

Толщина мелких междольковых трабекул поджелудочной железы претерпевает небольшие изменения в процессе онтогенеза енотовидной собаки. В возрасте до 1 года толщина мелких междольковых прослоек составляет $24,58 \pm 1,44$ мкм, далее в возрасте 1-2 лет наблюдается наибольший рост данного показателя до $26,87 \pm 1,03$, что на 9,32% больше по отношению к животным 1 группы, после наблюдается незначительное увеличение данного показателя в группе животных 3-4 и 5-6 лет до $27,01 \pm 0,91$ мкм и $27,56 \pm 0,93$ мкм соответственно. Суммарный рост толщины мелких междольковых трабекул составляет 12,12%.

Толщина внутридольковых трабекул, также, как и толщина мелких междольковых трабекул, в процессе онтогенеза изменяется незначительно. У енотовидных собак до 1 года толщина внутридольковых прослоек составляет $7,60 \pm 0,65$ мкм, далее в возрасте 1-2 лет наблюдается рост до $8,03 \pm 0,56$ мкм, рост составил 5,52%. У группы животных 3-4 лет наблюдается увеличение данного показателя на 5,85% до $8,5 \pm 0,43$ мкм соответственно, далее отмечается наибольший рост данного показателя на 11,53% до $9,48 \pm 0,61$ мкм у животных возрастом 5-6 лет. Суммарный рост толщины внутридольковых трабекул составляет 24,57%.

Заключение. Таким образом, впервые установлено, что у енотовидной собаки, обитающей на загрязненной радионуклидами территории белорусского сектора зоны отчуждения Чернобыльской АЭС, морфогенез стромальных элементов поджелудочной железы зависит от возраста. Наивысшие показатели наблюдаются при достижении енотовидными собаками возраста 5-6 лет. Наши оригинальные исследования имеют научную новизну и являются актуальными для понятия морфогенеза поджелудочной железы у млекопитающих в зоне снятия антропогенной нагрузки и при действии на организм радиоактивного загрязнения.

Литература. 1. Федотов, Д. Н. Морфологическое состояние эндокринных желез и содержание радионуклидов в организме енотовидной собаки в условиях территории белорусского сектора зоны отчуждения / Д. Н. Федотов, М. П. Кучинский, И. С. Юрченко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – Витебск, 2018. – Т. 54, вып. 2. – С. 72–76. 2. Федотов, Д. Н. Гистология органов пищеварения: учебно-методическое пособие для студентов биотехнологического факультета по специальностям «Ветеринарная санитария и экспертиза» и «Ветеринарная фармация» / Д. Н. Федотов; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2013. – 28 с. 3. Федотов, Д. Н. Гистология диких животных: монография / Д. Н. Федотов. – Витебск: ВГАВМ, 2020. – 212 с. 4. *Nomina histological veterinararia: International Committee on Veterinary Histological Nomenclature.* – Leipzig: World Association of Veterinary Anatomist, 2017. – 66 p.

Поступила в редакцию 03.09.2021.

УДК 620.3:619

СТАБИЛЬНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРНО-ВРЕМЕННЫХ РЕЖИМАХ

Корочкин Р.Б., Красочко П.А., Красочко П.П., Гвоздев С.Н., Понаськов М.А.

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

*Наночастицы металлов и других компонентов стали настоящей альтернативой применения в качестве антимикробных препаратов в последнее время. Кроме того, доказана высокая цитотоксическая и вирулицидная активность наночастиц, что значительно расширяет специфику и ассортимент лабораторных экспериментов с их использованием. Во многих случаях длительность этих экспериментов составляет продолжительный срок, хотя коллоидная стабильность наночастиц при длительных условиях хранения в неоптимальных температурных режимах не установлена. В настоящей статье авторы предлагают надежный метод оценки стабильности коллоидов наночастиц на основе УФ-ВС спектроскопии и вырабатывают оптимальные сроки проведения биологических экспериментов с использованием наночастиц. **Ключевые слова:** наночастицы, УФ-ВС спектроскопия, плазмонный резонанс, коллоидный раствор, стабильность.*

