

УДК 619:615.37:612.112

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, ЦИНКА И МЕДИ НА ФАГОЦИТАРНУЮ АКТИВНОСТЬ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ ЖИВОТНЫХ

*Красочко П.А., **Ярыгина Е.И., *Красочко И.А., ***Борисовец Д.С., ***Станкуть А.Э., ***Струк М.С., *Смоляк Я.А., *Михневич А.В., **Видрашко М.

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

**ФГБОУВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина», г. Москва, Российская Федерация

***РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

*Проведены исследования по изучению влияния наночастиц цинка, серебра и сплава меди и серебра на фагоцитарную активность гранулоцитов (нейтрофилов и моноцитов) крови кролика. Установлено, что при введении наночастиц в организм лабораторных животных происходит активизация клеточного иммунитета. Так, наночастицы цинка Zn (100 и 50 мкг/мл) и сплава серебра с медью Cu+Ag (100 мкг/мл) активизируют фагоцитарное число и фагоцитарный индекс. Отмечено, что при введении кроликам наночастиц цинка в концентрации 100 мкг/мл отмечено увеличение фагоцитарного индекса (показателя, отвечающего за количество частиц, поглощенных одним фагоцитом) с $2,74 \pm 0,4$ до $7,06 \pm 1,9$, меди с серебром - с $2,47 \pm 0,2$ до $5,2 \pm 0,9$, серебра - с $2,63 \pm 0,9$ до $5,4 \pm 1,32$. Фагоцитарное число, которое отображает процент фагоцитов, способных к активному захвату чужеродных иммунной системе частиц повышалось значительно меньше - на 2-5%. **Ключевые слова:** иммунитет, наночастицы, серебро, медь, цинк, фагоцитоз.*

INFLUENCE OF NANOPARTICLES OF SILVER, ZINC AND COPPER ON PHAGOCYtic ACTIVITY OF MONONUCLEAR LEUKOCYTES OF ANIMALS

*Krasochko P.A., **Yarigina E.I., *Krasochko I.A., ***Borisovets D.S., ***Stankut A.E., ***Struk M.S., *Smolyak Ya.A., *Mikhnevich A.V., **Vidrashko M.

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

**Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russian Federation

***Institute of an Experimental Veterinary Medicine named after S.N. Vyshellessky, Minsk, Republic of Belarus

*The conducted research on studying of influence of nanoparticles of zinc, silver and alloy of copper and silver on the phagocytic activity of granulocytes (neutrophils and monocytes) in the blood of the rabbit. It is established that the introduction of nanoparticles in the organism of laboratory animals activates cellular immunity. So, nanoparticles of Zn (100 and 50 $\mu\text{g/ml}$) and of silver alloy with copper Cu+Ag (100 $\mu\text{g/ml}$) stimulate the phagocytic number and phagocytic index. It is noted that the introduction of rabbits nanoparticles of zinc at a concentration of 100 $\mu\text{g/ml}$ recorded an increase Fagoting index (the index that determines the number of particles, absorbed by a single phagocyte) from 2.74 ± 0.4 to 7.06 ± 1.9 , copper silver - from 2.47, with a 0.2 to 5.2 ± 0.9 and silver - from 2.63 ± 0.9 to 5.4 ± 1.32 . Phagocytic number, which displays the percentage of phagocytes capable of active capture alien immune system of particles increased much less - by 2-5%. **Keywords:** immunity, nanoparticles, silver, copper, zinc, phagocytosis.*

Введение. В последние годы нанотехнологии все прочнее укореняются во всех сферах жизнедеятельности человека и животных. Использование достижений нанопрогресса позволяет применять различные наноструктуры в традиционных методах лечения разнообразных патологий.

