

патологических изменений, характерных для болезни Марека, не наблюдали.

В третьей группе (контроль иммуногенности опытного образца поливалентной вакцины с использованием аттенуированного, аверсифицированного изолята вируса болезни Марека 1-го серотипа 5/11) погибло пять цыплят, из них два цыпленка в первые двое суток и три в процессе опыта (от переохлаждения). Клинических признаков и патологоанатомических изменений, характерных для болезни Марека, не наблюдали ни у одной головы.

В четвертой (контроль физиологического развития) и шестой (контроль разбавителя) группах признаков болезни Марека не наблюдали ни у одной головы.

Таким образом, безвредность всех трех опытных образцов поливалентной вакцины для односуточных цыплят даже в десятикратной прививной дозе составляла 100%. Иммуногенная активность опытных образцов была на уровне 88,9%, что требует увеличения иммунизирующей дозы в опытных образцах вакцины.

Заключение. Отсутствие патологоанатомических изменений во внутренних органах в контроле и опыте свидетельствует о безвредности всех трех опытных образцов поливалентной вакцины. Неспецифический отход одного-двух цыплят допускается в первые десять суток жизни цыплят.

Отсутствие клинических проявлений болезни Марека, физиологическое развитие в пределах нормы у подопытных цыплят третьей группы и отсутствие патологоанатомических изменений во внутренних органах, характерных для болезни Марека, в контроле и опыте свидетельствует о том, что третий опытный образец поливалентной вакцины обладает достаточными иммуногенными свойствами. Неспецифический отход одного-двух цыплят допускается в первые десять суток жизни цыплят. Гибель еще трех цыплят, погибших в ходе дальнейших исследований, можно считать неспецифическим отходом, потому что она наступила в результате переохлаждения.

Таким образом, иммуногенная активность опытных образцов поливалентной вакцины оказалась в целом на уровне 88,9%, что требует увеличения иммунизирующей дозы в опытных образцах вакцины.

Литература. 1. Бойко, В. С. Вплив вірусу хвороби Марека на обмін азотовмісних речовин у сироватці крові вакцинованої та невакцинованої птиці [Текст] / В. С. Бойко // *Вет. медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* — Х., 2010. — Вип. 93. — С. 64–68. 2. Жейнова, Н. М. Принципи специфічної профілактики хвороби Марека та бактеріальних хвороб різної етіології [Текст] / Н. М. Жейнова // *Вет. медицина України.* — 2014. — № 5. — С. 13–14. 3. Occurrence of Marek's disease in vaccinated poultry flocks of Haryana (India) [Text] / P. C. Kamaldeep [et al.] // *Int. J. Poultry Sci.* — 2007. — Vol. 6, № 5. — P. 372–377. 4. Marek's disease: Anevolving problem / F. Davidson, V. Nair (eds.). — London: ElsevierAcad. Press, 2004. — 212 pp. 5. Стегній, М. Ю. Біотехнологічні аспекти кріоконсервування та зберігання виробничих штамів та атенуованих ізолятів вірусу хвороби Марека [Текст] / М. Ю. Стегній // *Вет. медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* — Х., 2013. — Вип. 97. — С. 552–555. 6. Лукина, В. А. Современное состояние и перспективы вакцинопрофилактики болезни Марека [Текст] / В. А. Лукина, Б. В. Соловьев, Н. Н. Быков // *Науч. основы пр-ва вет. биол. препаратов : тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. (Щелково, 8–9 июня 2000 г.).* — Щелково, 2000. — С. 6–8. 7. Проблеми боротьби з хворобою Марека в Україні [Текст] / Б. Т. Стегній [та ін.] // *Вет. медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* — Х., 2002. — Вип. 80. — С. 669–670. 8. Бережна, Д. С. Оцінка епізоотичної ситуації вірусу хвороби Марека на території України [Текст] / Д. С. Бережна, О. А. Іващенко, В. П. Поліщук // *Мікробіологія і біотехнологія.* — К., 2015. — № 1. — С. 14–20. 9. Стегній, Б. Т. Аналіз поширення хвороби Марека в Україні та світі [Текст] / Б. Т. Стегній, М. Ю. Стегній, Д. Д. Состін // *Вет. медицина : міжвідом. темат. наук. зб.* — Х., 2016. — Вип. 102. — С. 186–190.

Статья передана в печать 21.09.2016 г.

