Цыплят кормили в соответствии с рекомендуемыми нормами. В 14-, 28- и 49- суточном возрасте проводили взвешивание и убой для взятия образцов крови и тканей на биохимические исследования.

Влияние специально 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.3). Живая масса цыплят 1-й опытной группы в конце опыта была на 9% ниже, чем в контроле, а во 2-й опытной группе она даже превышала контрольную на 1 %. В контрольной и 2-й опытной группах падеж цыплят отсутствовал, в то время как в 1-й опытной группе пало 7% цыплят.

Изменения биохимических показателей подтвердили данные лабораторных испытаний антиоксидантных свойств селенопирана о том, что данный препарат, предварительно внесенный в жир перед началом его окисления, тормозит образование продуктов перекисного окисления липидов, которые отрицательно сказываются на метаболических процессах. Поступив в организм с окислявшимся жиром, селенопиран способствовал активации ферментов СОД и ГПО. Каталитическая активность СОД в группе цыплят с селенопираном была значительно выше в 14- и 28-суточном возрасте, чем в группах без него. В 49-суточном возрасте в группе без селенопирана активность фермента снижалась, но оставалась 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 и Т-лимфоцитов между группами значимых и достоверных отличий выявлено не было.

Таким образом, модельным опытом *in vivo* были подтверждены результаты опытов *in vitro* о том, что селенопиран обладает антиоксидантными свойствами в организме, повышая функциональную активность системы антиоксидантно-антирадикальной защиты организма цыплят.

Для выявления оптимальных доз селенопирана был проведен отдельный опыт на цыплятах-бройлерах. На опыт было поставлено 4 группы цыплят по 100 голов в каждой. Опыт проведен в течение всего производственного цикла – 49 суток. Все группы получали полноценный полнорационный комбикорм в соответствии с нормами кормления. 1-я опытная группа получала селенопиран из расчета 0,1 мг селена на 1 кг комбикорма, 2-я группа – 0,2 мг и 3-я – 0,3 мг. Селенопиран вводили в комбикорм в виде масляного раствора. Контрольная группа получала равное количество растительного масла без селенопирана.

Взвешивание и убой цыплят проводили в возрасте 14, 28 и 49 суток. Как и в предыдущем эксперименте, в крови анализировали активность СОД и 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 3-й опытной группы была на 8% выше, чем в контроле. Биохимические показатели представлены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4. 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 – мкМоль восстановленного глутатиона/мин/г белка; активность СОД – условн. Ед./г белка.

Таблица 3. Биохимические показатели крови цыплят

Показатели	Опытные группы цыплят								
	Контрольная группа			1-я (с окисленным жиром)			2-я (окисленный жир + селенопиран)		
	Возраст цыплят, сутки								
	14	28	49	14	28	49	14	28	49
Активность СОД	8.3 ± 2.00	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 ± 1.00	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 – мкМоль восстановленного глутатиона/мин/г белка; активность СОД – условн. Ед./г белка

Таблица 5. Характеристика монооксигеназной системы цыплят

Группы	Цитохром P-450					
	Содержание в микросомах печени			Гидроксилирующая 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 P-450 – нМоль/мг микросомального белка, гидроксилирующая активность – нМоль формальдегида/мин.

Результаты опыта показали, что применение селенопирана повысило активность антиоксидантно-антирадикальной 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 селенопирана на кг комбикорма, что в пересчете на содержание селена составляет 0,3 мг. Если в 1-й и 2-й опытных группах в 14- и 49-суточном возрасте не было отмечено индукции синтеза ферментного белка цитохрома P-450, то гидроксилирующая активность его была выше, чем у цыплят контрольной группы. В остальных случаях как количество цитохрома P-450, так и активность монооксигеназной системы были выше у цыплят опытных групп (особенно в 3-й). Сохранность поголовья во всех опытных группах была 100%, а в контрольной группе – 94%.

Профилактика нарушений репродуктивной системы коров введением пролонгированной формы селенопирана

Как уже говорилось ранее, связь селена с возникновением нарушений воспроизводительной функции животных и заболеваемостью маститами отмечена достаточно давно и этой проблематике посвящено значительное количество исследований. При недостатке селена в рационе у животных возникают изменения, напоминающие авитаминоз E: задержка роста, нарушения воспроизводительной функции, снижение либидо, нарушение оварийного 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.

В связи со сказанным мы решили выяснить влияние разработанной нами пролонгированной формы селенопирана на воспроизводительную функцию коров. Опыт проведен в АОЗТ «Зеленоградский» Московской области.

Под опытом было 4 группы коров чернопестрой породы, по 15 голов в группе. Все животные находились в сухостойном периоде после завершения второй лактации с продуктивностью 4000 кг молока. За 15 дней до предполагаемого отела коровам однократно ввели подкожно селенопиран 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, оплодотворяемость от первичного осеменения, индекс осеменения.

Таблица 6. Влияние инъекций пролонгированной формы селенопирана на воспроизводительную функцию коров

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

Как явствует из цифрового материала, представленного в таблице 6, прослеживается четкий дозозависимый эффект влияния селенопирана на все изучавшиеся показатели. Если в контрольной группе у 26,3% коров отмечалось задержание последа, то при минимальной из испытывавшихся доз селенопирана – 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 селенопирана проявилось и на количестве коров, заболевших послеродовыми эндометритами (этот показатель снизился почти в два раза), и на продолжительности сервис-периода, которая сократилась на 20 дней, и на величине оплодотворяемости коров после первичного осеменения, возросшей на 27%, и на количестве

осеменений коров, потребовавшихся для достижения стельности (индекс осеменения снизился с 2,1 до 1,6, т.е. на 24%).