За последнее десятилетие в научно-технических кругах практически всех развитых стран мира получили понимание и значимость наноматериалы и нанотехнологии как факторы, обладающие огромным потенциалом для дальнейшего развития науки и техники. В то же время широкомасштабному их внедрению способствует открытие уникальных свойств наночастиц металлов и воздействие их на качество среды обитания человека, сельскохозяйственной продукции, животный и растительный мир. Это связано с особенностью наночастиц и наноматериалов, так как они легче вступают в химические превращения, чем более крупные объекты того же состава, поэтому они способны образовывать комплексные соединения с неизвестными ранее свойствами. Наночастицы благодаря своим малым размерам легко проникают в организм человека и животных через защитные барьеры (эпителий, слизистые оболочки и т.д.), респираторную систему и желудочно-кишечный тракт. Действительно, ранее проведенные исследования биологической активности наночастиц металлов на экспериментальных животных позволили установить, что нанокристаллическое железо и цинк в биотических дозах ускоряют рост животных и птиц, усиливают регенерацию печени после частичной гепатэктомии, ускоряют заживление тканей. В то же время, как показали исследования, биологическая активность наночастиц металлов связана с их физико-химическими свойствами, что позволит в будущем, изменяя свойства наночастиц, достигать высокой биологической активности при минимальных побочных эффектах.

Исследовательские программы по нанотехнологиям на национальном уровне запустили уже более 30 стран. Как и в любой приоритетной отрасли науки, в отрасли нанотехнологии су-

ществуют четко сформулированные определения и термины, которыми оперируют специалисты при освещении актуальных и интересных обществу событий и инноваций.

Уникальные свойства и, прежде всего, биологическая активность наноматериалов могут быть использованы, в частности, для эффективной борьбы с опасными инфекциями (технологии получения комплексных иммунобиологических препаратов, модуляция эффективности вакцин), для целевой доставки лекарственных препаратов в онкологию и инфекционной патологии (наночастицы металлов).

Физические свойства многих веществ зависят от размеров образца, а наночастицы веществ часто обладают свойствами, которых вообще нет у образцов этих веществ, имеющих обычные размеры. К примеру, серебро не участвует в большинстве химических реакций. Однако наночастицы серебра не только становятся очень хорошими катализаторами химических реакций, но и непосредственно участвуют в химических реакциях. Высокой реактивной способностью наночастиц серебра объясняют тот факт, что они обладают сильным противовирусным и бактерицидным действием.

Серебро, медь и цинк рассматриваются как микроэлементы, необходимые для нормального функционирования внутренних органов и систем, а также как мощное средство, повышающее иммунитет и активно воздействующее на болезнетворные бактерии и вирусы [1, 2, 3].

Известно, что ряд наночастиц металлов обладает высокой иммуностимулирующей, противовирусной и антибактериальной активностью, что может послужить для конструирования на их основе нового поколения ветеринарных препаратов.

По данным литературы, наночастицы серебра, меди и цинка могут повышать фагоцитарную активность организма, активность Т и В-лимфоцитов, концентрацию иммуноглобулинов в сыворотке крови, оказывать положительное влияние на лейкоцитарную формулу [4].

На сегодняшний день одной из актуальных задач является создание препаратов на основе наночастиц для лечения заболеваний различной этиологии, которые служат как для подавления жизнедеятельности патогенных микроорганизмов, так и для стимуляции иммунной системы.

Целью проведенных исследований является изучение влияния наночастиц серебра, цинка и меди на фагоцитарную активность мононуклеарных лейкоцитов животных.

Материалы и методы исследований. Наночастицы серебра, цинка и меди изготовлены в условиях лаборатории физико-химических технологий ГНПО «Научно-практический центр по материаловедению» В.П. Новиковым.

Для синтеза коллоидных растворов использовались центрифуга марки ОП-УХЛ-4.2 и ультразвуковой диспергатор марки УДДН-А. В качестве дисперсионной среды использовался полиэтиленгликоль со степенью полимеризации 200 (ПЭГ 200).

Для приготовления наночастиц серебра использовался 0,05 нормальный водный раствор AgNO_3 , который помещался в раствор ПЭГ 200. Для восстановления серебра использован водный раствор гидразина. В результате окислительно-восстановительной реакции образовывался коричнево-серый коллоидный раствор серебра. Полученный раствор подвергали центрифугированию. Разделение коллоидных частиц от побочных продуктов реакции восстановления серебра проводили центрифугированием. В результате центрифугирования раствор расслаивался. Для образования однородного коллоидного раствора серебра на полученный осадок воздействовали ультразвуком.