УДК 576.535:576.38:[546.57+546.47+546.72]-022.532

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МИТОТИЧЕСКОГО РЕЖИМА ПЕРЕВИВАЕМОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК FLK-71 И ЦИТОТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ И НАНОСОЕДИНЕНИЙ (AG, ZN, FE)

Стегний М.Ю., Магац Д.Ю.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков, Украина

Исследованы показатели митотической активности и процент патологических форм митозов под действием наночастиц железа в разведении 1:20, которые были достоверно ниже контроля: в первые сутки митотическая активность была почти на 60% меньше, а через 96 ч. — уже на 80% по сравнению с митотической активностью клеток контроля. В то же время наносоединения железа снижали количество конгломератов и улучшали морфологическое состояние клеток по сравнению с контролем. Подобную картину наблюдали в вариантах культивирования с наночастицами и наносоединениями серебра во

всех опытных разведениях. Наносоединения железа значительно уменьшали процент патологических митозов – в первые сутки в 1,5 раза, во вторые – в 1,8 раза, а в последние сутки – уже в 2,1 раза по сравнению с контролем. Воздействие наносоединений серебра в последние сутки влияния привели к появлению зернистости в цитоплазме клеток больше, чем в контроле. Результаты проведенных нами исследований показали благоприятное воздействие наночастиц серебра и наносоединений железа. Данные нанометаллы могут применяться в практике культивирования культуры FLK-71 с целью повышения вируспродуцирующей активности. Установлено, что цитотоксический эффект на рост и размножение клеток оказывали как наночастицы, так и нанокарбоксилаты цинка во всех исследуемых разведениях. Влияние наночастиц железа вызвало появление зернистости и последующее разрушение монослоя FLK-71.

We studied mitotic indexes and amount of pathological mitoses under the influence of iron nanoparticles 1:20, which were lower than in the control group: on the first day mitotic activity was almost 60% less, and in 96 hours – 80% longer compared with the control cells. At the same time iron nanocompounds reduced amount of conglomerates and improved morphological state of the cells. The similar situation was in the variants of cultivation with silver nanoparticles and nanocompounds in all dilutions. Iron nanocompounds reduced the amount of pathological mitosis – on the first day reduced by 1.5 times, on the second day reduced by 1.8 times, and on last day reduced by 2.1 times in comparison with the control. The impact of silver nanocompounds on the last day caused the appearance of grain in the cells cytoplasm. The results of our research have shown beneficial effects of silver nanoparticles and iron nanocompounds. These nanometals can be used in the practice of cultivation cell culture FLK-71 culture to enhance the production of leukemic antigen. We have found cytotoxic effect on the cells growth and proliferation under the influence of zinc nanoparticles and nanocompounds. The effect of iron nanoparticles caused the appearance of grain and subsequent destruction of the FLK-71 monolayer.

Ключевые слова: культура клеток FLK, вирус лейкоза крупного рогатого скота, митотическая активность, реакция иммунодиффузии, нанометаллы.

Keywords: cell culture FLK, bovine leukemia virus, mitotic activity, radial immunodiffusion, nanometals.

Введение. Для практики ветеринарной медицины большое значение имеет эффективная диагностика лейкоза крупного скота. Это хроническое заболевание, при котором интеграция возбудителя в организм восприимчивых животных обуславливает пожизненную персистенцию возбудителя, наносит огромный экономический ущерб. Наряду с выбраковкой серопозитивных животных, экономический урон обусловлен снижением надоев молока у клинически больных и инфицированных коров [1]. Долгие годы методом диагностики лейкоза КРС является реакция иммунодиффузии в агаровом геле – РИД. Простота постановки при высоком уровне специфичности и чувствительности сделали РИД основным диагностиком в борьбе с вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) [2].

Ключевым элементом в постановке этой реакции остается применение лейкозного антигена, продуцент которого – перевиваемая культура клеток FLK-BLV. Культура была получена в 1973 году Vander Maater в США из размягченной эмбриональной почки овцы (fetal lamb kidney), выращенной в монослое. После чего на культуру FLK инокулировали лейкоциты от животных, больных вирусной лимфосаркомой. Повышение выхода вируса лейкоза КРС, вырабатываемого в перевиваемой культуре клеток FLK-BLV, является первоочередной задачей в усовершенствовании технологии получения антигена для РИД [3, 4].