Если принять во внимание, что селенопиран не рассматривается нами как специфический препарат, предназначенный для профилактики и лечения самых различных аномалий воспроизводительной системы животных, то полученные положительные результаты следует квалифицировать как исключительно интересные, а работа в этом направлении, безусловно, заслуживает дальнейшего серьезного продолжения.

Эксперимент на телятах

В эксперименте, проведенном в колхозе «Алешинский» Калужской области изучалось использование селенопирана 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 селенопирана 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 в такой обстановке конечно невелик – 302 г, а в контрольной группе – 270 г. Но разница составила 12%.

В итоге проведенного эксперимента подтвержден значительный профилактический эффект селенопирана, его способность существенно снижать восприимчивость животных к заболеваниям и повышать результативность традиционной терапии.

Влияние селенопирана на функциональное состояние иммунной системы, неспецифическую резистентность, продуктивность и качество мяса у откармливаемых бычков

Опыт проведен в условиях вивария института на двух группах откармливаемых бычков холмогорской породы, по 9 голов в группе. Содержание животных привязное, кормление индивидуальное в соответствии с нормами РАСХН для получения привесов 1 кг. Бычкам опытной группы ежедневно скармливали по 9 мг селенопирана. Продолжительность опыта – 3 месяца. Взвешивание животных проводили ежемесячно. В качестве критериев иммунологического состояния организма использовали определение концентрации иммуноглобулинов классов G и M, активность лизоцима, β -лизинов и общую бактерицидную активность. По завершении опыта проводили кон-

трольный убой животных с обвалкой туши и анализом химического состава мяса.

Животные опытной группы имели в сыворотке крови выше общую бактерицидную активность, а также концентрацию иммуноглобулинов классов G и M, что, как мы полагаем, оказалось достаточным для поддержания иммунологического статуса организма на более высоком уровне, чем у контрольных животных. Опыт проведен на хорошем зоотехническом фоне (среднесуточный прирост живой массы в контрольной группе составил 989 г). Поскольку бычки были уже практически взрослыми, здоровыми и находились в благоприятных условиях кормления и содержания, мы не ожидали получить выраженные преимущества животных опытной группы перед контрольными. Тем не менее, к нашему удивлению, в описанных условиях, которые нельзя считать оптимальными для проявления эффекта селенопирана, его скармливание повлекло повышение привесов на 6%. При снятии с откорма контрольные животные весили 344 кг, а опытные – 358. Использование селенопирана не только повысило функциональную активность иммунной системы и интенсивность роста бычков, но и улучшило убойные качества. Масса туши контрольных животных составила 177 кг, а опытных – 181 кг с одновременным увеличением массы мяса в туше на 4%, повышением содержания азота в длиннейшей мышце спины на 2,8% и жира с 3,85 кг до 5,62 кг, т.е. на 46%.

Таблица 7. Показатели, характеризующие состояние иммунной системы бычков

Группы	Взятие крови (по месяцам опыта в возрасте)			
	12 мес	13 мес	14 мес	15 мес
	Общая бактерицидная активность (%)			
Контрольная	40.6±1.6	0.2±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 M (мг/мл)			
Контрольная	3.8±0.1	3.7±0.1	3.7±0.1	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 β-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

Таблица 8. Показатели интенсивности роста бычков

Группы	Возраст животных			
	13 мес	14 мес	15 мес	За опыт
<i>Контрольная</i>				
Живая масса, кг	284.3	314.3	344.7	
Абсолютный прирост живой массы, кг	-	30	30.3	60.4
Среднесуточный прирост живой массы, г		1000	979	989
<i>Опытная</i>				
Живая масса, кг	249.0	326.0	358.0	
Абсолютный прирост живой массы, кг	-	32	32	64
% к контролю		106.7	105.3	106.0
Среднесуточный прирост живой массы, г		1066	1032	1049
% к контролю		106.7	105.4	106.1

Таблица 9. Результаты контрольного убоя и обвалки туши

Показатели	Группы		% к контролю
	контрольная	опытная	
Живая масса, кг	343	359.5	104.8
Масса туши, % кг	176.9	181.0	102.3
Убойный выход туши, %	49.6	49.5	-
Масса мяса:			
кг	128.1	133.2	104.0
%	72.5	73.6	-
Масса костей:			
кг	48.8	47.8	98.0
%	27.6	26.4	-
Масса внутреннего жира, кг	6.9	6.8	98.6
Площадь мышечного глазка	70.4	75.0	105.6
% мяса (9-11 ребро)	71.1	75.5	106.2

Таблица 10. Состав длиннейшей мышцы спины, %

Группы	Сухое вещество	Азот	Сырой жир	Сырая зола
Контрольная	25.00	3.17	3.85	4.89
Опытная	25.52	3.26	5.62	4.68
% к контролю	102.1	102.8	146.0	95.7

Эксперимент на ягнятах

В АО «Пригородное» Пензенской области был проведен опыт на ягнятах, отнятых от матерей в трехмесячном возрасте. Животные были разбиты на три аналогичные группы по 30 голов в каждой и получали сбалансированный рацион. 1-я группа – контрольная, 2-я – контрольный рацион + селенопиран, 3-я – контрольный рацион + селенит натрия. Оба препарата животные опытных групп получали из расчета на элементарный селен по 0,1 мг/кг живой массы. Продолжительность эксперимента – 65 дней. Через сутки, семь, восемнадцать и двадцать восемь суток после отъема 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 селенопирана и селенита натрия. Величины показателей, характеризующих неспецифическую резистентность и антиоксидантную активность организма ягнят, находились в пределах физиологической нормы с тенденцией (математически недостоверно) к более высокой функциональной активности у обеих опытных групп. Отсутствие четких различий между группами мы объясняем вполне достаточным исходным уровнем селена в крови животных, находившихся на стандартном рационе. Продуктивность животных опытных групп была на 6% выше, чем в контрольной группе. Концентрация селена в крови подопытных ягнят представлена в таблице 11. Примечательно, что концентрация селена в крови существенно повысилась во всех трех группах через неделю после отъема, затем она начала довольно резко снижаться в контрольной группе, опустившись через 28 суток на 25 % ниже исходного уровня. В опытных группах первичная ответная реакция на отъем от матерей, который, несомненно, следует отнести к числу сильнейших стресс-факторов, была сходной по направленности, но на несколько более высоком количественном уровне.