Для приготовления образца сплава медь / серебро использовали водный раствор AgNO_3 и $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$. Восстановление серебра и меди осуществляли с помощью раствора гидразина в растворе ПЭГ 200. В результате окислительно-восстановительной реакции образовывался серый коллоидный раствор сплава медь / серебро. Далее полученный раствор центрифугировался. Разделение коллоидных частиц от побочных продуктов реакции восстановления серебра проводили центрифугированием. В результате центрифугирования раствор расслаивался. В осадке были сконцентрированы коллоидные частицы серебра и меди. Для образования однородного коллоидного раствора серебра на полученный осадок воздействовали ультразвуком. К очищенному таким образом осадку добавлялось 20 мл ПЭГ 200. На полученную композицию воздействовали ультразвуком до образования однородного коллоидного раствора.

Для приготовления наночастиц цинка использован водный раствор $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$. Далее к полученному раствору добавляли раствор аммиака до выпадения белого осадка. Полученный раствор центрифугировался, после этого раствор расслаивался. В осадке были сконцентрированы коллоидные частицы цинка. В прозрачной части – побочные продукты реакции восстановления. Прозрачный слой отделялся от осадка декантацией. На полученную композицию воздействовали ультразвуком в течение 10 минут до образования однородного коллоидного раствора.

Полученные растворы сохранялись в течение 6 месяцев без потери активности.

Для определения стимулирующего эффекта на клеточный иммунитет животных нами был выбран метод определения фагоцитарной активности лейкоцитов кроликов. Исследования проводили по Кост и Стенко [5].

Для определения фагоцитарной активности лейкоцитов после обработки кроликов использовали коллоидные растворы наночастиц серебра, серебро+медь, цинка. Для этого предварительно коллоидные растворы вышеуказанных металлов разводили стерильным фи-

зиологическим раствором до 1:5 (100 мкг/мл) и 1:10 (50 мкг/мл). Из подопытных животных было сформировано 6 групп по 3 головы в группе. Кроликам опытной группы №1 вводили наночастицы серебра в разведении 1:5, животным опытной группы №2 вводили наночастицы серебра в разведении 1:10, животным опытной группы №3 вводили наночастицы серебро+медь в разведении 1:5; животным опытной группы №4 вводили наночастицы серебро+медь в разведении 1:10; животным опытной группы №5 вводили наночастицы оксида цинка в разведении 1:5; животным опытной группы №6 вводили наночастицы оксида цинка в разведении 1:10.

Испытуемые образцы вводились в дозе 1 см³ внутримышечно. Через 48 часов у животных из ушной вены была взята кровь для постановки реакции.

Изучение фагоцитарной активности гранулоцитов проводили по общепринятой методике с использованием суспензии кишечной палочки.

Результаты исследований. После введения кроликам наночастиц серебра, цинка и сплава серебра и меди на месте введения воспалительной реакции не отмечено. Животные оставались подвижны, температура тела не увеличилась, корм принимали охотно.

В таблице 1 представлены результаты изучения фагоцитарной активности гранулоцитов кроликов после внутримышечного введения наночастиц биоэлементов.

Таблица 1 – Фагоцитарная активность лейкоцитов у кроликов после введения наночастиц биоэлементов

