

**ДЕЙСТВИЕ СЕЛЕНИТА НАТРИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ФЕРМЕНТЫ
БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ ЭРИТРОЦИТОВ ТЕЛЯТ**

Пипкина Т.В., Сташкевич И.В.

УО Витебская государственная ордена «Знак Почета» академия ветеринарной медицины,
Республика Беларусь

В эритроцитарной суспензии молодняка крупного рогатого скота определяли активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и содержание SH-небелковых групп. Установлено, что свой биологический эффект натрия селенит оказывает через глутатионзависимые ферменты и непосредственно через сам глутатион.

Catalasa activity, a superoxide dismutasa, glutation peroxidasa and the maintenance of SH-nonprotein groups have been defined in order to detect the influence of some concentrations of sodium selenite on intact erythrocytes of calves in erythrocyte suspension. It has been proved that sodium selenite exerts biological influence through glutathione dependent ferments and directly through a glutathione.

Введение. В последний годы у людей и животных при различных патологиях выявляется дефицит селена, являющего одним из важнейших антиоксидантов. Особенно это имеет место в регионах с недостаточным содержанием селена в кормах. Недостаток селена в рационах животных ведёт к нарушению обмена веществ в организме, проявляющемуся снижением интенсивности роста молодняка и продуктивности животных, ухудшением репродуктивных качеств маток и производителей и более глубоким пагологиям. Селен может оказывать существенное влияние на состав и биохимию крови. Участие селеносодержащих соединений в жизненно важных процессах внутриклеточного метаболизма человека и животных подтверждено рядом исследований, в которых выявлены такие фармакологические свойства этих веществ, как антинекротическое, антиканцерогенное, антиинфарктное, антитоксическое.

Этот элемент регулирует скорость окислительно-восстановительных реакций, воздействует на активность фосфатаз и синтез АТФ, влияет на процессы тканевого дыхания и иммунобиологическую активность организма, активизирует обмен некоторых витаминов, в частности влияет на усвоение и расход витаминов А, С, Е и К. Витамин Е усиливает действие селена, а витамин А задерживает витамин Е в организме [10]. Кроме этого, положительное воздействие селена на рост, развитие и продуктивность животных может быть реализовано через влияние микроэлемента на обмен йода и, соответственно, на деятельность ряда органов: щитовидной железы, печени, почек, кишечника и др. [4]. Селену присуща роль стимулятора деятельности целлюлозорасщепляющей микрофлоры, которую он реализует либо непосредственно, либо косвенно через витамин Е или через гормоны щитовидной железы [1,2]. Добавка этого элемента благоприятно влияет на деятельность микрофлоры рубца и высвобождение микроэлементов из грубого корма. Селен способен заменять серу в содержащих этот элемент аминокислотах за счет его активного усвоения микроорганизмами преджелудков [3]. К числу косвенных свидетельств способности селена влиять на обмен веществ относится его стимулирующее воздействие на секрецию секретина и соляной кислоты, что активизирует всасывание питательных веществ, их транспорт, усиливает обменные процессы, вызывая ускоренный рост организма. Добавка селена сухостойным коровам способствует повышению коллоидального иммуноглобулина G, тем самым обеспечивая устойчивый иммунитет молодняку после рождения [7]. Защитное действие селена проявляется в снижении токсического действия многих контаминантов окружающей среды природного и антропогенного происхождения, в частности тяжелых металлов [8].

Биохимические функции селена определяются селенсодержащими белками. Недостаток микроэлемента может приводить к нарушению клеточной целостности, изменению метаболизма тиреоидных гормонов, активности биотрансформирующих ферментов, повышению концентрации глутатиона в плазме. Характерной особенностью селенсодержащих белков млекопитающихся является то, что они связаны с окислительно-восстановительными процессами, происходящими внутри клетки и вне её. К настоящему времени охарактеризованы более 20 селенсодержащих белков к числу которых относятся ферменты – глутатионпероксидаза, йодтирониндейодиназа, тиоредоксинредуктаза и селенфосфатаза, содержащие в активном центре селеноцистеин. Результаты многочисленных исследований показали тесную зависимость между количеством поступающего с рационом селена и активностью глутатионпероксидазы в тканях лабораторных животных. При крайне низких концентрациях селена (ниже 0,02 мг/кг рациона) синтез глутатионпероксидазы практически полностью подавлен. Установлено, что у изначально нормально обеспеченных селеном крыс его прием на уровне 0,1 мг/кг рациона достаточен для поддержания активности фермента [5]. Активность фермента при обогащении селеном рациона лабораторных животных зависит от многих факторов, в частности от изначального селенового статуса животных, от источника селена и от вводимых доз селена [3]. Отмечено, что у крыс количество селена в рационе, превышающее 1 мг/кг, вызывает возрастание активности глутатионпероксидазы в печени, однако при введении токсических доз селена (5 мг/кг рациона и более) активность фермента в печени снижается, одновременно наблюдаются повреждения печени [9].