Ввиду активного и широкого внедрения разработок в области нанообъектов и наноструктур стоит вопрос перспективы их использования для нужд ветеринарной медицины и биотехнологии. Нанометаллы, вследствие своих малых размеров, обладают уникальными физико-химическими и биологическими свойствами [5, 6]. Они могут встраиваться в цитоплазматические мембраны эукариотических и прокариотических клеток, проникать в их цитоплазму, вступать во взаимодействие с нуклеиновыми кислотами [7]. Изменения характеристик веществ и материалов в наносоединениях обусловлены не только малыми размерами, но и явлением квантово-механических эффектов при доминирующей роли поверхностей разделения фаз, в результате чего изменяется растворимость, реакционная и каталитическая способности [8, 9]. Однако некоторые литературные данные свидетельствуют, что высокая реакционная активность наночастиц способна приводить к образованию химических соединений с неизвестными свойствами. С одной стороны, эта уникальная особенность открывает широкие возможности технологического использования, а с другой – не исключает вероятность биологических и экологических рисков [10, 11, 12].

Целью наших исследований было сравнительное изучение митотического режима перевиваемой культуры клеток FLK-71 и цитотоксичности наночастиц и наносоединений серебра, цинка и железа.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования являлись клетки сублинии FLK-71, которая входит в Коллекцию культур клеток животного происхождения ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», имеющую статус

Национального достояния Украины с 2004 года. Сублиния FLK-71 представляет собой популяцию клеток, наиболее приближенную по своим цитоморфологическим показателям к культуре клеток FLK-BLV, полученной Ван дер Маатеном в 1974 году.

В исследовании были использованы нанометаллы, а именно Ag размером $31,5 \pm 0,9$ нм, Zn размером 100 ± 10 нм и Fe размером 100 ± 10 нм, которые представляли собой коллоидные дисперсии, а другая часть – Ag размером 30 нм, Zn размером 5-50 нм и Fe размером 5-50 нм – карбоксилаты металлов. Дисперсии наночастиц применяли в разведении от общей концентрации 1:20, 1:100 и 1:200, а карбоксилаты металлов – в разведении 1:10.

Для цитогенетического исследования по определению митотической активности клетки перевиваемой линии FLK-71 в концентрации 220 тыс. клеток в 1 см^3 ростовой среды и сохранностью 95% на 5 пассаже после размораживания высевали на покровные стекла размером 12×24 мм, которые находились в пенициллиновых флаконах объемом 10 см^3 . Культивировали перевиваемую линию FLK-71 в смеси питательных сред Игла DMEM и 199 в равных соотношениях с добавлением 10% сыворотки крови КРС (производства ТОВ «НДП «Ветеринарна медицина», г. Харьков). Флаконы в горизонтальном положении инкубировали в термальной комнате при температуре $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Через сутки культивирования питательную среду заменяли, и на клетки в стадии активного роста вносили наночастицы и наносоединения серебра, цинка и железа каждый отдельно в опытных концентрациях. Влияние нанометаллов исследовали в первые, вторые, третьи, четвертые и пятые сутки их воздействия. В дальнейшем препараты фиксировали на стеклах и окрашивали гематоксилином Караччи в соответствии с общепринятой методикой [13, 14]. Митотическую активность определяли по количеству делящихся клеток, отнесенном к общему числу учтенных клеток (1000), и выражали в промилле (‰). Одновременно определяли количество патологических митозов, а также их отдельных форм по отношению к их общему количеству, которое принимали за 100%.

Исследования цитотоксичности нанометаллов проводили согласно патенту Украины на полезную модель № 45458 от 10.11.2009 г. «Спосіб визначення якості та безпеки водорозчинних речовин за допомогою клітинної тест-системи» [15] в трех повторях. Для этого культуры клеток FLK-71 с посевной концентрацией 220 тыс. клеток в 1 см^3 ростовой среды на 4 пассаже после размораживания высевали в 24-луночные планшеты и культивировали при 37° в CO_2 -инкубаторе.

Через сутки культивирования клеток проводили микроскопирование и на сформировавшийся монослой вносили нанометаллы в заданных концентрациях; одно разведение – в четыре лунки планшета. Для контроля культуры клеток оставляли такое же количество лунок без внесения нанометаллов. За культурой клеток проводили двукратное ежедневное наблюдение в течение 24, 48, 72 и 96 ч. воздействия нанометаллов, сравнивая состояние исследуемых клеток с контролем.

Результаты исследований. Полученные результаты проведенных исследований митотической активности (МА) и процента патологических митозов сублинии FLK-71 под воздействием наночастиц и наносоединений серебра, цинка и железа предоставлены в таблице 1.