№ группы	Процент фагоцитоза до обработки, %	Процент фагоцитоза после обработки, %	Степень увеличения (уменьшения), %	Фагоцитарный индекс до обработки	Фагоцитарный индекс после обработки	Степень увеличения (уменьшения), %
ОГ №1 (Ag) 1:5 (100 мкг/мл)	75,7 \pm 5,2	64 \pm 4,7	↓84,5	2,63 \pm 0,9	5,4 \pm 1,32	↑205
ОГ №2 (Ag) 1:10 (50 мкг/мл)	68 \pm 6,6	66,6 \pm 4,7	↓97,9	3,88 \pm 0,5	6,2 \pm 1,2	↑159
ОГ №3 (Cu+Ag) 1:5 (100 мкг/мл)	59,3 \pm 5,7	69,8 \pm 4,6	↑118	2,47 \pm 0,2	5,2 \pm 0,9	↑211
ОГ №4 (Cu+Ag) 1:10 (50 мкг/мл)	68,7 \pm 4,9	63,3 \pm 3,9	↓92,1	3,74 \pm 0,5	5,3 \pm 1,2	↑142
ОГ №5 (ZnO ₂) 1:5 (100 мкг/мл)	70,2 \pm 9,4	72 \pm 6,8	↑103	2,74 \pm 0,4	7,06 \pm 1,9	↑258
ОГ №6 (ZnO ₂) 1:10 (50 мкг/мл)	68,4 \pm 4,8	73,8 \pm 6,6	↑108	3,09 \pm 1,3	5,8 \pm 1,1	↑188

Из таблицы следует, что при введении наночастиц в организм лабораторных животных происходят изменения в неспецифических показателях иммунного статуса. Такие наночастицы, как Zn (100 и 50 мкг/мл) и Cu+Ag (100 мкг/мл) ведут к увеличению фагоцитарного числа, которое отображает процент фагоцитов, способных к активному захвату чужеродных иммунной системе частиц. Вторым важным показателем (увеличение после введения наночастиц в каждой группе), также претерпевшим изменения, является фагоцитарный индекс, отвечающий за количество частиц, поглощенных одним фагоцитом. Оба эти показателя характеризуют поглотительную способность фагоцитирующих клеток крови (нейтрофилов и моноцитов). Отмечено, что при введении кроликам наночастиц цинка в концентрации 100 мкг/мл отмечено увеличение фагоцитарного индекса (показателя, отвечающего за количество частиц, поглощенных одним фагоцитом) с 2,74 \pm 0,4 до 7,06 \pm 1,9, меди с серебром - с 2,47 \pm 0,2 до 5,2 \pm 0,9, серебра – с 2,63 \pm 0,9 до 5,4 \pm 1,32. Фагоцитарное число, которое отображает процент фагоцитов, способных к активному захвату чужеродных иммунной системе частиц, повышалось значительно меньше – на 2-5%.

Разница между показателями до и после введения коллоидных растворов наночастиц показывает активизацию метаболического потенциала фагоцитов и фактически характеризует их иммуностимулирующую активность. Соответственно, снижение активности и интенсивности фагоцитоза расценивается как показатель ослабления поглотительной функции фагоцитов, метаболического резерва - как недостаточности их переваривающей функции.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования показали, что введение животным наночастиц цинка и серебро+медь способствует активизации как фагоцитарного числа, так и фагоцитарного индекса. Но введение наночастиц серебра несколько угнетает фагоцитарное число с одновременной активизацией фагоцитарного индекса.

М. Бондаренко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобологии. – 1986.- № 11. – С. 118-126. 2. Дмитриева, Е. Г. Наночастицы в медицине и фармацевтике / Е. Г. Дмитриева // Фундаментальные науки и практика : Сборник научных трудов Третьей Международной Телеконференции «Проблемы и перспективы современной медицины, биологии и экологии». – Томск, 2010. – Т. 40, № 4. - С.45-46. 3. Красочко, П. А. Иммуностимуляторы и современные способы коррекции иммунного ответа / П. А. Красочко, В. А. Машеро // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2004. - № 1. – С. 3-11. 4. Микробиология и иммунология : учебное пособие : в 2 ч. / А. А. Солонко [и др.]. – Минск : Пион, 2002. – Ч. 1 : Общая микробиология и иммунология. - 248 с. 5. Методические рекомендации по оценке иммунитета при стрессах в промышленном животноводстве / Ф. И. Фурдуй [и др.]. - Минск, 2011. – 33 с.

Статья передана в печать 30.05.2018 г.

УДК 636.32/.38.09:614.448.57:595.132.6

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЗИНВАЗИОННОГО ДЕЙСТВИЯ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА «ДЕЗСАН» НА ЯЙЦА ТРИХОЦЕФАЛУСОВ ОВЕЦ

*Мельничук В.В., **Нечипоренко А.Л.

