

УДК 616.36-002:615.35

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ СЕЛЕНА НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС КРЫС

С.С. Ушаков¹, М.В.Н.; В.В. Шманай², К.Х.Н.; В.Н. Белявский¹, К.В.Н.¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»² – Институт физико-органической химии НАНБ, г. Минск

Цель данной работы - изучение влияния селеносодержащих препаратов на физиологические показатели организма лабораторных животных. Исследования проводились на крысах линии «Вистар», с использованием клинических, гематологических, патологоанатомических, биохимических и статистических методов исследований.

Существенных отклонений в физиологическом состоянии лабораторных животных после применения препаратов селена не наблюдалось. Максимальный положительный эффект получен при использовании комплексных препаратов селена. Обозначена (с различной интенсивностью) тенденция влияния препаратов на физиологический, клинический и прооксидантно-антиоксидантный статус в крови крыс.

Ключевые слова: селен, крысы, физиологический статус, перекисное окисление липидов.

Object of the research: Wistar line rats.

The purpose of the work: to study the influence of the preparations containing selenium on physiological characteristics of laboratory animals organisms.

Methods of the research: clinical, hematological, pathoanatomical, biochemical, statistical.

Results: there was no essential deviation in physiological condition of the laboratory animals after application of the preparation containing selenium. The top positive effect was received after the usage of complex selenium preparations. The ability of the preparation to influence physiological, clinical and prooxidant-antioxidant status in rat blood was noted.

Key words: selenium, rats, physiological status, peroxide oxidation of lipids.

Введение

Беларусь относится к биогеохимическим провинциям с пониженным содержанием в почве и воде фтора, йода и селена. В связи с чем возникает проблема адекватной обеспеченности животных этими элементами. Среди них уникальнейшим по своей структуре микроэлементом является селен. Его функции в организме чрезвычайно разнообразны. Он участвует в построении и функционировании глутатионпероксидазы – одного из основных ферментов антиоксидантной защиты организма [11]. Селен обеспечивает формирование иммунного ответа, и есть данные о его участии в инактивации вирусов [2]. Он на определенном этапе регулирует обмен гормонов щитовидной железы [8]. В тесной связи с витамином Е селен влияет на воспроизводительность и продуктивность животных [5]. И как один из метаболитов, он стимулирует обмен ксенобиотиков и обеспечивает структурно-физиологическую полноценность печени [5, 6]. В литературе описаны также адаптогенные свойства селена [1].

Основным источником селена для животных являются корма. В связи с тем, что оборот этого микроэлемента в природе протекает через растения, то, соответственно, дефицит в почве и воде сказывается на рационе животных и может привести к развитию таких заболеваний, как беломышечная болезнь, экссудативный диатез, атрофия поджелудочной железы, кардиомиопатии и т.д. [6, 10]. Кроме того, дефицит селена сопровождается нарушением белкового, липидного и углеводного обменов, что сказывается на общей продуктивности животных [6].

Разработано множество фармакологических средств, компенсирующих недостаток микроэлемента в рационе животных. Однако возникают

трудности при дозировании селена, поскольку этот микроэлемент способен проявлять токсические свойства в минимальных концентрациях. В современной ветеринарии применяются моно- и комплексные препараты органического и неорганического селена: селен, Е-селен, селенит натрия, селенометионин, сел-плекс, селенат натрия и др. Комплексные препараты, как правило, содержат в своем составе вещества, повышающие всасывание и снижающие токсические свойства селена, что увеличивает их биологическую ценность. Установлено, что водорастворимые комплексы витаминов А, Е отличаются от масляных растворов высокой биологической доступностью и полной резорбцией с места инъекции. Предполагается, что наибольшим средством к организму обладают препараты органического селена [6, 8].

Целью наших исследований явилось изучение влияния двух новых селеносодержащих препаратов селенопирана и «А-Е-селен» на физиологические показатели организма лабораторных животных в сравнительном аспекте с традиционно используемыми в животноводстве селенитом натрия и селеном.