По данным таблицы 1 видно, что в вариантах культивирования с добавлением наночастиц серебра 1:20, наносоединений серебра 1:10 и железа 1:10 показатели МА были похожи за все время исследования – $33,50 \pm 0,96$, $33,50 \pm 0,96$ и $34,00 \pm 0,82\%$ в первые сутки, но несколько ниже контроля – $41,75 \pm 1,25\%$. В то же время под влиянием наносоединений железа в разведении 1:10 уменьшался процент патологических митозов – в первые сутки - $11,68 \pm 0,94\%$ - в 1,5 раза по сравнению с контролем - $17,98 \pm 0,58\%$, во вторые – $9,39 \pm 1,30\%$, то есть в 1,8 раза по сравнению с контролем - $17,72 \pm 0,76\%$, а в последние сутки - $9,79 \pm 3,54\%$ – уже в 2,1 раза по сравнению с контролем - $21,05 \pm 3,03\%$. Пики МА клеток контроля и клеток под воздействием железа 1:10 в первые 24 ч. действия достоверно отличались на $7,75\%$. МА клеток в варианте культивирования с цинком в разведении 1:10, 1:100 и 1:200 достоверно подавлялась, и в первые сутки была соответственно в 3,2, 6,7 и 2,1 раза меньше по сравнению с контролем.

Следует отметить, что основной формой патологических митозов во всех вариантах, а также в контроле, были микроядра в большом количестве. Однако именно эта патология свойственна сублинии FLK-71 по паспортным данным. Показатели МА клеток под воздействием наночастиц серебра 1:100 были приближены к контролю в течение всего опыта. При этом процент патологических митозов был ниже - $11,11 \pm 1,29\%$ – меньше в 1,6 раза в первые сутки воздействия относительно контроля - $17,98 \pm 0,58\%$. На рисунках 1 и 2 показаны клетки культуры FLK-71 контрольного варианта и под воздействием наночастиц серебра 1:100 на стадии телофазы митоза.

Таблица 1 – Сравнение митотической активности и процента патологических митозов сублинии FLK-71 под воздействием наночастиц и наносоединений металлов ($M \pm m$, $n=5$)

	Время экспозиции с наночастицами и наносоединениями, ч.									
	24		48		72		96		120	
	Митотическая активность, %	% патологических митозов	Митотическая активность, %	% патологических митозов	Митотическая активность, %	% патологических митозов	Митотическая активность, %	% патологических митозов	Митотическая активность, %	% патологических митозов
Контроль культуры	41,75±1,25	17,98±0,58	33,75±1,18	17,72±0,76	31,25±0,75	18,45±1,70	20,25±0,95	23,52±1,26	9,25±0,63	21,05±3,09
Ag 1:10	33,50±1,26**	11,21±1,39**	31,50±0,96	15,97±1,59	26,75±1,25*	15,41±4,01	16,75±0,85*	13,40±3,67*	6,50±0,29**	23,21±4,60
Ag 1:20	33,50±0,96***	16,26±2,76	31,00±0,58	12,91±2,73	26,00±1,29**	14,49±1,13	17,25±0,95	17,53±2,70	8,50±0,87	30,44±4,60
Ag 1:100	41,75±1,55	11,11±1,29**	34,25±1,03	14,48±1,33	30,75±0,85	12,34±1,27*	21,00±0,71	17,95±1,66*	10,50±1,32	26,66±1,59
Zn 1:10	13,00±1,22***	14,19±2,79	11,75±0,48***	19,01±3,97	10,00±0,41***	12,55±2,52	9,00±1,35***	19,90±5,90	6,00±1,08*	26,90±4,93
Zn 1:100	6,25±0,48***	26,17±9,22	5,50±0,65***	21,90±9,11	4,75±0,75***	35,42±15,32	2,25±0,25***	37,50±23,94	2,00±0,41***	37,50±23,94
Zn 1:200	19,25±0,25***	19,54±1,51	13,25±1,03***	14,96±2,62	7,75±0,75***	29,56±9,59	5,00±1,00***	28,13±10,67	2,50±0,29***	41,67±25,00
Fe 1:10	34,00±0,82***	11,68±0,94***	32,00±0,82	9,39±1,30***	25,50±0,50***	13,62±1,76	18,25±0,85	10,65±3,37**	9,75±0,85	9,79±3,54*
Fe 1:20	17,00±0,91***	14,90±2,12	11,75±0,48***	12,90±2,64	5,75±0,48***	16,90±6,90	4,00±0,00***	-	2,25±0,25***	-
Fe 1:100	37,25±1,65	20,91±1,62	21,25±2,02***	24,44±4,09	11,00±1,47***	21,59±3,34	5,50±0,50***	22,14±8,44	3,25±0,48***	6,25±6,25

Примечание. По сравнению с клетками контрольного варианта: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