*Полтавская государственная аграрная академия, г. Полтава, Украина

**Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

В статье представлены результаты изучения дезинвазионной активности препарата «Дезсан» (НПФ «Бровафарма», Украина) в отношении культур инвазионных яиц трихоцефалусов овец. Экспериментально установлено, что химическое средство, начиная с 1 % концентрации, обладает выраженными дезинвазионными свойствами на яйца нематод *Trichocephalus ovis* и *Trichocephalus globulosa* при экспозиции 30–60 мин. (зафиксирована гибель эмбрионов в 91,00–100,00% яиц), а также *Trichocephalus skrjabini* – при экспозиции 10–60 мин. (гибель эмбрионов зафиксирована в 92,00–100,00% яиц). **Ключевые слова:** овцеводство, дезинвазионные свойства, тест-культура яиц, *Trichocephalus ovis*, *Trichocephalus skrjabini*, *Trichocephalus globulosa*.

THE STUDYING OF DISINVASION INFLUENCE OF THE DISINFECTANT “DEZSAN” ON TRICHOCEPHALES EGGS OF SHEEP

*Melnychuk V.V., ** Nechyporenko A.L.

*Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine

**Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

The article presents the results of the study of the disinvasion activity of the medicine “Dezsan” (LTD «Brovapharma», Ukraine) regarding the cultures of invasive eggs of trichocephaluses of sheep. It has been established experimentally that a chemical agent, beginning with 1% concentration, has pronounced disinvasive properties for eggs of *Trichocephalus ovis* and *Trichocephalus globulosa* nematodes at an exposure of 30–60 min. (death of embryos fixed in 91.00–100.00% eggs), as well as *Trichocephalus skrjabini* – with an exposure of 10–60 minutes (death of embryos fixed in 92.00–100.00% of eggs). **Keywords:** sheep breeding, disinvasion properties, test-culture of eggs, *Trichocephalus ovis*, *Trichocephalus skrjabini*, *Trichocephalus globulosa*.

Введение. Овцеводство является важной, перспективной и неотъемлемой отраслью животноводства Украины. Среди сельскохозяйственных животных овцы занимают первое место по разнообразию производимой продукции. Физиологические и анатомические особенности овец позволяют им хорошо использовать пастбища и грубые корма [1, 4, 8, 17]. Овцы очень подвижны, выносливы и неприхотливы. Отличаются высокой скороспелостью и плодовитостью, быстро акклиматизируются. Для овец подходят непригодные для земледелия, малопродуктивные пастбища с разреженной, мелкой и низкорослой растительностью. Эти животные очень хорошо приспосабливаются к горным условиям. При этом по показателям производства мяса и шерсти овцы не уступают другим видам животных [2, 3].

Разведение овец позволяет получать шерсть, овчину, сало, мясо и молоко. Некоторые продукты овцеводства широко используются в парфюмерной и медицинской отраслях [5, 7, 11, 21].

Несмотря на все перечисленные положительные стороны отрасли, нужно учитывать и возможные риски. Так, при содержании овец надо учитывать то, что они, как и другие сельскохозяйственные животные, подвержены разным заболеваниям, в том числе и паразитарной этиологии. Одними из наиболее распространенных инвазионных болезней овец являются нематодозы желудочно-кишечного тракта [15].

Согласно биологии возбудителей, для большинства нематод важнейшую роль в цикле их развития играет внешняя среда, где происходит развитие эмбриональных и постэмбриональных стадий паразитов. По мнению многих исследователей, ведущим фактором передачи возбудителя при паразитарных болезнях являются объекты внешней среды, контаминированные инвазионными элементами. Как известно, заражение овец гельминтами может происходить алиментарным путем (через корм, подстилку, воду) на пастбищах, в животноводческих помещениях, кошарах, а также перкутантным путем – при нарушении санитарных условий содержания овец [6, 9, 10, 14, 18].

Сверхвысокая плодовитость паразитов, стойкость их яиц и личинок к влиянию факторов