Таблица 11. Содержание селена в крови подопытных ягнят, мкг/литр

Сутки после отъема	Контроль	Селенопиран	Селенит натрия
1	115.4±8.4	119.5±6.3	116.1±7.7
7	133.0±2.0	160.1±8.1	154.9±6.0
18	97.7±7.1	135.0±7.3	144.8±3.3
28	87.7±5.4	129.5±9.9	126.3±9.1

Затем также наблюдалось последовательное снижение, но концентрация селена сохранялась на уровне, превышающем исходный. Следует также добавить, что даже самая низкая концентрация селена в крови, отмеченная в контрольной группе через 28 дней после отъема (87,7 мкг/л), не может трактоваться как патологическая. В настоящее время считается общепризнанной

точка зрения о том, что клинические проявления селенодефицитного состояния животных начинаются при содержании селена в крови ниже 50 мкг/литр.

Таким образом, в данном конкретном эксперименте нами не было зафиксировано характерно яркой ответной реакции организма ягнят. Это вполне логично объясняется отсутствием селеновой недостаточности в рационе овцематок и их потомства. И, тем не менее, факт закономерного снижения концентрации селена в крови животных контрольной группы до уровня, граничащего с селенодефицитным состоянием, даже на этом благополучном по селену фоне заставляет насторожиться и подтвердить целесообразность добавок селеновых препаратов.

Опыт на супоросных и лактирующих свиноматках и поросятах (Сравнение селенопирана с селенитом натрия)

Опыт проведен на трех группах свиноматок по 5 голов в каждой и на трех группах поросят по 50 голов, в условиях вивария ВНИИФБиП с.-х. животных. 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 1-й опытной группы в составе премикса дополнительно получали минеральную форму селена в виде селенита натрия из расчета 0,2 мг селена/кг корма. Свиноматкам 2-й опытной группы дважды инъецировали подкожно разработанную нами пролонгированную форму селенопирана. Первая инъекция в количестве 280 мг селенопирана осуществлена в момент постановки животных на опыт (первый день супоросности), вторая инъекция – 135 мг селенопирана за 10 суток до опороса. Общее количество в расчете на селен животные обеих опытных групп получили одинаково.

Поросятам всех трех групп, соответственно полученных от трех групп свиноматок, с двухнедельного возраста скармливали престартерный комбикорм без добавок селена (в 1 кг комбикорма содержалось 190 г сырого протеина и 13,1 МДж обменной энергии). Поросятам 3-й группы однократно в суточном возрасте ввели по 14 мг селенопирана в составе той же пролонгированной формы. Длительность опыта на поросятах – один месяц, затем был проведен убой поросят. 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 неспецифическую резистентность.

В результате проведенного опыта было выяснено, что специфическая активность супероксиддисмутазы крови существенно зависела от обеспеченности организма животных селеном (табл. 12). 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 селенопирана 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 селенопирана в сравнении с селенитом натрия. Так, содержание малонового диальдегида у новорожденных и месячных поросят 3-й группы снизилось на 47 и 36%, а у животных 2-й группы – на 21 и 14% в сравнении с 1-й группой.

Таблица 12. Активность основных ферментов антирадикальной защиты и концентрация малонового диальдегида в крови свиноматок и поросят

Физиологическое состояние	Группы		
	1	2	3
<i>Супероксиддисмутаза (СОД) цельной крови, усл.ед./мл крови</i>			
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-суточные	1.59±0.20	2.70±0.31*	1.86±0.12
<i>Глутатионпероксидаза (ГПО) эритроцитов, мкмоль/мин/г гемоглобина</i>			
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-суточные	84±3.6	100±14	129±11*
<i>Малоновый диальдегид (МДА) сыворотки крови, нмоль/л</i>			
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-суточные	8.19±0.47	7.06±0.31	5.21±0.72*

* – P<0,05 по сравнению с 1 группой

Оба препарата селена не оказали достоверного положительного влияния на многоплодность свиноматок, однако мертворожденных поросят в 1-й группе было 3, а во 2-й и 3-й таковые отсутствовали (табл.12). Добавки селенита натрия способствовали достоверному повышению крупноплодности. Сохранность поросят контрольной группы за подсосный период составила 75,9%, во 2-й и 3-й группах соответственно 84,6 и 85,7%. Добавки селенита

натрия в корм супоросным и подсосным свиноматкам и особенно инъекции селенопирана оказали достоверное стимулирующее влияние на интенсивность роста поросят в подсосный период. Прирост живой массы поросят второй и третьей групп был выше на 2,7 и 16% в сравнении с первой группой.

Таблица 13. Репродуктивная функция свиноматок и рост поросят

Показатели	Группы		
	1	2	3
Количество свиноматок	5	5	5
Количество поросят, гол.:			
При рождении	54	52	49
в т.ч. мертворожденные	3	-	-
Задавлено матками	5	4	3
Пало	1	-	-
Убито на анализ	4	4	4
Отнято от маток 28 суток	41	44	42
Многоплодность	10.8	10.4	9.8
Живая масса поросят, кг:			
при рождении	1.24±0.01	1.38±0.02*	1.20±0.02
при отъеме в 28 суток	5.58±0.07	5.84±0.08*	6.2±0.08*
Масса гнезда при отъеме, кг	45.8	51.4	52.4
Прирост живой массы поросят за подсосный период:			
г/сут	155±2.2	159±2.5	180±3.1*
кг	4.34	4.46	5.04
Сохранность поросят за подсосный период, %	75.9	84.6	85.7

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

Опыт проведен УОХ "Кокино" Выгоничского района Брянской области на 2 группах супоросных свиноматок крупной белой породы по второму опоросу (по 7 голов в группе) и на их потомстве. Супоросным свиноматкам за 3 недели до опороса парентерально введена пролонгированная форма селенопирана (по 200 мг действующего начала). Контрольная группа свиноматок находилась на основном рационе без инъекций селенопирана.