Материалы и методы исследований

«А-Е-селен» – комплексный препарат, разработанный в институте физикоорганической химии НАНБ, включающий продукт взаимодействия селенита натрия и метионина механоактивированный (ТУ 600049853.024-2000) и водорастворимые формы витаминов А и Е, повышающие биодоступность селена [3, 6]. Селенопиран – это селеноорганическое, гетероциклическое соединение 9-фенил-симметричный октагидроселеноксантен, синтезированный в Пензенской ГСХА. Его свойства сходны с метионином, в результате чего он в форме

селенометионина способен замещать аминокислоту в белках, не изменяя их свойств. В этой форме селен становится менее токсичным [5]. Селед – комплексный препарат, содержащий в своем составе селенит натрия и витамины Д и Е. Исследования проводились по общепринятым методикам изучения фармакологических средств [10].

Методика проведения эксперимента над лабораторными животными была согласована с этической комиссией Гродненского государственного медицинского университета.

Для постановки опыта было сформировано 5 групп-аналогов из лабораторных животных (белых крыс линии «Вистар») по 10 голов в каждой. Кратность и время кормления, тип корма, смена подстилки, поение во всех группах были одинаковыми. Четырем группам животных в корм (из расчета на 100 г) добавляли препараты селена в течение 13 дней. Животные второй и четвертой групп служили контролем и получали вместе с кормом соответственно селед (0,4 мл) и селенит натрия (0,1 мг). В рацион животных третьей группы вводили «А-Е-селен» (0,4 мл), а пятой – селенопиран (0,2 мг). Первая группа сохранялась интактной. Для равномерного распределения препаратов в корме, они предварительно растворялись в 50 мл дистиллированной воды, а селенопиран – в 5 мл этилового спирта.

По завершению опыта крыс оглушали и убивали методом декапитации с отбором крови. Кровь стабилизировалась гепарином из расчета 25 мкл (1мл – 5000 ЕД) на 5 мл и использовалась для проведения общего клинического анализа с определением общего количества эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, гемоглобина на автоматическом цитосчетчике «MEDONIC». Также кровь использовалась для определения показателей перекисного окисления липидов (малоновый диальдегид) и антиоксидантной системы (восстановленный глутатион). Основные биохимические показатели общий белок, альбумины, глюкоза, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, глутатионпероксидаза, билирубин, холестерин, мочевины - определяли с помощью биохимического анализатора «AUTOLIZER».

Всех животных вскрывали и проводили патологоанатомическое исследование органов и систем с экстирпацией и взвешиванием печени, почек и селезенки для определения их абсолютной и относительной массы. Полученные результаты подвергались статистической обработке по методу Стьюдента-Фишера.

Результаты исследований

В результате проведенных исследований были получены неоднозначные результаты. При изучении общих клинических показателей крови (табл. 1) отклонений от нормы выявлено не было, однако по имеющимся различиям в количественном отношении можно судить о косвенном влиянии препаратов на интенсивность цитэмического позза и содержание гемоглобина в крови.

Как видно из таблицы, наибольшее количество гемоглобина и эритроцитов выявлено у крыс, которым задавались селед и селенит натрия. Сравни-

Таблица 1 – Клинические показатели крови крыс

	Интактн	Селед	А-Е-Се	Селенит Na	Селенопиран
Эритроц. ($10^{12}/л$)	7,73 ±0,05*	8,65 ±0,19	7,91 ±0,15	8,10 ±0,13	7,61 ±0,21
Тромбоц. ($10^9/л$)	416,4 ±3,66*	542,4 ±3,50*	460,8 ±14,44***	392,10 ±5,80*	490,25 ±13,38**
Лейкоц. ($10^9/л$)	8,66 ±0,31*	8,00 ±0,23	12,22 ±1,18	11,75 ±0,94	10,33 ±0,98
Гемогл. (г/л)	143,2 ±3,51*	162,6 ±2,66*	147,4 ±1,96**	154,75 ±4,61*	144,25 ±3,06*
Гематокрит (%)	41,92 ±0,40	46,72 ±0,51*	41,32 ±0,34**	39,08 ±0,87**	41,63 ±0,61

Достоверность * $p < 0,001$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,05$