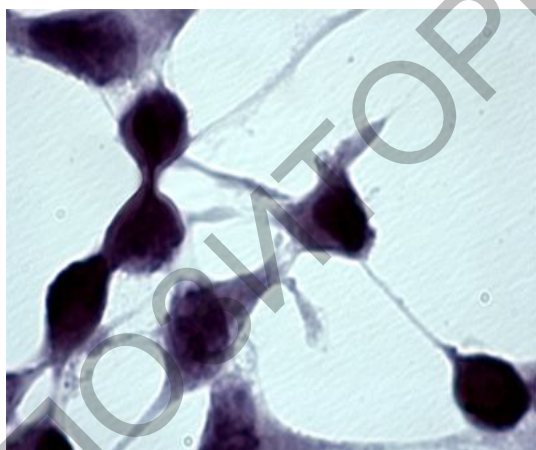


Рисунок 1 – Клетки сублинии FLK-71 (контроль). Телофаза

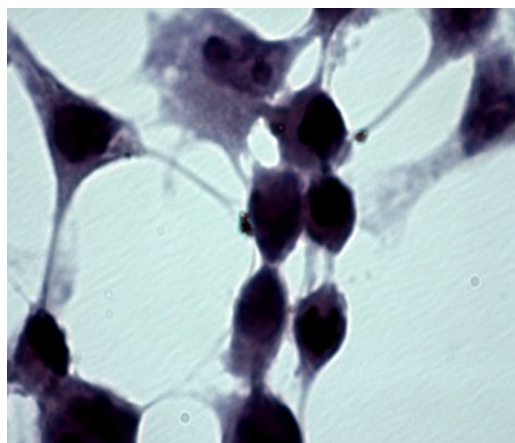


Рисунок 2 – Клетки сублинии FLK-71 под влиянием наночастиц серебра 1:100. Телофаза

В варианте культивирования с наночастицами железа в разведении 1:100 МА в первые сутки воздействия была приближена к контролю (разница всего 4,5%), а затем резко снижалась. Через 96 ч. действия составляла в 3,7 раза меньше, чем в контроле. Показатель МА и процент патологических митозов под действием наночастиц железа 1:20 достоверно были ниже относительно контрольного варианта. Если в первые сутки МА была почти в 2,5 раза меньше по сравнению с клетками контроля, то через 96 ч. – уже в 5 раз.

При проведении исследования на цитотоксичность через 24 ч. культивирования клеток с нанометаллами выявляли в сравнении с контролем (рисунок 3) негативное действие наночастиц и наносоединений цинка во всех опытных разведениях. Цитотоксичность при этом проявлялась в деструкции монослоя, пикнозе, появлении «островков» из отдельных клеток (рисунок 4).

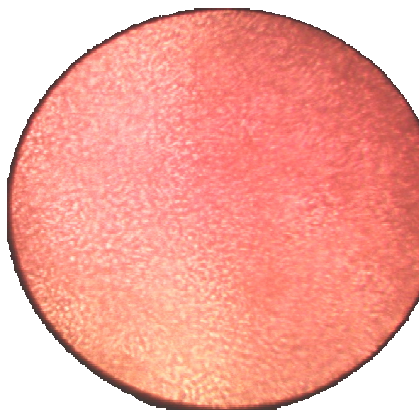


Рисунок 3 – Контроль культуры FLK-71 (48 часов культивирования)

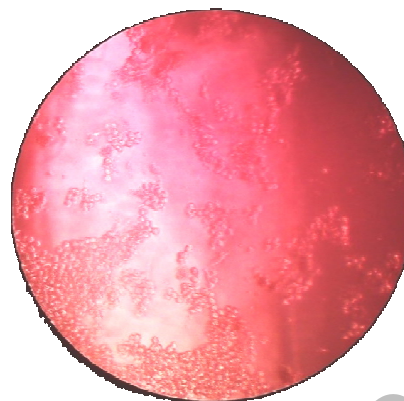


Рисунок 4 – Цитотоксичность наносоединений цинка 1:10 на клетки культуры FLK-71 через 24 часа влияния (48 часов культивирования)

В вариантах культивирования с наночастицами железа 1:20 и 1:100 в клетках обнаруживали зернистость. Монослой под влиянием наносоединений серебра 1:10 и наночастиц серебра во всех опытных разведениях, а также наносоединений железа 1:10 был без морфологических изменений, сходный с контролем.

На вторые сутки действия наночастиц Zn 1:100, Zn 1:200 и наносоединений Zn 1:10 обнаруживали большее число сморщенных клеток и наличие детрита из погибших клеток (рисунок 5). В варианте культивирования с наночастицами железа 1:20 и 1:100 цитотоксичность проявилась в появлении «окон» в монослое и увеличении количества округлых клеток. В то же время монослой под влиянием наносоединений серебра 1:10, наночастиц серебра во всех исследуемых концентрациях, и наносоединений железа 1:10 (рисунок 6) не отличался от контроля, то есть цитотоксический эффект отсутствовал.