Через десять дней после рождения подсосные поросята от обеих групп свиноматок в каждом помете были разделены на две группы по 17 голов в каждой. Первой половине поросят от контрольной группы свиноматок селенопиран не вводился (первая группа поросят, контрольная). Второй половине поросят от контрольной группы свиноматок в 10-ти дневном возрасте однократно инъецировано по 20 мг селенопирана в составе пролонгированной формы (вторая группа поросят, опытная). Одной половине поросят от опытной группы свиноматок селенопиран не вводился (третья группа поросят, опытная). Второй половине поросят от опытной группы свиноматок также в возрасте 10 дней было введено по 20 мг селенопирана (четвертая группа поросят, опытная).

В возрасте 45 дней во время отъема поросят у всех животных взята кровь для гематологических и биохимических анализов показателей, харак-

теризующих функциональное состояние систем антиоксидантно-антирадикальной защиты и неспецифической резистентности организма.

Поскольку глутатион рассматривается нами как один из первейших лимитирующих факторов, дефицит которого является главнейшим критерием и следствием наступающего окислительного метаболического стресса, проведена серия специальных аналитических приемов, способных отразить окислительно-восстановительный статус внутриклеточного и внеклеточного пространств в крови подопытных животных. Для этой цели определена активность глутатионпероксидаз (ГПО), причем анализ активности этого сложного комплекса ферментов проведен дифференцированно. Отдельно анализировались как ГПО первого типа (селензависимый фермент, разрушающий преимущественно неорганические перекиси и в меньшей степени способный вести катализ гидролиза органических перекисей), так и ГПО второго типа (селеннезависимая ГПО, преимущественно ориентированная на гидролиз органических гидроперекисей и липоперекисей, а неорганические перекиси для этого фермента являются менее предпочтительным, второстепенным субстратом. Кроме этого проанализированы: малоновый диальдегид, восстановленный глутатион внеклеточный (с дитионитробензойной кислотой), окисленный глутатион внеклеточный (с нитро тиосульфобензойной кислотой).

В силу высказанного комплекса соображений о центральной регуляторной роли в организме тиол-дисульфидного соотношения, мы сочли аргументированным уделить самое пристальное внимание этому критерию. Тем более, в предыдущих отчетах мы неоднократно подчеркивали, что селенопиран обладает глутатионсберегающей функцией. Будучи активным донатором электронов и протонов, селенопиран способен непосредственно восстанавливать окисленный глутатион. Приведенная информация убедительно свидетельствует о неспецифическом и универсальном характере изменений тиолов при действии на организм любых экстремальных факторов.

Любой стресс характеризуется низким содержанием тиоловых групп (и повышением дисульфидов), которые рассматриваются в качестве значимого критерия уровня неспецифической резистентности организма. Сказанное иллюстрируется цифровым материалом, представленным в таблице 14. По показателям, характеризующим тиол-дисульфидную и антиоксидантную системы (активность ферментов глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы, концентрация малонового диальдегида, количество восстановленного и окисленного глутатиона и тиол-дисульфидный индекс), также следует вывод о повышении неспецифической резистентности, буферной емкости антиоксидантной системы и, следовательно, адаптационно-защитных функций у опытных животных в сравнении с контрольными. Инъекции селенопирана благотворно сказались на состоянии систем, ответственных за неспецифическую резистентность организма порослят опытных групп. Особенно рельефные и достоверные изменения отмечены в четвертой группе, получавшей селенопиран пренатально и постнатально. Активность селензависимой глутатионпероксидазы на 50 % превосходила значения, присущие контрольным.

Таблица 14. Влияние инъекции селенопирана на активность глутатионпероксидазы и тиол-дисульфидный статус организма поросят в возрасте 60 дней

M±m,	ГПО-1	ГПО-2	МДА	Низкомолекулярные SH и SS группы		
				Внеклеточные		
				SH	SS	ТДС
1 группа, контроль	414 ± 66	661 ± 78	3.89 ± 0.35	0.671 ±0.09	0.340 ±0.06	1.97
2 группа	592 ± 89	673 ± 79	3.21 ± 0.40	0.853 ± 0.11	0.322 ± 0.04	2.65
% к контролю	143	102	83	127	95	135
3 группа	513 ± 77	670 ± 83	3.50 ± 0.39	0.749 ± 0.13	0.333 ± 0.05	2.49
% к контролю	124	102	90	112	98	1.26
4 группа	621 ± 97	675 ± 89	2.99 ± 0.41	0.989 ± 0.22	0.297 ± 0.07	3.30
% к контролю	150	102	77	147	92	168

Примечание: ГПО-1 – глутатионпероксидаза селенсодержащая, мкм НАДФ окисленного/мин./г. гемоглобина, субстрат – перекись водорода; ГПО-2 – глутатионпероксидаза селенсодержащая (глутатионтрансфераза), мкм НАДФ окисленного/мин./г. гемоглобина, субстрат – гидроперекись терт-бутила; МДА – малоновый диальдегид, мкм/мл плазмы крови; Гемоглобин – грамм/литр крови; SH – низкомолекулярные сульфгидрильные группы (глутатион восстановленный + цистеин), мкм/мл; SS – низкомолекулярные дисульфидные группы (глутатион окисленный + цистин), мкм/мл; ТДС – тиол-дисульфидное соотношение (SH / SS).