вая эти данные с показателями клинического исследования крови животных интактной группы, видно, что разница составляет примерно 10%. Такое явление по нашему мнению объясняется ответными реакциями организма на действие стрессовых факторов. Поскольку препараты селена органической и неорганической природы получают с использованием селенита натрия, то по своей структуре и по физиологическому значению для организма они являются ксенобиотиками. При попадании в организм они вызывают реакции, характерные для токсического стресса. В результате ускоряются процессы метаболизма и, как следствие, увеличивается частота дыхания, сердечных сокращений, сопровождающихся компенсаторным увеличением количества эритроцитов. Последствием ксенобиотического действия испытуемых препаратов является инволюция лимфоидной ткани, в частности, селезенки, приводящая к функциональной недостаточности органа. В результате увеличивается количество «старых» красных клеток крови, приводящих к возрастанию общего числа эритроцитов. Анализируя количественные отношения тромбоцитов во всех пяти группах, можно отметить, что все препараты, за исключением селенита натрия, увеличивают количество тромбоцитов в крови, относительно показателей интактной группы. Стоит также обратить внимание на гематокритное число, которое относительно постоянно по сравнению с интактной группой у животных, получавших «А-Е-Се» и селенопиран. Небольшие отклонения выявлены у группы крыс, получавших селед и селенит натрия.

Анализ таблицы 2 показывает, что, несмотря на отсутствие достоверных различий, существуют общие тенденции изменения антиоксидантно-прооксидантного равновесия в крови под действием селеносодержащих препаратов. Максимальные значения малонового диальдегида и глутатиона отмечены у животных, которым задавались селенопиран и селенит натрия. Повышение малонового диальдегида предполагает наличие прооксидантных эффектов у этих препаратов, а пропорциональное увеличение глутатиона говорит об активизации компенсаторных механизмов организма и в целом дезактивации прооксидантов. Препараты селена, являясь химическими агентами, попадая в организм животных, влияют на молекулярные механизмы функционирования биологических систем, приводя к сдвигам гомеостаза на клеточном уровне. Степень нарушения напрямую коррелирует с

Таблица 2 – Показатели ПОЛ и антиоксидантной защиты в крови крыс

Группа животных	МДА (мкмоль/л)	Глутатион (ммоль/л)
Интактная	3,00±0,081	0,153±0,0026
Обработ. селедом	3,25±0,380	0,120±0,0127
Обработ. А-Е-Se	3,77±0,680	0,170±0,0204
Обработ. селенитом натрия	4,70±0,272	0,290±0,0224**
Обработ. селенопираном	4,33±0,220	0,296±0,0147

Достоверность * p<0,001 ** p<0,05

индексом биоусвояемости селена, как наиболее токсичного агента. Доказано, что водорастворимые формы витаминов А, Д, Е повышают биодоступность селена [3, 6] и уровень антиперекисной и антирадикальной защиты, играющих важную роль в системе детоксикации липофильных ксенобиотиков, снижая при этом интенсивность их токсического воздействия на организм [8]. Таким образом, препараты селена, содержащие в своем составе витамины, обладают менее выраженным прооксидантным действием. Однако следует сказать, что прооксидантный эффект селенопирана может быть связан как с действием самого селена, так и токсическим влиянием этилового спирта, который использовался в качестве растворителя для этого препарата.

При измерении массы крыс до начала и после опыта, а также выведении коэффициентов отношения массы внутренних органов к массе тела животных, были получены данные, показанные в таблицах 3 и 4.

Печеночный коэффициент отражает степень гипо- или гипертрофических процессов в зависимости от отрицательного или положительного отклонения от нормы. Этот коэффициент менее чувствителен, чем селезеночный, поскольку печень имеет колоссальные функциональные, регенеративные и компенсаторные резервы, которые мобилируются при необходимости и предупреждают развитие патоморфологических изменений в органе при достаточно продолжительном токсическом воздействии.

Анализируя данные таблицы 4, можно сказать, что наибольшим эффектом прироста живой массы отличаются крысы, которым задавались комплексные препараты селена, включающие в свой состав витамины. Следует заметить, что селенит

Таблица 3 – Относительная масса органов экспериментальных животных

Группа животных, обработ.	Масса (г)							
	Средняя жив.		Печень		Почки		Селезенка	
	Абс.	Отн. жив. м.(%)	Абс.	Отн. жив. м.(%)	Абс.	Отн. жив. м.(%)	Абс.	Отн. жив. м.(%)
Интактная	190,3±3,87	100	6,58±0,21	3,45	1,62±0,04	0,85	1,04±0,040	0,55
Селедом	195,4±4,94	100	6,89±0,35	3,53	1,41±0,16*	0,72	1,34±0,158**	0,69
А-Е-Se	195,8±8,06	100	6,7±0,26	3,42	1,46±0,04	0,75	1,04±0,107*	0,50
Селенитом натрия	182,6±5,79	100	6,17±0,12	3,38	1,40±0,06	0,77	0,88±0,056*	0,48
Селенопираном	188,7±5,72	100	6,16±0,17	3,26	1,43±0,04	0,76	0,80±0,069*	0,42

