

Струк М.С., аспирант

Красочко П.А., доктор ветеринарных наук и биологических наук, профессор

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

ИММУНИТЕТ И ЕГО СТИМУЛЯЦИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ БИОЭЛЕМЕНТОВ (ОБЗОР)

Резюме

Приведены литературные данные о влиянии наночастиц биоэлементов на врожденный и приобретенный иммунитет животных.

Summary

Literary these about influence of nanoparticles of bio-elements on the congenital and acquired immunity of animals are given.

Поступила в редакцию 25.10.2012 г.

Иммунная система является одной из сложно организованных многоуровневых структур, постоянно реагирующая на многочисленные экзо- и эндогенные факторы и имеет несколько линий защиты. На сегодняшний день в связи с появлением все новых и новых антигенов, актуальными становятся исследования, касающиеся их воздействия и ответного проявления со стороны иммунной системы [1]. Такими антигенами повсеместно выступают широко применяемые во всем мире наночастицы и наноматериалы. Важно понять и изучить их возможное воздействие на всех уровнях защиты организма. Это обусловлено тем, что при попадании в организм они могут быть непредсказуемыми и опасными, так как легче вступают в химические превращения, чем более крупные объекты того же состава и образуют комплексные соединения с неизвестными ранее свойствами. Однако, все чаще наночастицы используются в производстве лекарственных и профилактических средств.

Рассмотрим влияние ряда наночастиц биоэлементов на врожденную и приобретенную иммунные системы.

Врожденный иммунитет. Первым анатомическим барьером у животных является кожа. Непосредственное воздействие на иммунные клетки будет происходить, если наночастицы проникнут достаточно глубоко. Как показывают экспериментальные данные, наночастицы могут проникать не только через поврежденную кожу, но также в местах

сгибов, складок. Другой путь – через слизистые оболочки (в основном при вдыхании). Если наноматериалы проходят через первый физический барьер, они попадают в кровь, лимфу и встречаются с различными биомолекулами. Известно, что на поверхности TiO_2 , полимерных и других наночастиц активно адсорбируются белки, образуя так называемую “белковую корону”. Адсорбированные белки во многом определяют дальнейшую судьбу наночастиц. Кроме того, изменения могут произойти в структуре самих белков, что повлияет на их функцию и вызовет иммунные ответы [2].

Ряд авторов приводят результаты своих исследований о воздействии наночастиц на различные клетки врожденной иммунной системы, такие как фагоциты (макрофаги, нейтрофилы и дендритные клетки), тучные клетки и некоторые другие [3]. Они наблюдали воспалительный ответ при воздействии на макрофаги наночастиц TiO_2 , SiO_2 , ZnO_2 , Co *in vitro* и наночастиц SeO_2 в легких крыс *in vivo*. Активность легочных макрофагов крыс была также подавлена под действием нано- TiO_2 . В некоторых работах получены данные о том, что даже предварительное воздействие наночастиц на макрофаги в дальнейшем снижает их способность бороться с чужеродными объектами. Дендритные клетки очень важны для координации врожденного и приобретенного иммунитета. Данных об их взаимодействии с наноматериалами мало, и они противоречивы. В нескольких

работах показано, что вредных эффектов можно избежать, если правильно подобрать покрытие для наночастиц. *Нейтрофилы* эффективно защищают организм от бактерий и грибов. Сообщается, что различные типы наночастиц могут вызывать нейтрофильные воспаления в легких, однако их влияние на физиологию нейтрофилов не изучено. *Тучные клетки* играют важную роль в воспалительных реакциях. Они часто связаны с аллергией. В одном из исследований сравнили воздействие нано-SeO₂ на мышей с дефицитом тучных клеток и на обычных мышей. Капельное введение SeO₂ активировало тучные клетки и вызвало воспаление только у обычных мышей [4].

В литературе имеются свидетельства того, что наночастицы серебра (Ag) могут действовать как противовоспалительные средства. Их можно использовать для лечения иммунологических и воспалительных заболеваний. Различные наноматериалы, даже осажденные в отдаленных органах, могут и стимулировать, и подавлять иммунный ответ [5].

Приобретённый иммунитет. Как уже говорилось, в большинстве случаев борьбу с чужеродными объектами начинает врождённый иммунитет, а затем - приобретённый. Если иммуномодулирующий эффект наночастиц приведёт к подавлению иммунной системы, чужеродный объект не будет уничтожен (возможно, даже и не распознан), но при чрезмерной стимуляции иммунной системы могут возникнуть реакции аллергические или аутоиммунные.

К сожалению, исследований взаимодействия наноматериалов и клеток иммунной системы очень мало. Известно, что некоторые природные наночастицы вызывают аллергические реакции. Данные, полученные некоторыми учеными, говорят о том, что возникновение аллергических реакций возникает после использования углеродных нанотрубок, а для фуллеренов характерны антиаллергические эффекты. Кроме того, в работах ряда исследователей установлен следующий интересный факт, что, при появлении в легочной ткани животных углеродных нанотрубок размером меньше 10 нм макрофаги, фагоциты, лейкоциты активно локализуются возле углеродных нанотрубок, но «не узнают» их и не выполняют свою основную функцию утилизацию чужеродных частиц.