Концентрация малонового диальдегида в крови является простым и надежным интегративным критерием соотношения антиоксидантно-прооксидантных процессов в любой клетке организма. Рост его содержания характеризует неспособность защитных систем организма успешно справляться с процессами липопероксидации и окислением кислорода по одно-электронному пути, в процессе которого и образуется основная масса сверхреакционноспособных свободных радикалов – недоокисленных кислородных продуктов.

Концентрация этого продукта была в четвертой группе на 23 % ниже. Причем, по всем группам продемонстрирована строгая обратная пропорциональная зависимость между количеством полученного поросятами селенопирана (только пренатально, только постнатально или двумя путями) и содержанием в крови малонового диальдегида. Вследствие повышения концентрации низкомолекулярных сульфгидрильных групп на 47 % и одновременного снижения на 8 % низкомолекулярных дисульфидных групп, тиол-дисульфидное отношение существенно и достоверно повысилось на 68 %.

Всем подопытным животным скармливали основной рацион согласно рекомендуемым для данной половозрастной группы нормам. Содержание селена в основном рационе подопытных свиноматок не превышало 0,1 мг/кг сухого вещества. Помимо перечисленного комплекса биохимических показателей, в крови поросят определены показатели, характеризующие клеточный и гуморальный иммунитет (иммуноглобулины, Т- и В-лимфоциты, индекс фагоцитоза, активация нейтрофилов).

В результате исследований установлено, что на многоплодие, крупноплодность и количество мертворожденных поросят у свиноматок инъекция селенопирана существенного влияния не оказывает. Введение селенопирана 10-дневным пороссятам от интактных свиноматок обусловило лишь незначительное ($P>0.05$) увеличение их живой массы на протяжении опытного периода. Живая масса поросят всех трех опытных групп в возрасте 45 дней была несущественно и недостоверно выше животных контрольной группы. Отъем поросят осуществили в возрасте 45 дней. Во всех группах он прошел достаточно благополучно. Однако поросята, получавшие селенопиран и пренатально и постнатально имели несколько большую живую массу к первому послеотъемному взвешиванию в возрасте 60 дней. Эта тенденция сохранилась до окончания эксперимента в возрасте 90 дней, когда поросята четвертой группы были по живой массе выше животных контрольной, второй и третьей групп соответственно на 4,8, 2,7 и 2,6 %. Следует также отметить, что отход поросят в контрольной группе составил 6.3 % (3 головы), тогда как ни одного случая падежа во всех трех опытных группах отмечено не было. По результатам гематологического анализа количество эритроцитов в крови и насыщенность их гемоглобином у исследованных поросят были практически одинаковы и несколько превышали значения физиологической нормы.

Таблица 15. Динамика живой массы поросят

Показатели	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
	M ± m	M ± m	M ± m	M ± m
Количество животных, в группе	19	19	19	19
Живая масса, кг в возрасте				
10 суток	2.71 ± 0.11	2.65 ± 0.09	2.70 ± 0.14	2.69 ± 0.13
30 суток	5.70 ± 0.21	5.89 ± 0.19	5.93 ± 0.20	5.95 ± 0.27
45 суток	9.15 ± 0.33	9.84 ± 0.35	9.78 ± 0.29	10.09 ± 0.33
60 суток	13.00 ± 0.51	13.52 ± 0.43	13.31 ± 0.40	14.01 ± 0.47
90 суток	23.01 ± 1.49	23.47 ± 0.98	23.50 ± 0.83	24.12 ± 0.93
Падеж поросят, голов	3	0	0	0

В крови всех животных отмечался анизоцитоз, пойкилоцитоз, встречались большие, голубоватые эритроциты, что свидетельствует о напряженном эритропоэзе. Общее содержание лейкоцитов в крови поросят 1 группы превышало норму, а у животных, обработанных препаратом селена, этот показатель был ниже ($P<0,05$) и соответствовал верхней границе физиологических значений ($29,76\pm 1,83$ и $22,69\pm 2,34 \cdot 10^9/д$, соответственно).

По соотношению отдельных показателей лейкоформулы поросят, можно говорить о антистрессорном действии препарата, о формировании при введении его пороссятам в 10-дневном возрасте адаптационного синдрома повышенной активации. У животных этой группы (2 группа) имеются только 2 элемента напряженности – повышенное вдвое против нормативных значений относительное количество эозинофилов ($4,42\pm 0,91$) и базофилов ($1,00\pm 0,05$).

Однако эти показатели практически такие же ($P > 0.05$), как у животных контрольной группы, и, следовательно, не обусловлены введением селенопирана.

Относительное количество нейтрофилов, способных к поглощению латекса после стимуляции нейтрофилов зимозаном, модулирующим условия бактериальной инфекции у поросят всех опытных групп, было выше ($P < 0.05$), чем у контрольных. Количество частиц латекса, поглощенное одним таким активным нейтрофилом у инъецированных селенопираном поросят, полученных от обработанных матерей, было на 46,67 % выше ($P < 0.001$), что свидетельствует о большей функциональной активности этих клеток у четвертой группы поросят.

Изучение бактерицидной способности нейтрофильных гранулоцитов крови показало, что потенциально возможное количество этих клеток, способных проявлять оксидазную активность (по НСТ-тесту с зимозаном), также достоверно было выше у опытных групп поросят и составляло $68,09 \pm 4,17$ % всех нейтрофилов. Наиболее выраженное увеличение индекса активации нейтрофилов после стимуляции зимозаном ($ИАН_{\text{баз.}} / ИАН_{\text{спм.}}$) также отмечено у опытных животных и составило 421,88 % по отношению к аналогичному показателю контрольных поросят. Кислородонезависимая бактерицидная активность нейтрофилов, оцениваемая по количеству гранул катионных белков, у поросят 2 группы составила 135,28 % по отношению к контрольным.