STABILITY OF SILVER NANOPARTICLES AT DIFFERENT TEMPERATURE-TIME CONDITIONS

Korachkin R.B., Krasochko P.A., Krasochko P.P., Hvozdzew S.N., Ponaskov M.A.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*Metal nanoparticles and other nanocomponents have become a real alternative as antimicrobial agents recently. In addition, their high cytotoxic and virucidal activity has been proven, which significantly expands the specificity and range of laboratory experiments in biology. In many cases, the duration of these experiments is long, although the colloidal stability of the nanoparticles under long-term storage conditions outside the optimal temperature conditions has not been established. In this article, the authors propose a reliable method for assessing the stability of colloids of nanoparticles based on UV-Vis spectroscopy and develop optimal terms for conducting biological experiments using nanoparticles. **Keywords:** nanoparticles, UV-VS spectroscopy, plasmon resonance, colloidal solution, stability.*

Введение. Современные достижения нанотехнологий позволили внедрить наночастицы металлов и других компонентов во многие сферы деятельности человека. Сами по себе наночастицы в настоящее время рассматриваются как новый класс веществ, физический размер которых значительно меньше объемных материалов, но превышает таковой ионов. Считается, что их размер составляет менее 100 нм, однако их можно увидеть как физические объекты в электронном микроскопе.

Из всего разнообразия компонентов наночастицы серебра привлекли наибольшее внимание ученых своими особыми физико-химическими свойствами, в том числе их отличной электрической и теплопроводностью, уникальными оптическими характеристиками, а также доказанной антимикробной активностью [1]. Наночастицы серебра все чаще включают в состав таких продуктов потребительских товаров, как дезинфицирующие спреи, стиральные порошки, фильтры для очистки воды и воздуха, зубные пасты и дезодоранты.

Все используемые в практической деятельности продукты на основе наночастиц предназначены для длительного пользования. Однако существует ряд проблем, которые могут повлиять на эффективность действия наночастиц в течение длительного периода времени. Считается, что ионы металла медленно элюируются с поверхности наночастиц, поэтому антимикробная активность сильно зависит от скорости их доставки к мишени при желаемом достижении бактерицидности нановеществ. Так как наночастицы подвержены агрегации в процессе хранения, их ожидаемые свойства могут существенно изменяться со временем: в частности, полезные качества – теряться, а отрицательные свойства, наоборот, увеличиваться. Деградация или агрегация наночастиц серебра с течением времени может влиять на их влияние на клеточную токсичность, антимикробную активность и влияние на окружающую среду (экоотоксичность).

В наших предыдущих опытах мы продемонстрировали, что УФ-ВС (Ультрафиолет/Видимый свет) спектроскопия является очень удобным и быстрым методом оценки физических характеристик коллоидных растворов наночастиц. Считается, что наночастицы металлов в коллоидном состоянии придают раствору сильные плазмонные характеристики, определяемые по наличию пика плазмонного резонанса при спектроскопии. Нами было показано, что данная оптическая особенность свойственна не только наночастицам металлов, но также проявляется у наночастиц неметаллической природы, хотя ее выраженность наиболее сильная у благородных металлов. В мировой практике факт обнаружения плазмонного резонанса ярко свидетельствует о наноразмерности частиц, составляющих дисперсную фазу в коллоиде.

Некоторыми авторами [4] утверждается, что положение полосы плазмонного резонанса демонстрирует исключительную зависимость от размера для наночастиц серебра. В частности, при уменьшении размер наночастиц с 20 до 12 нм плазмонный резонанс постепенно смещается в голубую область спектра, что, по мнению других авторов [5], объясняется эффектом радиационной деполаризации, возникающей при несоответствии размера наночастиц с величиной длины волны. При дальнейшем уменьшении размера наночастиц с 12 до 2 нм, наоборот, происходит значительный красный сдвиг. Было высказано предположение, что это связано с пониженной проводимостью во внешнем металлическом слое из-за поверхностных взаимодействий дисперсной фазы с дисперсионной средой [4].