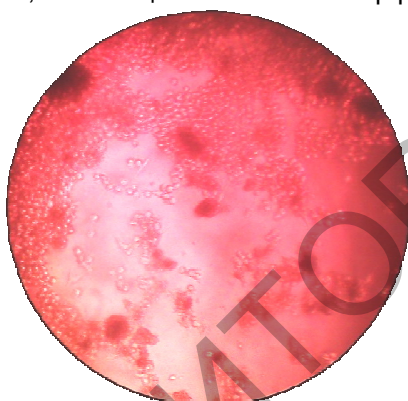


Рисунок 5 – Цитотоксичность наносоединений цинка 1:10 на клетки культуры FLK-71 через 48 часов влияния (72 часа культивирования)

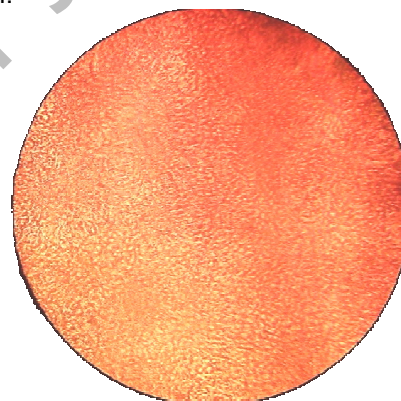


Рисунок 6 – Отсутствие цитотоксичности наносоединений железа 1:10 на клетки культуры FLK-71 через 48 часов влияния (72 часа культивирования)

На четвертые сутки влияния нанометаллов на сублинию FLK-71 выявляли следующие эффекты на клетки: Fe 1:100 (рисунок 7) – монослой разрушен приблизительно на 40-50%, клетки набухшие, нарушены связи между клетками; Zn 1:10, Zn 1:100 и Zn 1:200 – монослой разрушен на 70%, клетки набухшие, наслоение детрита из погибших клеток.

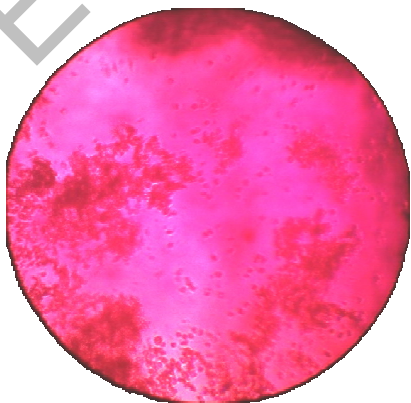


Рисунок 7 – Цитотоксичность наночастиц железа 1:100 на клетки культуры FLK-71 через 96 часов влияния (120 часов культивирования)

В контроле (рисунок 8), в вариантах под. действием наносоединений серебра 1:10, наночастиц серебра во всех разведениях и наносоединений железа 1:10 в клетках наблюдали зернистость, аналогично с предыдущими сутками. В то время, как под. действием серебра 1:20, 1:100 (рисунок 9) и железа 1:10 монослой находился в лучшем морфо-функциональном состоянии, процент зернистости и количество конгломератов были меньше по сравнению с контролем.

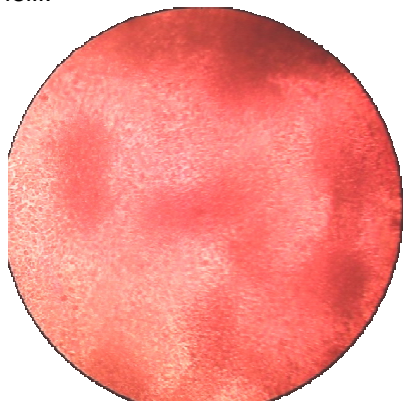


Рисунок 8 – Контроль культуры клеток FLK-71 (120 часов культивирования)

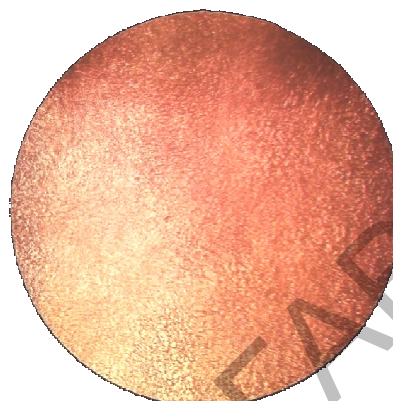


Рисунок 9 – Влияние наночастиц серебра 1:100 на клетки культуры FLK-71 через 96 часов взаимодействия (120 часов культивирования)