Количество В- и Т-лимфоцитов в крови животных всех трех опытных групп было практически одинаково. Однако если у животных контрольной группы установлен инверсный эффект теофиллина, что указывает на наличие в их крови недифференцированных лимфоцитов, то у опытных поросят он отсутствует. В данном случае можно говорить о наличии фракции лимфоцитов, обогащенной супрессорами, с приближением к физиологически нормальному соотношению теофиллинрезистентной фракции лимфоцитов к теофиллинчувствительной. Уровень иммуноглобулинов классов G, M и A (каждый в отдельности) в сыворотке крови подопытных животных различался незначительно ($P > 0.05$), с тенденцией к более высоким значениям этого показателя у опытных групп поросят.

Таким образом, при введении поросятам на 10 день после рождения по 2 мл 1 % масляного раствора селенопирана наблюдается выраженное антистрессорное действие, увеличение микробицидной активности кислородозависимых и кислородонезависимых ферментных систем, поглотительной способности нейтрофилов. У этих же поросят отмечена более зрелая Т-лимфоцитарная система.

Влияние селенопирана на иммунную систему свиней в условиях радиоактивно-загрязненной зоны

Ранее нами было показано, что селенопиран усиливает функцию антиоксидантно-антирадикальной и иммунной систем в условиях, не превышающих допустимые фоновые нормы радиационного излучения. Однако, изучение состояния неспецифической резистентности у животных, получав-

ших селенопиран на фоне повышенного воздействия радиационного излучения, не проводилось.

Для изучения состояния иммунной системы свиней в хозяйствах с поверхностной активностью почвы от 10 до 15 Ки/км² (1Б, 2Б, 3Б и 4Б группы), с плотностью загрязнения по Cs 5–10 Ки/км² (группы 1В и 2В) и в условно-чистой зоне (1 Ки/км²) были проведены эксперименты на супоросных свиноматках и полученных от них поросятах. Животные 1Б, 1В и 1К групп являлись контрольными для 2Б, 3Б, 4Б, 2В и 2К групп (соответственно). Поросятам 2Б и 2К групп в 10-дневном возрасте подкожно ввели по 2мл 1% масляного раствора селенопирана на голову, 3Б группа состояла из поросят, полученных от свиноматок, которым за 3-4 недели до опороса инъецировали по 5 мл 4% масляного раствора селенопирана, а в 4Б группу были выделены поросята от тех же свиноматок, но которым дополнительно в 10-дневном возрасте ввели по 2мл 1% масляного раствора селенопирана. Поросята группы 2В с кормом получали селенопиран за неделю до отъема и в течение недели после отъема из расчета 1,2 г селенопирана 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).

Установлено достоверное увеличение прироста живой массы поросят, полученных от инъецированных селенопираном матерей (2Б группа), в 30- и 60-дневном возрасте (121,44 и 127,44% соответственно относительно поросят 1Б группы). Инъекция селенопирана поросятам от инъецированных свиноматок вызвала еще более значительное увеличение живой массы. По сравнению с поросятами, 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 селенопирана поросятам от инъецированных свиноматок (2 Б группа) позволила получить дополнительный по сравнению с не инъецированными поросятами, 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 были практически одинаковы и соответствовали физиологической норме. По соотношению отдельных показателей лейкоформулы поросят с различными схемами использования селенопирана можно говорить об антистрессорном действии препарата только при введении его свиноматкам и их поросятам 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, получен-

ных от не обработанных селенопираном свиноматок во время супоросности, соотношение показателей лейкоформулы было 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 селенопираном 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 селенопиран и дополнительно обработанных им в 10-дневном возрасте – $338,72\%$ относительно не получавших дополнительно селенопиран во время эмбрионального и подсосного периодов.

В опыте на поросятах 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 селенопиран, 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 почти вдвое значительнее у поросят, не получавших с рационом препарат селена, т.е. их резистентность была ниже, чем у поросят, получавших с кормом селенопиран. Поросята, получавшие селенопиран в опыте в условно-чистой зоне так же обнаруживали стимуляцию нейтрофилов зимозаном, модулирующую условия бактериальной инфекции, свидетельствующую о достоверном увеличении функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов.

Таким образом, по показателям, характеризующим неспецифическую резистентность, можно заключить, что защитные системы организма (антиоксидантно-антирадикальная и иммунная) активируются под влиянием как инъекций, так и скармливания селенопирана в зонах с различной степенью радиационного загрязнения и животные лучше переносят радионуклидное воздействие, о чем свидетельствует и более высокая их интенсивность роста.

Заключение

Общие итоги

1. На отечественном оборудовании, с использованием отечественных реагентов в лабораторных условиях синтезирован высокоэффективный, низкотоксичный органический препарат селена – селенопиран. Соединение прошло обстоятельные испытания в опытах *in vitro*. Проведена также широкая производственная апробация на различных видах и половозрастных группах сельскохозяйственных животных и птицы. Комплекс изученных биохимических и гематологических показателей, характеризующий функ-

циональную активность антиоксидантной системы защиты организма и неспецифической резистентности, подкрепленный динамикой изменения живой массы в стрессовые периоды эксперимента (ранний отъем поросят, роды у коров, выращивание животных в зоне с повышенным естественным фоном радиоактивного загрязнения, скармливание цыплятам специально переокисленного жира), подтверждает благоприятный эффект селенопирана на организм животных. При сопоставлении селенопирана с другими препаратами, содержащими селен (селенит натрия и селенизированные дрожжи (SELPLEX, фирмы ALLTECH, USA) было доказано, что среди трех указанных препаратов по всей совокупности физиолого-биохимических, эндокринологических и зоотехнических показателей селенопиран обладал преимуществами перед другими испытанными селенсодержащими средствами.