На интенсивность и положение пика плазмонного резонанса могут также влиять многие другие факторы, включая морфологию, состав и химические свойства поверхности наночастиц и дисперсионной среды, поэтому в этом исследовании мы не пытаемся устанавливать размер наночастиц и зависимость положения пика плазмонного резонанса от размера и формы наночастиц. Вместо этого наличие и выраженность плазмонного резонанса использовались нами для оценки коллоидной стабильности наночастиц, поскольку эта оптическая характеристика остается неизменной при сохранении дисперсности раствора.

Материалы и методы исследований. В наших опытах мы предприняли попытку оценить коллоидную стабильность водного раствора наночастиц серебра при разных температурных режимах. В качестве таковых мы выбрали условия хранения коллоидного раствора наночастиц при 4°C, 20-22°C (далее – комнатной температуре) и 37°C, как наиболее часто встречающихся режимах в лабораторной практике. В качестве испытуемого образца нами использовался промышленно выпускаемый образец раствора наночастиц серебра, гидродинамический размер которых лежит в пределах 10–40 нм. Образец коллоидного раствора имел неистекший срок годности и отвечал всем заявляемым в инструкции внешним характеристикам.

Стабильность раствора оценивали путем УФ-ВС спектроскопии с использованием спектрофотометра Nanon I3 (Китай) на нескольких длинах волн (нм): 300, 320, 340, 360, 380, 400, 405, 410, 415, 420, 440, 480, 500, 600, 700, 800. Неравномерность распределения длин волн в исследуемом диапазоне определялась тем фактом, что в наших предыдущих исследованиях пик плазмонного резонанса раствора наночастиц серебра обнаруживался в пределах 360-500 нм.

Основными временными режимами нами были выбраны следующие сроки хранения раствора при выбранных температурах: 1-й день, 7-й день, 17-й день, 24-й день. Мы решили ограничиться временным максимумом в 3,5 недели (24 дня) по той причине, что в биологических исследованиях с

использованием клеточных культур продолжительность культивирования редко превышает данный интервал.

Результаты исследований. На начальном этапе нашей серии опытов нами сняты оптические характеристики коллоидного раствора наночастиц серебра. По внешнему виду имеющийся раствор имел бурю окраску, что указывало на очевидные его плазмонные характеристики. По заявлению производителя размер наночастиц лежал в пределах от 10 до 40 нм, давность его производства составляла 2–4 мес., то есть соответствовала сроку годности продукта.

После получения показателей абсорбции света коллоидного раствора наночастиц серебра при разных длинах волн нами построен график кривой оптических свойств раствора (рисунок 1), который был подвергнут анализу.