В организме селен не депонируется, поэтому требуется его постоянное включение в рацион кормления животных. Недостаточное поступление минерала из почвы в растения и далее в организм животных обусловлено наличием его форм, недоступных для поглощения растениями (окись железа – селенит), а также наличием в почве интерферирующих веществ и факторов, таких как сера, высокая кислотность и увлажненность грунта [3]. Дефицит потребления селена может приводить к резкому снижению уровня селенопро-

теинов и, как следствие — к оксидантному стрессу, что влечет за собой различные патологические состояния [10].

В связи с этим в нашей стране, так и за рубежом ведутся работы по разработке и уточнению новых форм и норм потребности животных в минеральных элементах, ранее не учитывавшихся, но оказывающих большое влияние на организм. К числу таких элементов относится и селен.

Большинство авторов рекомендуют органическую форму селена как предпочтительную при снабжении организма селеном в профилактических целях. Однако не стоит пренебрегать следующими обстоятельствами: соединения неорганического селена обладают сравнительно низким порогом токсичности ввиду ограниченных возможностей утилизации их главного токсического метаболита – селеноводорода (аниона гидроселенида), неорганический селен в организме человека и животных может включаться в селеноцистеин, но никогда не включается в селенометионин [3].

В связи с этим была поставлена цель: изучить влияния различных доз селенита натрия на ферменты биотрансформации ксенобиотиков эритроцитов клинически здоровых телят.

Материалы и методы. Для проведения исследований брали кровь у 10 клинически здоровых телят 3-4 месячного возраста. С каждой концентрацией лекарственного вещества проводилось 5 параллелей.

В эксперименте использовались трижды отмытые изотоническим раствором эритроциты клинически здоровых телят. Для того чтобы создать экспериментальную систему, сходную с кровью, эритроцитарную суспензию разводили с учётом гематокрита изотоническим буферным раствором. К этой экспериментальной системе добавляли раствор натрия селенита (конечная концентрация в инкубационной смеси составляла 23 ммоль/л – 1 группа и 11,5 ммоль/л – 2 группа) и инкубировали при 37°C в течение 20 минут. Время инкубации было подобрано таким образом, чтобы дать возможность лекарственному веществу проникнуть через эритроцитарную мембрану и оказать свой биологический эффект. После окончания времени инкубации аликвоту инкубационной смеси добавляли к дистиллированной воде, проводя таким образом гемолиз эритроцитов, и сразу же определяли активность каталазы, супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГП1) и содержание SH-небелковых групп, которое было принято эквивалентным содержанию восстановленного глутатиона, так как других веществ, содержащих сульфидные группы, в десятки и сотни раз меньше, чем данного трипептида.

Определение активности каталазы проводили по методу Королюк М.А. с соавт. Активность глутатионпероксидазы с перекисью водорода в качестве субстрата определяли методом Mills в модификации Hafeman D.D. Активность СОД определяли по методу Костюк В.А. с соавт. Концентрацию свободных SH-групп определяли по методу Sedlak J., Lindsay R. по окрашиванию продукта конденсации свободного GSH и реактива Элмана.