Заключение. 1. При анализе влияния наночастиц и наносоединений металлов на цитогенетические показатели сублинии перевиваемой культуры клеток FLK-71 обнаружено, что под воздействием наночастиц серебра 1:100 МА была на одном уровне с контролем за все время исследования. Во всех остальных случаях МА была ниже контроля. При воздействии наночастиц серебра 1:20, наносоединений серебра 1:10 и железа 1:10 показатели МА не отличались друг от друга – $33,50 \pm 0,96$, $33,50 \pm 0,96$ и $34,00 \pm 0,82\%$ соответственно в первые сутки, но были несколько ниже контроля – $41,75 \pm 1,25\%$. Основной формой патологических митозов во всех вариантах, а также в контроле, были микроядра в большом количестве. Под влиянием наносоединений железа в разведении 1:10 уменьшался процент патологических митозов – в последние сутки воздействия этот показатель - $9,79 \pm 3,54\%$ - в 2,1 раза был меньше контроля - $21,05 \pm 3,03\%$. Пики МА клеток под воздействием наносоединений железа 1:10 в первые сутки были достоверно ниже контроля на $7,75\%$.

2. В варианте культивирования клеток с наночастицами железа в разведении 1:100 МА в первые сутки воздействия была на $4,5\%$ ниже контроля с последующим снижением до $3,25 \pm 0,48\%$. На четвертые сутки влияния наночастиц железа в разведении 1:20 МА клеток - $4,00 \pm 0,00\%$ была в 5 раз ниже контроля - $20,25 \pm 0,95\%$. При этом МА и процент патологических форм митозов под действием наночастиц железа 1:20 достоверно были ниже контроля на протяжении всего времени опыта.

3. Воздействие наночастиц и наносоединений цинка в разведении 1:10, 1:100 и 1:200 достоверно угнетали МА каждые сутки влияния соответственно в 3,2; 6,7; и 2,1 раза по сравнению с контролем.

4. При изучении цитотоксического воздействия наночастиц и наносоединений металлов на перевиваемую культуру клеток FLK-71 установлено, что наносоединения железа 1:10 не оказывали цитотоксического действия на исследуемые клетки в культуре. Наночастицы серебра 1:20, 1:100 и наносоединения железа 1:10 улучшали морфо-функциональные показатели FLK-71: процент зернистости и количество конгломератов было меньше, чем в контроле. Наносоединения серебра 1:10 в последние сутки влияния привели к появлению зернистости в цитоплазме исследуемых клеток больше, чем в клетках контроля.

5. Наночастицы железа в разведениях 1:20 и 1:100 негативно влияли на клетки FLK-71 – что проявлялось сначала в виде повышенной зернистости в цитоплазме, а затем - в разрушении около 50-60% монослоя. Наночастицы цинка в разведениях 1:100, 1:200 и его наносоединения в разведении 1:10 оказывали существенный цитотоксический эффект на рост и размножение клеток, проявлявшийся в деструкции монослоя, наслоении клеточного детрита начиная с первых суток воздействия.

Литература. 1. Кузин, А. И. Продуктивность и качество молока у коров при лейкозе [Текст] / А. И. Кузин, Е. Н. Закрепина // Ретровирусные и прионные инфекции животных: науч. тр. — М.: ВНИИЭВ, 1999. — Т. 72. — С. 215–217. 2. Диагностические свойства синтезированного в *Escherichiacoli* рекомбинантного антигена *gp51* вируса лейкоза крупного рогатого скота [Текст] / К. Н. Мукантаев [и др.] // Биотехнология. Теория и практика. — 2013. — № 2. — С. 47–52. 3. Антигенпродукующая активність FLK-клітин в ростових субстратах з нативною та аглобуліновою сироватками крові