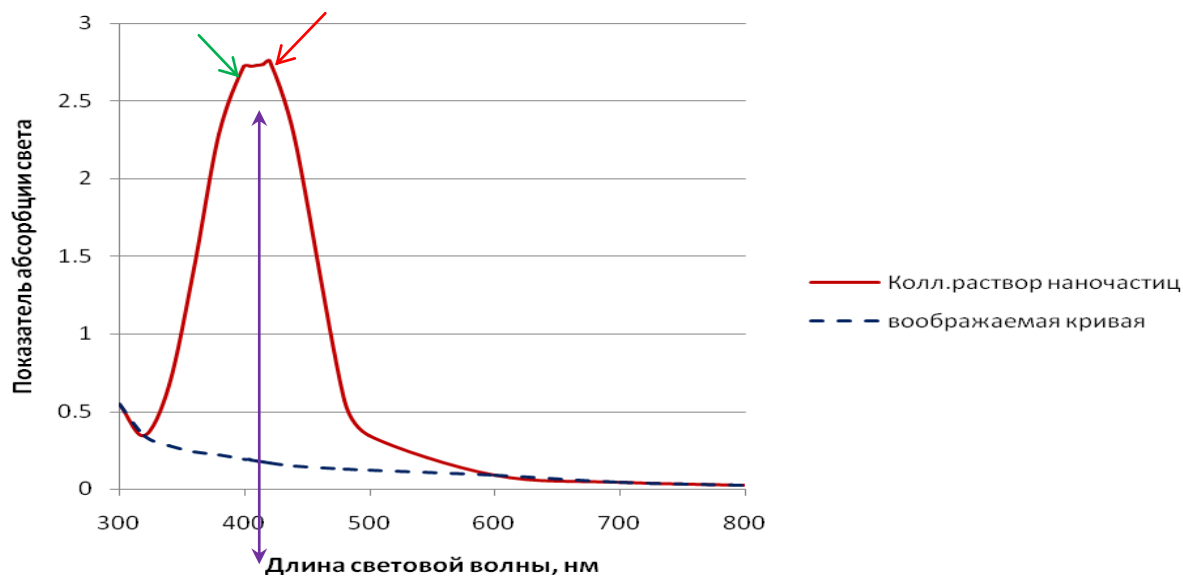


Рисунок 1 - Спектрофотометрические характеристики коллоидного раствора наночастиц серебра

Спектрофотометрия инструментально подтвердила очевидные плазмонные свойства коллоидного раствора, что доказывает присутствие в нем наноразмерных частиц. На это указывает ярко выраженный пик плазмонного резонанса, создаваемый наночастицами, приходящийся на длину волны 420 нм (правая стрелка на рисунке 1). В целом считается, что ширина плазмонного резонанса на графике в основании колоколообразного выступа, подобного Гауссовой кривой, указывает на большее распределение наночастиц по размерам, и, кроме того, интенсивность плазмонного резонанса уменьшается с уменьшением размера наночастиц [2].

Для визуализации пика плазмонного резонанса на графике мы создали воображаемую кривую (пунктиром на рисунке 1) оптических характеристик раствора без выраженных плазмонных свойств. Несмотря на ее субъективность, она дает представление о величине пика плазмонного резонанса (обозначен двенаправленной вертикальной стрелкой) в испытуемом коллоидном растворе наночастиц. Кроме того, в графике кривой обнаруживается другая характеристика, свойственная многим коллоидным растворам наночастиц, — так называемое «плечо» (левая стрелка на рисунке 1).

Подробно физическая природа данных оптических феноменов изучена в некоторых работах [3, 4]. Согласно этим источникам, сам пик поглощения света создается резонансным колебанием электронов на поверхности наночастиц. Подобное разделение пика на составляющие было замечено в приведенных литературных источниках, а обнаружение «плеча» на графике может свидетельствовать о наличии в растворе продуктов начала диссоциации наночастиц. В частности, согласно авторам этих работ, очень маленькие наночастицы, например, Ag_2 или Ag_3 , могут быть ответственны за этот второй пик. Кроме того, гидроксидные соединения, например $AgOH$, также могут вносить вклад в появление этого оптического феномена, так как исследуемый нами образец представляет собой коллоидный водный раствор, в котором количество воды превышает количество наночастиц серебра.

Несмотря на то, что невозможно определить, какие именно частицы или химические процессы могут быть ответственны за появление второго спектрального признака, его эволюция в дальнейшем нами была отслежена, так как спектроскопические свойства коллоидного раствора отражают его стабильность. В последующем определение причины происхождения плеча представляло бы научный интерес.

На следующем этапе мы провели наблюдение характера изменения спектроскопических характеристик коллоидного раствора наночастиц серебра при его хранении в трех температурных

условиях — 4°C, комнатная температура, 37°C, так как данные температурные условия соответствуют наиболее часто используемым в лабораторных условиях. Показатели абсорбции света тестируемого образца коллоидного раствора наночастиц серебра снимали на спектрофотометре в 1-й, 7-й, 17-й и 24-й дни хранения. Результаты измерений внесены в таблицы 1–3.