2. При тестировании антиоксидантных свойств селенопирана в лабораторных опытах на метилолеатной системе и на натуральных растительных маслах выявлено, что селенопиран предотвращает принудительное окисление метилолеата и подсолнечного масла с интенсивностью, превосходящей традиционно используемые в медицине и ветеринарии антиоксиданты – витамин Е, кверцетин, флуцерол и ионол (бутилоксилолуол, агидол). Причем селенопиран, в отличие от этих традиционных антиоксидантов, может выполнять функцию метаболической ловушки уже имевшихся в системе продуктов липопероксидации. Иными словами, селенопиран единственный из всех испытанных нами антиоксидантов оказался способным не только эффективно ингибировать как спонтанный, так и принудительный процессы перекисного окисления липидов, но и активно нейтрализовать ранее образовавшиеся свободные радикалы, улучшая потребительские качества жиров и продлевая период их годности.

3. При использовании селенопирана возрастает сохранность поголовья животных и птицы на 1,5-40%, продуктивность – на 3-16%, улучшается качество получаемой животноводческой продукции с уменьшением затрат кормов на ее производство на 4-10%.

4. На цыплятах-бройлерах, свиньях, крупном рогатом скоте и ягнятах изучены физиолого-биохимические механизмы действия селенопирана, заключающиеся в том, что этот препарат:

- активизирует ферментативную антиоксидантную систему организма животных и птицы, повышая активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы;

- активизирует монооксигеназную систему, индуцируя синтез ферментного белка и повышая каталитическую активность цитохрома Р-450;

- повышает неспецифическую резистентность организма, активизирует клеточное, гуморальное и фагоцитарное звенья иммунитета;

- ингибирует образование свободных радикалов и тормозит перекисное окисление липидов;

- подобно минеральным солям селена способен отдавать свой селен для включения в состав селеносодержащих ферментов.

4. В опытах на коровах и свиноматках при использовании селенопирана отмечен выраженный положительный эффект на воспроизводительную функцию животных.

5. В опытах на бычках и поросятах селенопиран проявил себя как иммуностимулятор, препарат повышающий неспецифическую резистентность и интенсивность роста животных, улучшающий качество мясной продукции и снижающий затраты корма на ее производство.

6. В опытах на свиньях, по показателям, характеризующим неспецифическую резистентность, можно заключить, что защитные системы организма (антиоксидантно-антирадикальная и иммунная) активируются под влиянием селенопирана в зонах с различной степенью радиационного загрязнения и подопытные животные лучше переносят радионуклидное воздействие.

7. Полученный экспериментальный материал служит основой для последующего широкого экспериментирования с целью разработки новых высокоэффективных способов повышения защитных сил организма, профилактики, терапии в ветеринарии и медицине, нормализации воспроизводительной функции, повышения неспецифической резистентности, продуктивности животных и птицы, улучшения качества животноводческой продукции и снижения затрат кормов и труда на ее производство.

***Физиолого-биохимические итоги экспериментов
по повышению неспецифической резистентности
животных и птицы с применением селенопирана***

1. На сегодняшний день в сравнении с многочисленными, широко применяемыми и постоянно синтезируемыми в стране и мире новыми неорганическими и органическими соединениями селена, селенопиран выгодно отличается от всех существующих селенсодержащих препаратов уникальным сочетанием метаболизируемости, с последующим высвобождением и включением в метаболический пул содержащегося в нем селена и самостоятельной функциональной активности, проявляемой собственно молекулой селенопирана. По существу, селенопиран, поступивший в организм будь то оральным, либо парентеральным путями, следует рассматривать как работающую пролонгированную форму селена, как метаболически активно функционирующее депо селена с самостоятельно проявляемыми в организме специфическими функциями. Эти специфические функции заключаются в способности селенопирана самостоятельно выполнять в организме роль глутатионпероксидазы – главного фермента антиоксидантно-антирадикальной системы защиты организма. Однако и в этом случае селенопиран выглядит значительно более предпочтительным. Глутатионпероксидаза нейтрализует токсические продукты перекисного окисления липидов, затрачивая для этих целей восстановленный глутатион – один из самых первых внутриклеточных лимитирующих факторов при окислительном стрессе любой этиологии, включая поражение радионуклидами. Причем, на обезвреживание одной молекулы свободного радикала затрачивается две молекулы восстановленного глутатиона, тогда как

одна молекула селенопирана способна нейтрализовать восемь молекул активных радикалов, выполняя одновременно глутатионсберегающую функцию.

2. Селенопиран при введении в организм всех видов животных и птицы выступает в роли мощного метаболического регулятора, улучшает функционирование клеточных мембран, что облегчает трансмембранный перенос всех метаболитов и кофакторов как во внутриклеточное пространство, так и из клетки, нормализуя общий обмен веществ.

3. Селенопиран, проявляя собственные антирадикальные и антиоксидантные свойства, подтвержденные экспериментами *in vitro* и *in vivo*, помимо глутатионпероксидазы активирует и другие ферменты антиоксидантно-антирадикальной системы защиты организма: супероксиддисмутазы, каталазы, щелочной фосфатазы и церулоплазмينا.

4. Селенопиран способен активировать микросомальную монооксигеназную систему элиминации ксенобиотиков и нейтрализации эндогенно образующихся шлаков, индуцируя синтез ферментного белка и повышая каталитическую активность цитохрома P-450.

5. Селенопиран нейтрализует свободные радикалы, образующиеся в результате перекисного окисления липидов, и предотвращает образование новых продуктов окисления ненасыщенных липидов, что предотвращает преждевременное старение и разрушение клеток.

6. Селенопиран, нормализуя обменные процессы в организме, приводит к усилению клеточного, гуморального и фагоцитарного звеньев иммунитета и в итоге – к повышению неспецифической резистентности, сопротивляемости организма к заболеваниям, к интенсификации роста и сохранности животных.