великої рогатої худоби [Текст] / Б. Т. Стегній [та ін.] // *Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб.* — Х., 2003. — Вип. 82. — С. 568–570. 4. Van der Maaten, M. J. Replication of bovine leukemia virus in monolayer cultures [Text] / M. J. Van der Maaten, J. M. Miller // *Bibl. Haematol.* — 1976. — Vol. 43. — P. 360–362. 5. Дослідження впливу нанометалів на стан репродуктивної функції в експерименті [Текст] / В. Ф. Шаторна [та ін.] // *Таврійськ. мед.-біол. вісн.* — 2013. — Т. 16, № 1, ч. 1 (61). — С. 246–250. 6. Кутузова, Г. А. Обоснование использования наноматериалов в антисептической практике [Текст] : дис. ... канд. биол. наук / Г. А. Кутузова. — Краснодар, 2013. — 161 с. 7. Наноразмерные биологически активные материалы [Текст] / Г. Э. Фолманис, Л. В. Коваленко, И. П. Арсентьева // *Нанотехнологии.* — 2009. — № 2. — С. 55–60. 8. Шиян, А. А. Влияние нанопорошков оксидов металлов на успех прохождения личиночных стадий развития озёрной лягушки (*RanaridibundaPall*) [Текст] / А. А. Шиян // *Науч. журн. КубГАУ.* — 2011. — № 66(02). — С. 1–11. 9. Глушкова, А. В. Нанотехнологии и нанотоксикология — взгляд на проблему [Текст] / А. В. Глушкова, А. С. Радлов, В. Р. Рембовский // *Токсикол. вестн.* — 2007. — № 6. — С. 4–8. 10. Сычева, Л. П. Генотоксическое действие наноматериалов [Текст] / Л. П. Сычева // *Методологич. пробл. изуч. и оценки био- и нанотехнологий (нановолны, частицы, структуры, процессы, биообъекты) в экологии человека и гигиене окружающей среды : материалы пленума Науч. совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздравоохранения Российской Федерации (Москва, 17–18 дек. 2007 г.).* — М., 2007. — С. 150–154. 11. Яковлева, Г. В. Основные подходы к оценке свойств нанобъектов [Текст] / Г. В. Яковлева, А. А. Стехина // *Методологич. пробл. изуч. и оценки био- и нанотехнологий (нановолны, частицы, структуры, процессы, биообъекты) в экологии человека и гигиене окружающей среды : материалы пленума Науч. совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздравоохранения Российской Федерации (Москва, 17–18 дек. 2007 г.).* — М., 2007. — С. 174–177. 12. Стегній М. Ю. Цитогенетичні характеристики сублінійперещеплюваної культури клітин FLK 50/100 під впливом наночасток Аргентуму та Цинку [Текст] // М. Ю. Стегній, Д. Ю. Магац, О. М. Юрченко // *Ветеринарна медицина : міжвід. темат. наук. збірник* — Х. 2014. — Вип. 99. — С. 182-186. 13. Методичні рекомендації щодо цитогенетичного контролю якості культур клітин тваринного походження [Текст] / Б. Т. Стегній [та ін.]. — Х., 2008. — 29 с. 14. Животная клетка в культуре : (методы и применение в биотехнологии) [Текст] / Г. Т. Акиншина [и др.] ; под общ.ред. Л. П. Дьяконова ; Рос. акад. с.-х. наук. — Москва : Спутник+, 2009. — 652 с. 15. Деклараційний патент на корисну модель № 45458 Україна, МПК (2009) G01N 33/15. Спосіб визначення якості та безпеки водорозчинних речовин за допомогою клітинної тест-системи [Текст] / Стегній Б. Т. [та ін.] (Україна) ; заявник і правовласник Нац. наук. центр «Ін-т експерим. і клініч. вет. медицини». — № u200905847 ; заявл. 09.06.09 ; опубл. 10.11.09, бюл. № 1. — 4 с.

Статья передана в печать 12.08.2016 г.

УДК 611.441:599.735.3

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ВОЗРАСТНОЙ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЕВРОПЕЙСКОЙ КОСУЛИ

Федотов Д.Н.

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

В результате проведения многолетних морфологических исследований установлены возрастные особенности гистологического строения щитовидной железы у европейской косули в постнатальном онтогенезе.

As a result of many years of morphological studies on age characteristics of the histological structure of the thyroid gland in the European roe deer in postnatal ontogenesis.

Ключевые слова: щитовидная железа, косуля, онтогенез, морфология.

Keywords: thyroid, roe, ontogeny, morphology.

Введение. Изучением биологии европейских косуль занималось много ученых, но научной литературы, посвященной морфологии щитовидной железы в морфометрической динамике у косуль в возрастном аспекте в условиях обитания Республики Беларусь, мы не обнаружили. Поэтому с целью важного вклада в углубление и расширение научных знаний сравнительной, возрастной и видовой морфологии, прикладной ветеринарной эндокринологии, необходима детализация всех онтогенетических специфик морфофизиологических процессов адаптации, развивающихся в организме европейской косули под воздействием экологических факторов в конкретных условиях обитания [1, 3].

Цель исследований — выявить морфологические перестройки щитовидной железы в постнатальном онтогенезе европейской косули.