Таблица 1 - Значения показателей абсорбции света коллоидных растворов наночастиц серебра при температуре 4°C

Длина волны света (λ)	Дни хранения проб образца			
	1-й день	7-й день	17-й день	24-й день
300	0,548	0,518	0,509	0,499
320	0,344	0,305	0,308	0,312
340	0,669	0,563	0,587	0,592
360	1,42	1,332	1,29	1,342
380	2,284	2,195	2,186	2,184
400	2,722	2,702	2,704	2,686
405	2,725	2,713	2,689	2,706
410	2,728	2,718	2,677	2,682
415	2,735	2,722	2,714	2,707
420	2,756	2,684	2,634	2,671
440	2,261	2,204	2,211	2,173
480	0,574	0,489	0,486	0,482
500	0,345	0,343	0,344	0,345
600	0,089	0,084	0,082	0,084
700	0,045	0,045	0,042	0,037
800	0,026	0,026	0,022	0,018

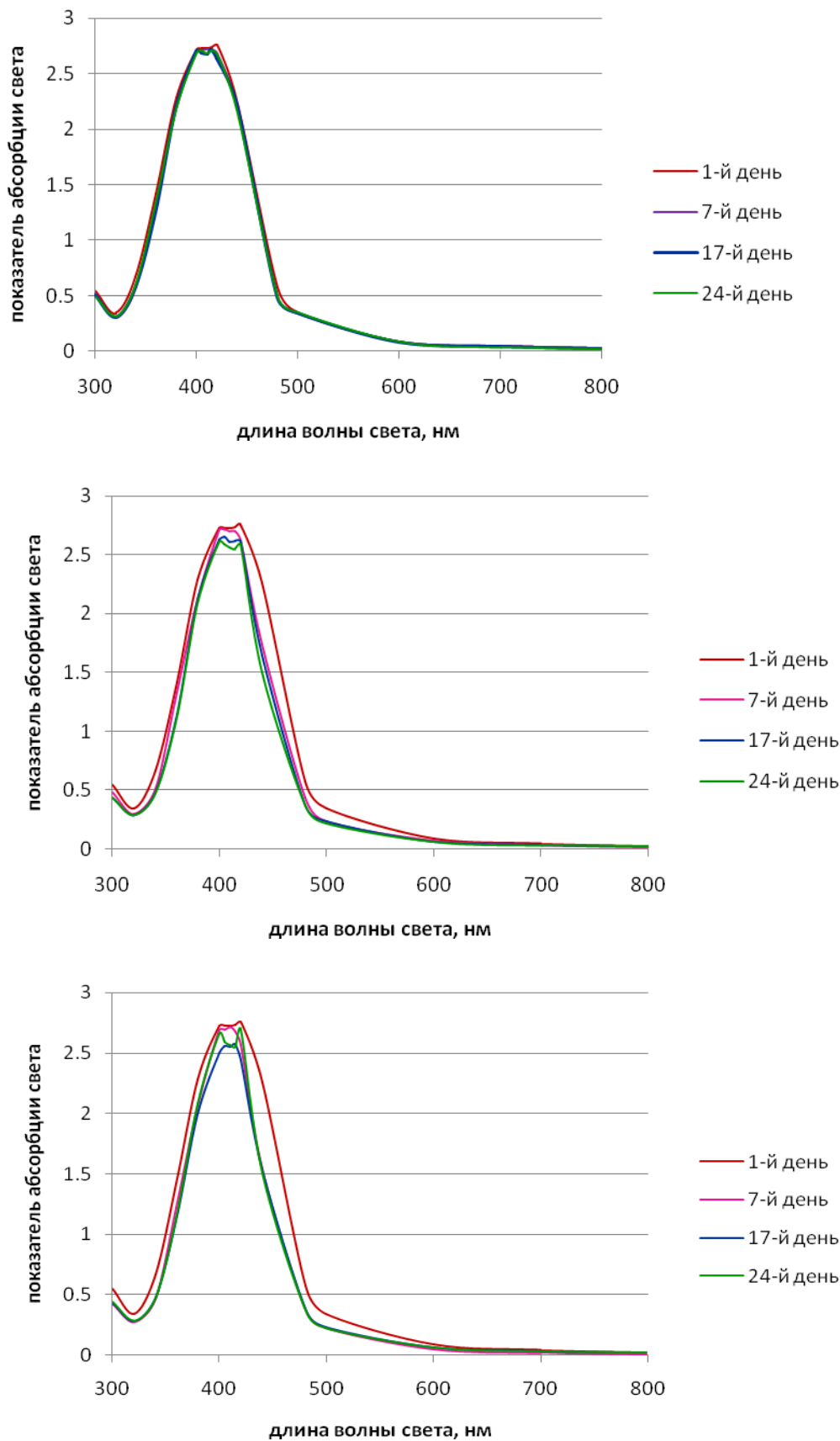
Таблица 2 - Значения показателей абсорбции света коллоидных растворов наночастиц серебра при комнатной температуре