Результаты. Полученные данные свидетельствуют, что терапевтические концентрации натрия селенита (группа I) вызывают значительные и разнонаправленные изменения в активности ферментов биотрансформации ксенобиотиков. Активность СОД снизилась в 1,44 раза, активность каталазы статистически достоверно не изменилась, а активность глутатионпероксидазы возросла в 1,5 раза. На фоне возрастной активности глутатионпероксидазы увеличилась концентрация свободных SH-групп. Снижение активности супероксиддисмутазы может быть связано с ингибированием промежуточным метаболитом, образующимся из натрия селенита. Возрастание активности глутатионпероксидазы может свидетельствовать о том, что биотрансформация натрия селенита в изолированных эритроцитах сопровождается увеличением концентрации пероксида водорода, поскольку в данном эксперименте использовался субстрат – пероксид водорода. Поскольку глутатионпероксидаза и каталаза «работают» вслед за СОД, можно предположить, что ингибирование СОД наступает после того, как она образует достаточное количество пероксида водорода из супероксид-анион-радикала. Возможно и другое объяснение полученным данным – при физиологических условиях молекулы ГП1 не полностью насыщены селеном. При введении натрия селенита происходит метаболизм иона SeO_2^- и возможно насыщение молекулы фермента селеном [8]. Поэтому скорость ферментативной реакции, а, следовательно, активность возрастают. Полученные нами экспериментальные данные согласуются с литературными о ведущей роли ГП1 в обезвреживании образующегося при введении лекарственного вещества пероксида водорода [6]. При уменьшении концентрации натрия селенита повышается активность СОД в 1,9 раза, в то время как активность глутатионпероксидазы и каталазы остаются на уровне контроля. Концентрация восстановленного глутатиона в этом случае превышает значения в контроле в 1,39 раз. Для более адекватной оценки полученных данных было найдено отношение активности СОД к активности глутатионпероксидазы – СОД/ГП1, так как эти ферменты связаны через пероксид водорода (для СОД это продукт реакции, для ГП1 – субстрат). В контрольной группе соотношение активности в 2,166 раз выше, чем в I-ой группе опыта (с терапевтической концентрацией). Для II-ой опытной группы соотношение активностей превысило значения контроля в 2,05 раза. Это свидетельствует о повышении роли СОД в биотрансформации натрия селенита при его концентрациях, которые находятся ниже терапевтических.

Таблица 1.- Активность ферментов биотрансформации ксенобиотиков в эритроцитах телят через 20 минут после добавления натрия селенита в опыте *in vitro*

Показатели	Контроль	I группа	II группа
СОД, ед. активн.	0,78 ± 0,077	0,54 ± 0,055*	1,49 ± 0,082*
Глутатионпероксидаза, ммоль GSH/мин	2,40 ± 0,105	3,59 ± 0,061*	2,23 ± 0,096
Каталаза, моль/мин.	38,07 ± 2,654	40,99 ± 3,597	33,74 ± 3,856
SH-группы, ммоль/л	0,33 ± 0,025	0,59 ± 0,056*	0,46 ± 0,031*

Заключение. Селенит натрия оказывает достаточно сильное влияние на интактные эритроциты, активируя глутатионпероксидазу и повышая содержание сульфгидрильных групп. Так, активность глутатионпероксидазы увеличилась на 49,58% по сравнению с контролем, а концентрация сульфгидрильных групп – на 44%. Зафиксировано ингибирование активности супероксиддисмутазы на 31% однако при этом не выявлено статистически значимого влияния вещества на активность каталазы. Анализируя полученные данные можно сделать вывод, что свой биологический эффект натрия селенит оказывает через глутатионзависимые ферменты и непосредственно через сам глутатион.