7. В качестве факта, заслуживающего отдельное внимание, следует упомянуть, что селенопиран является не только лучшим, при сравнении с четырьмя традиционными антиоксидантами, что было продемонстрировано нами и в опытах *in vitro*, и в опытах на нескольких видах и половозрастных группах сельскохозяйственных животных, но селен селенопирана существенно эффективнее используется организмом животных как в сравнении с его самой старой и общепринятой минеральной формой – селенитом натрия, так и при сопоставлении с относительно новым и широко рекламируемым в мире как лучший источник селена, – селенизированными дрожжами (SELPLEX).

***Некоторые характерные биохимические критерии,
отмеченные в наших экспериментах по повышению
неспецифической резистентности животных и птицы***

1. Рост концентрации малонового диальдегида уже многие годы продолжает оставаться во всем мире простым и общепризнанным критерием наступления окислительного стресса и неспособности механизмов, ответственных за общую неспецифическую резистентность организма, удерживать метаболические потоки в желаемом для организма русле. Цифровой материал,

суммированный по итогам многочисленных экспериментов, свидетельствует, что всегда концентрация малонового диальдегида прогрессивно и последовательно снижалась в опытных группах с включением селенопирана, подтверждая высокую дееспособность антиоксидантных систем организма подопытных животных. Информация по величине данного показателя, интегрированно характеризующего общее состояние перекисных процессов в организме животных, практически всегда довольно строго и дозозависимо позволяет нам оценивать эффективность работы использованного антиоксиданта.

2. Активность глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы у всех групп подопытных животных существенно не изменялась, когда фоновое содержание селена в рационе и стартовая концентрация селена в организме животных были достаточно высоки. В такой ситуации активность фермента выходит на плато и дополнительное введение селена не способно ее повысить. В случаях с дефицитом селена в организме, активность ГПО является одним из самых информативных индикаторов, поскольку находится на пониженном уровне и повышается с дополнительным включением в рацион селена и повышением его содержания в организме.

3. Вся совокупность полученного экспериментального материала полностью подтвердила верность наших стартовых предпосылок. По группе показателей, характеризующих состояние тиол-дисульфидной системы мы получили новую, весьма красноречивую информацию. Наиболее примечательное обстоятельство заключается в прогрессивных и существенных изменениях соотношений концентрации сульфгидрильных и дисульфидных групп по всем подопытным группам животных. Динамика изменений соотношения низкомолекулярных сульфгидрильных и дисульфидных групп во внеклеточном пространстве (плазма крови) достаточно убедительно и достоверно подтвердила наше положение о положительном влиянии селенопирана как глутатионсберегающего соединения. Абсолютные величины концентрации дисульфидных групп в течение эксперимента в крови животных опытных групп снижались, но отмечался рост абсолютных величин содержания сульфгидрильных групп. В итоге тиол-дисульфидное отношение в плазме крови подопытных животных было выше такового у контрольных животных. По показателям, характеризующим тиол-дисульфидную и антиоксидантную системы, следует вывод о повышении адаптационно-защитных функций, буферной емкости антиоксидантной системы организма животных опытных групп и повышении их неспецифической резистентности.

4. Специфическая взаимосвязь селенопирана с микросомальной монооксигеназной системой, ответственной за метаболизацию продуктов перекисного окисления липидов, элиминацию ксенобиотиков и нейтрализацию эндогенно образующихся шлаков, проявляется как в индукции синтеза собственно ферментного белка, так и в повышении каталитической активности цитохрома P-450 – важнейшего компонента этой системы.

5. Во всех опытах при применении селенопирана обращает на себя внимание факт отсутствия каких-либо выраженных закономерных изменений концентрации конъюгированного и свободного билирубинов в сыворотке крови подопытных животных. Этот вывод справедлив как индивидуально для

животных, так и относительно времени приема корма и на всех испытывавшихся рационах. Тот факт, что во всех перечисленных случаях концентрация билирубинов несущественно колебалась в диапазоне, близком к физиологической норме для каждого данного вида животных, свидетельствует об отсутствии отрицательного влияния селенопирана на секреторно-экскреторные и метаболические патологии печени, секреторную функцию поджелудочной железы, всасывательную функцию кишечника.

6. Концентрация гемоглобина, позволяя судить об антианемических свойствах рациона и гемопоэтической функции организма, практически всегда оставалась в пределах нормы. В отдельных экспериментах содержание гемоглобина в крови возрастало, указывая на способность селенопирана стимулировать гемопоэтическую функцию.

7. Концентрация глюкозы в крови отражает энергетическую обеспеченность рациона, доступность углеводов рациона для метаболизма, состояние инсулярно-глюкагонового и гликемического индексов. На всех испытывавшихся рационах не было выявлено постпрандиальных изменений концентрации глюкозы. Вообще, нам не удалось обнаружить каких либо значимых и закономерных изменений по этим показателям. Стабильные величины этой группы показателей подтвердили отсутствие отклонений от физиологической нормы при длительном использовании скармливаемого или инъекцируемого селенопирана.

Неспецифическая резистентность животных
Что это такое? Как её охарактеризовать? Как её повысить?

В.А. Галочкин, В.П. Галочкина, Е.В. Крапивина, Г.И. Боряев

Методическое пособие. Боровск, ВНИИФБиП, 2007, 66с

*Утверждено к печати Ученым советом ВНИИ физиологии,
биохимии и питания с.-х. животных.*

Компьютерная верстка Л.Л. Полякова
Полиграфическое исполнение А.В. Бочаров

Издательство ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных.

Формат 70x100/16 Объем 7,0 п. л. Тираж 100 экз.

249013 Калужская обл., г. Боровск, ВНИИФБиП с.-х. животных
тел. 996-34-15