Длина волны света (λ)	Дни хранения проб образца			
	1-й день	7-й день	17-й день	24-й день
300	0,548	0,484	0,441	0,437
320	0,344	0,297	0,288	0,289
340	0,669	0,514	0,479	0,473
360	1,42	1,337	1,139	1,123
380	2,284	2,125	2,116	2,085
400	2,722	2,712	2,623	2,611
405	2,725	2,717	2,657	2,592
410	2,728	2,701	2,611	2,566
415	2,735	2,698	2,62	2,55
420	2,756	2,623	2,615	2,591
440	2,261	1,734	1,647	1,502
480	0,574	0,436	0,372	0,374
500	0,345	0,233	0,232	0,221
600	0,089	0,071	0,064	0,059
700	0,045	0,032	0,034	0,032
800	0,026	0,016	0,022	0,023

Таблица 3 – Значения показателей абсорбции света коллоидных растворов наночастиц серебра при температуре 37°C

Длина волны света (λ)	Дни хранения проб образца			
	1-й день	7-й день	17-й день	24-й день
300	0,548	0,427	0,435	0,444
320	0,344	0,273	0,281	0,285
340	0,669	0,468	0,48	0,475
360	1,42	1,224	1,121	1,136
380	2,284	2,067	1,996	2,085
400	2,722	2,691	2,498	2,661
405	2,725	2,695	2,557	2,592
410	2,728	2,717	2,552	2,566
415	2,735	2,674	2,57	2,55
420	2,756	2,568	2,444	2,691
440	2,261	1,538	1,533	1,502
480	0,574	0,373	0,38	0,374
500	0,345	0,223	0,232	0,228
600	0,089	0,052	0,064	0,062
700	0,045	0,021	0,034	0,032
800	0,026	0,011	0,022	0,023

На основании полученных данных спектрометрии были построены графики, которые позволили визуализировать изменение оптических характеристик коллоидного раствора наночастиц серебра при разных температурных режимах (рисунки 2–4).



Рисунки 2–4 - Спектрофотометрические характеристики коллоидного раствора наночастиц серебра при различных температурах хранения (4°C, комнатная температура, 37°C)

На представленных рисунках 2–4 образы всех кривых можно признать приблизительно соответствующими образу Гауссовой кривой на промежутке значений длин волн (по оси абсцисс) 340–480 нм, что очевидно указывает на сохранение плазмонных характеристик испытуемого образца коллоида на протяжении всего срока эксперимента (24 дня). На этом основании можно заключить, что при всех температурных режимах хранения раствора наночастиц серебра сохраняются их наноразмерные характеристики. Тем не менее более детальный анализ графиков позволяет сделать выводы о некоторых изменениях в степени однородности коллоидов, на что указывают изменения в образе построенных кривых.

Более однородный характер коллоидный раствор наночастиц серебра сохраняет при 4°C. На это указывает практически полная совпадаемость четырех кривых на рисунке 2. При хранении коллоида при комнатной температуре все четыре кривые, соответствующие разным дням постановки опыта, сохраняют заметное подобие друг другу с незначительной тенденцией снижения величины пика плазмонного резонанса к 24-му дню опыта.