Достоверность p<0,001 * p<0,01 **p<0,02

Таблица 4 – Показатели прироста массы крыс за время эксперимента

Масса (г)	Группы животных перед обработкой препаратами				
	Интактная	Селед	А-Е-Se	Селенит натрия	Селенопиран
До обработки	174,7	172,4	176,9	177,6	176,5
	+6,62	+4,52	+7,65	+5,95	+5,95
После	190,3	195,4	195,8	182,6	188,7
	+3,87	+4,94	+8,14	+5,79	+5,72
Прир.жив.массы	+16,4	+23,0	+18,9	+5,0	+12,2

Достоверность p<0,5

натрия и, в меньшей степени, селенопиран в сравнении с интактной группой спровоцировали снижение прироста живой массы. Вероятно, это связано с прооксидантным эффектом препаратов, вызванным в процессе биотрансформации в печени, что неизбежно ведет к активному воздействию на этот орган с изменением интенсивности протекающих там процессов, в том числе и метаболических.

Заключение

Существенных отклонений в физиологическом состоянии лабораторных животных после применения препаратов селена нами не установлено. Однако у некоторых препаратов обозначилась способность влиять на клинический и прооксидантно-антиоксидантный статус в крови крыс. Особенно ярко эти свойства выражены у селенита натрия, который с одной стороны способствует увеличению уровня эритроцитов в крови, а с другой проявляет прооксидантное действие. Максимальный положительный эффект получен при использовании комплексных препаратов селена, обеспечивающих параллельное поступление в организм оптимального количества микроэлементов и биологически активных веществ (витаминов), повышающих прирост живой массы и антиоксидантную защиту.

Литература

- Боряев, Г.И. Влияние соединений селена на иммунную систему бычков/ Г.И. Боряев, А.Ф. Блинохатов, Ю.Н. Федоров, Н.И. Петренко/ Ветеринария.– 1999.- №12.-С.36-38
- Дранник, Г.Н. Иммуноотропные препараты/ Г.Н. Дранник, Ю.А. Гриневич, Г.М. Дизик. – К.: Здоровье, 1994.- 228 с.
- Конь, И.Я. Современные представления о биологической роли селена и его значение в питании детей раннего возраста/ И.Я. Конь// Дефицит микроэлементов у детей грудного и раннего возраста: Институт питания Heinz, IV международный симпозиум.- М., 1995.-С.86-92
- Никитченко, И.Н. Адаптация, стрессы и продуктивность сельскохозяйственных животных/ И.Н. Никитченко, С.И. Плященко, А.С. Зеньков. – Мн.: Ураджай, 1988. – 200с.
- Папазян, Т. Влияние форм селена на воспроизводство и продуктивность свиней/ Т. Папазян/ Ветеринария. – 2006. - №11.- С.53-56
- Решетник, Л.А. Биогеохимическое и клиническое значение селена для здоровья человека/ Л.А. Решетник, Е.О. Парфенова; Микроэлементы в медицине, Т.2, Вып.2. – М.: КМК, 2001.- С.2-8
- Тиунов, Л.А. Токсикология окиси углерода/ Л.А. Тиунов, В.В. Кустов. – М.: Медицина, 1980. – 286с.
- Тутельян, В.А. Определение селена в продуктах питания/ В.А. Тутельян, С.А. Хотимченко, Н.А. Голубкина.–М.: Информ.-изд. центр Госкомсанэпиднадзора России, 1995.
- Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ/ Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева.-изд. 2-е доп. и перераб.- М.: «Медицина», 2005.- 832с.
- Шимкус, А. Органический селен в рационе свиней/ А. Шимкус, Н. Кветкуте [и др.]// Национален център за аграрни науки: животновъди науки, XLII, Вып. 5. - 2005.-С.83-87.
- Foster, L.H. Selenium in health and disease: a review/ L.H. Foster, S. Sumar //Crit. Rev. Food Sci. Nutr. - 1997. – Vol. 37, №3. - P. 211-228.

Поступила 25.06.07