Литература. 1. Блинохватов А.Ф., Денисова Г.В., Ильин Д.Ю. Селен в биосфере // Изучение влияния селеносодержащих препаратов на воспроизводительные функции животных и интенсивность роста молодняка. Пенза: РИО ПГСХА, 2001. – С. 186-189. 2. Дьяченко Л.С., Лысенко В.Ф., Кувшинова Т.М. Продуктивность и воспроизводство высокоудойных коров красной степной породы при разной обеспеченности селеном // С.-х. биология. – 1989. – Т. 4. – С. 13-16. 3. Влияние селена на ферменты метаболизма ксенобиотиков печени крыс / Л.В.Кравченко [и др.] // Вопр. питания. – 1991. – № 5. – С. 73–75. 4. Beyer, W.F. Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of minor changes in conditions / W.F.Beyer, I.Fridovich // Analytical biochemis-try. – 1987. – V. 161. – P. 559-566. 5. Effect of dietary selenium on eryth-rocyte and liver glutathione peroxidase in rat / D.S.Hafeman, [et al.] // J.nutrition. –1974. –V.104., Xs5- P.580-587 6. Effect of selenium depletion and repletion on plasma glutathione and glutathione-dependent enzymes in the rat / K.E.Hill, [et al.] // J. Nutr. – 1987. – V.117. – N 1.– P.99–104. 7. Eversol, D.E. Selenium supplementation increases colostral Jg G in beff cows // Animal Science Research Report Virginia Agricultural Experiment Station. – 1992. – V. 10. – P.76-77. 8. Orville, A. // Present knowledge in nutrition, 7th edition. 1997. P. 320-328. 9. Relationship between blood selenium and erethrocyte glutathione peroxidase activity with excess dietary selenium in Syrian golden hamsters / A.D.Julius, [et al.] // Fed. Proc. – 1980. – V.39. – N 3. – P. 555–561. 10. Roles of selenium in endotoxin-induced lipid peroxidation in the rats liver and in nitric oxide production in J774A.1 cells / S.Sakaguchi, [et al.] // Toxicol. Lett. – 2000. – V.118. – N 1–2. – P.69–77.

ПОСТУПИЛА 21 мая 2007 г

УДК 619:616.98:615.37

МАССА ОРГАНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ РАННЕГО ВОЗРАСТА, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА И ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА

Прудников А. В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
Республика Беларусь

Иммунизация цыплят против болезни Ньюкасла и инфекционного бронхита ведет к уменьшению массы тимуса, фабрициевой бursы и селезенки. Вакцинация молодняка кур ассоциированными вакцинами против инфекционного бронхита и болезни Ньюкасла вызывает кратковременное повышение фагоцитарной активности псевдозоинофилов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови.

Immunization of chickens against Newcastle disease and infectious bronchitis leads to decrease of thymus, bursa Fabricia, and spleen weights. Vaccination of young hens against these diseases induces short-term increase of phagocyte activity of pseudoeosinophiles, bactericidal and lysozyme activity of blood serum.

Введение. Устойчивость поголовья цыплят-бройлеров к инфекционным заболеваниям является важной составляющей экономического эффекта птицеводческих предприятий. Особую опасность современному птицеводству продолжают представлять грипп, болезнь Ньюкасла, болезнь Марека, инфекционная бурсальная болезнь, синдром снижения яйценоскости, инфекционный ларинготрахеит [4]. Отсутствие необходимой защиты хозяйств от заноса возбудителей инфекций рано или поздно приводит к возникновению болезней [7]. Из-за большого количества потенциально опасных заболеваний приходится проводить большое количество вакцинаций. Поэтому усовершенствование специфической профилактики инфекционных заболеваний птиц путем разработки отечественных ассоциированных вакцин – является приоритетным направлением научных исследований и имеет важное прикладное значение [5].

В этой связи проведены исследования и сотрудниками РНИУП Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского НАН Беларуси разработана отечественная живая ассоциированная вирус-вакцина против болезни Ньюкасла (штамм Ла-Сота) и инфекционного бронхита (штамм Н-120).

Морфологические изменения в органах иммунной системы цыплят при использовании указанной отечественной вакцины пока не изучены. При этом иммуноморфологическое обоснование разрабатываемых и внедряемых в производство вакцин является обязательным. Использование морфологических методов исследования позволяет оценивать не только иммуноморфологические реакции, но и иммунопатологические изменения, сопровождающие иммунизацию [3].

Целью наших исследований явилось изучение органомерических и иммунологических показателей у цыплят, вакцинированных отечественной ассоциированной вакциной и ее израильским аналогом. В качестве зарубежного аналога была выбрана израильская сухая живая вакцина фирмы AVIC из штамма V.H. (б. Ньюкасла)+Н-120 (инфекционный бронхит).

Материал и методы. Исследования были проведены на 60 цыплятах-бройлерах 1-28дневного возраста, разделенных на 3 группы по 20 голов в каждой. Цыплятам 1-й группы интраназально вводили отечественную вакцину, птице 2-й группы вводили израильский аналог тем же способом. Интактные цыплята 3-й группы служили контролем.