Наиболее выраженные изменения в оптических характеристиках раствора наночастиц отмечаются в условиях хранения при 37°C. Как известно, данная температура соответствует основному температурному режиму инкубатора (термостата) для бактериальных и клеточных культур, что дает основание выдвинуть предположение о предельных сроках постановки экспериментов на бактериальных и животных клетках с использованием наночастиц. Для более детального анализа спектроскопических свойств коллоида в условиях хранения при 37°C из графика был вырезан фрагмент, соответствующий пику плазмонного резонанса, и после укрупнения представлен на рисунке 5.

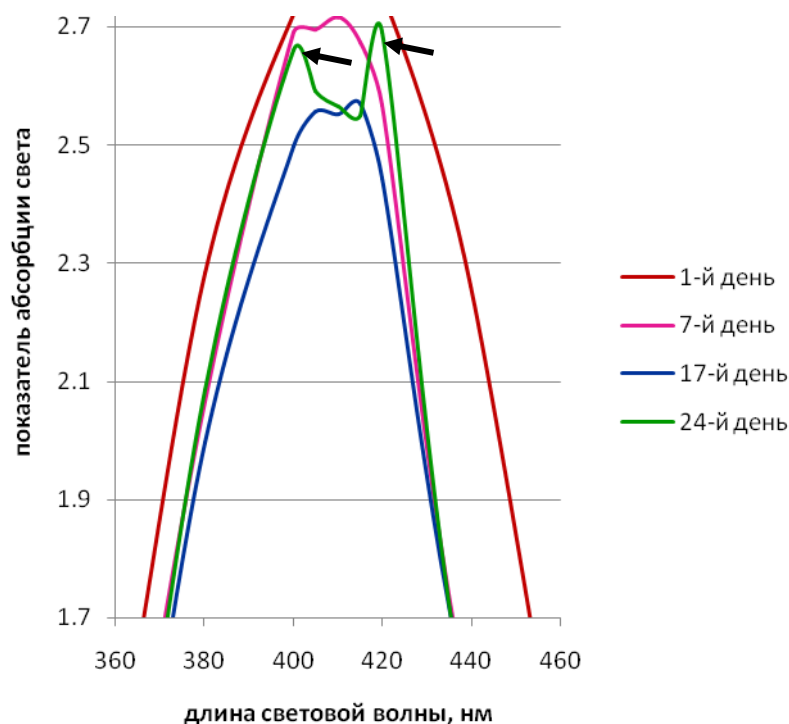


Рисунок 5 - Фрагмент графика кривой плазмонного резонанса коллоидного раствора наночастиц серебра при хранении при температуре 37°C

Несмотря на то, что во всех фрагментах кривых очевидно наличие пика плазмонного резонанса в спектроскопических характеристиках коллоида, при увеличении длительности его хранения при 37°C по изменению образа кривых на промежутке от 390 до 430 нм можно сделать вывод об изменении физических параметров раствора к 24-му дню опыта. Как видно на рисунке 5, исходный коллоидный раствор наночастиц (1-й день хранения) имеет выраженный пик плазмонного резонанса, приходящийся на длину света 420 нм. Также в данной кривой заметно присутствие незначительного плеча, смещенного в голубую область по отношению к плазмонному пику поглощения (около 400 нм). Данный феномен идентичен абсолютно на всех кривых, отражающих спектроскопические характеристики коллоида на 1-й день хранения при всех температурных режимах. Возможная природа данной оптической аномалии представлена чуть выше.

При дальнейшем хранении коллоидного раствора наночастиц в термостате (37°C) можно заметить снижение выраженности пика плазмонного резонанса и некоторые изменения разницы

между максимумами основного пика и плеча на 7-й и 17-й дни опыта, что может свидетельствовать о разрушении однородности наночастиц в коллоиде.

Наибольшие изменения в спектроскопических свойствах коллоида отмечаются при хранении в термостате (37°C) на 24-й день опыта. На представленной кривой отмечается очевидное наличие сразу двух пиков на длинах волн 400 и 420 нм соответственно (обозначены стрелками). Причем величина основного пика превышает максимум плеча всего лишь на 1,11% в абсолютном выражении показателя абсорбции света на указанных длинах (не соответствует визуальному восприятию на рисунке 5 по причине исключения нижней части графика). Данный оптический феномен указывает на значительную диссоциацию наночастиц к 24-му дню хранения коллоида при 37°C, в результате чего агрегатное состояние и однородность наночастиц в данных условиях может не соответствовать их исходному состоянию в начале эксперимента.

Заключение. На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Наличие плазмонного резонанса при спектроскопии коллоидных растворов является доказательным свидетельством наноразмерности дисперсной фазы и наиболее выражено у наночастиц металлов.

2. Острота пика плазмонного резонанса на графике спектроскопии коллоидного раствора соответствует однородности наночастиц в дисперсной системе, а его разделение на несколько максимумов свидетельствует о потере гомогенности дисперсной фазой.

3. Коллоидный раствор наночастиц серебра практически не теряет своих физических свойств при хранении в холодильнике (4°C) в течение основного срока проведения лабораторных биологических исследований (до 24-х суток), однако при хранении в условиях более высоких температур (комнатной и температуре термостата) возможна постепенная деградация коллоидных растворов наночастиц.

4. С целью достоверного получения ожидаемых биологических эффектов на клеточные культуры с использованием наночастиц мы рекомендуем ограничить использование их коллоидных растворов сроком в 17 суток.

Литература. 1. Изучение антибактериальных свойств коллоидных растворов наночастиц серебра и меди / П. А. Красочко, Р. Б. Корочкин, А. В. Притыченко, М. А. Понаськов // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2019. – № 1. – С. 41–44. 2. Kreibig, U. Optical absorption of small metallic particles / U. Kreibig, L. Genzel // Surface Science. – Elsevier, 1985. – Vol. 156. – P. 678–700. 3. Lecoultré, S. Efficient trapping of silver cations in a rare gas matrix: Ag 3+ in argon / S. Lecoultré, A. Rydlo, C. Félix // Journal of Chemical Physics, AIP Publishing LLC. – 2007. – Vol. 126, Issue 20. P. 3–7. 4. Reversing the size-dependence of surface plasmon resonances / S. Peng [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. National Academy of Sciences. – 2020. – Vol. 107, Issue 33. – P. 14530–1454. 5. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment / K. L. Kelly [et al.] // The Journal of Physical Chemistry, American Chemical Society. – 2002. – Vol. 107, Issue 3. – P. 668–677.

Поступила в редакцию 16.09.2021.

УДК 616.36-004:[616-091.8]

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕЖДОЛЬКОВЫХ ВЕН И АРТЕРИЙ ПРИ ТИОАЦЕТАМИД-ИНДУЦИРОВАННОМ ФИБРОГЕНЕЗЕ ПЕЧЕНИ КРЫС

*Лебедева Е.И., *Щастный А.Т., **Красочко П.А., ***Бабенко А.С.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,

г. Витебск, Республика Беларусь

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

г. Витебск, Республика Беларусь

***УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

В результате проведенного исследования доказано, что степень фиброза/цирроза значимо влияет на площадь междольковых вен. На стадии тотального цирроза их площадь достоверно увеличилась в 72,00 раза. В ходе эксперимента представилось возможным описать математическим нелинейным уравнением зависимость площади междольковых вен от стадии фиброза/цирроза, что позволяет прогнозировать дальнейший ход исследуемых процессов.

Установлен прогрессирующий ангиогенез в портальных зонах и соединительнотканых септах, который проявлялся формированием множества венул и мелких вен.

*На стадиях F3 (фиброз), F5 (трансформация фиброза в цирроз), F6 (достоверный цирроз) выявлено увеличение показателя индекса Керногана, а стадии F1, F2, F4 определяются как стадии замедленного изменения исследуемых показателей, на которых, вероятно, берут верх компенсаторно-приспособительные реакции. **Ключевые слова:** крысы Wistar, фиброгенез печени, междольковые вены, междольковые артерии, морфометрические характеристики.*