Считается, что многие наночастицы с трудом распознаются и элиминируются клетками иммунной системы. Макрофаги не могут распознавать частицы менее 70 нм. Это связано с тем, что в естественных условиях концентрации наночастиц очень малы и в процессе эволюции не развились механизмы противодействия их неблагоприятным влияниям.

Таким образом, между врождённым и приобретённым иммунитетом существует тонкий баланс и его сохранность очень важна. К сожалению, наночастицы, взаимодействуя с определенными клетками иммунной системы, могут нарушить этот баланс. Эксперименты *in vivo* и *in vitro* продемонстрировали, что многие наноматериалы, в том числе и углеродные нанотрубки, могут вызвать появление активных форм кислорода, то есть привести к окислительному стрессу, который играет важную роль в развитии аллергических реакций. Многие исследователи приходят в связи с этим к неутешительному заключению, что механизмы модулирования иммунной системы наночастицами по-прежнему не ясны. Требуются более систематические исследования, в которых необходимо контролировать характеристики наноматериалов, а их воздействие на клетки и/или организмы должно быть низкотоксичными, позволяющими изучать хронические эффекты [6].

На базе РУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелеского» были проведены исследования по определению стимулирующего эффекта наночастиц на иммунную систему животных. Для этого был выбран метод определения фагоцитарной активности лейкоцитов. Принцип его заключается в том, что при контакте с иммунологически чужеродными частицами (в нашем случае культура *E.coli*) специализированные клетки крови (полиморфоядерные лейкоциты, моноциты) захватывают их и разрушают внутриклеточными ферментами. В качестве подопытных животных выступали кролики. Перед началом эксперимента была определена фагоцитарная активность лейкоцитов у кроликов без обработки их различными коллоидными растворами. Водные растворы серебра, серебра и меди, а так же оксида цинка были разведены с использованием стерильного физиологического раствора в концентрациях 1:5 и 1:10 из которых были сформированы группы в зависимости от вво-

димой суспензии наночастиц и ее концентрации. Испытуемые образцы вводились в дозе 1 см³, внутримышечно. Через 48 часов у животных из ушной вены была взята кровь для определения фагоцитарной активности лейкоцитов. После учета реакции были получены следующие результаты: при введении наночастиц в организм лабораторных животных происходят изменения неспецифических показателей иммунного статуса.

Так, наночастицы оксида цинка (1:5 и 1:10) и Cu+Ag (1:5) ведут к увеличению процента фагоцитоза, который отображает процент фагоцитов, способных к активному захвату чужеродных иммунной системе частиц. Вторым важным показателем (увеличение после введения наночастиц в каждой группе) так же, претерпевшим изменения, является фагоцитарный индекс, отвечающий за количество частиц, поглощенных одним фагоцитом. Оба эти показателя характеризуют поглотительную способность фагоцитирующих клеток крови (нейтрофилов и моноцитов).

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

Таким образом, оценка фагоцитарного звена системы иммунитета является неотъемлемым элементом оценки иммунного статуса, который нарушается при многих инфекционных заболеваниях. А известные ранее иммуностимулирующие свойства такого элемента, как цинк, еще раз подтверждаются даже при переводе его в наноразмерное состояние [7].

В последние десятилетия все большее внимание привлекает зависимость активности иммунной системы от адекватного снабжения организма микроэлементами. С точки зрения рассматриваемого предмета, наибольший интерес представляют элементы, оказывающие иммуномодулирующие эффекты, выражающиеся во влиянии на процессы адгезии лейкоцитов, хемотаксис и фагоцитоз. Так, в макрофагах обнаружены вы-

сокие концентрации цинка, нужные для синтеза металлотионеинов, обеспечивающих депонирующее внутриклеточное хранение металлов. Таким образом, цинк потенцирует клеточно-опосредованные реакции по отношению к вирусам, бактериям, паразитам.

Цинк (1,1 мг/мл), входя в состав солен металлоферментов, представляет собой важный структурный компонент клеточных мембран, определяющий также функциональные особенности клеток. Как известно, первым звеном защиты организма человека и животных являются клетки эпителия кожи и слизистых оболочек. Дефицит цинка вызывает нарушения целостности этого барьера, приводя в тяжелых случаях к серьезным повреждениям кожи, слизистых оболочек органов пищеварительной системы и дыхательных путей. Одним из первых проявлений дефицита цинка является снижение уровня лимфоцитов периферической крови. Таким образом, можно сделать вывод, что цинк, являясь одним из важнейших эссенциальных микроэлементов, необходимый для жизнедеятельности организма, участвует в процессах метаболизма и присутствует в форме отложенных запасов.

Наночастицы (НЧ) – частицы неорганических веществ, в том числе оксида цинка (ZnO) размером менее 100 нм по всем трем осям измерения. Они отличаются не только повышенной способностью к проникновению через биологические барьеры организма, но и малыми размерами и очень большой кривизной поверхности, что обуславливает химическую активность и растворимость данного микроэлемента.

Еще одной важной особенностью наночастиц является их возможное использование в качестве адъювантов. Так, за прошедшее столетие были установлены адъювантные свойства тысяч веществ различной природы, среди них микробные продукты, минеральные соли, минеральные масла, эфирные жирные кислоты, желатин и другие биополимеры, микрочастицы, липосомы и многие другие вещества. Исследователи обнаружили, что с увеличением размеров антигена усиливается его иммуногенность, т.е. способность вызвать иммунную реакцию после введения животному или человеку. Иммунизация небольшими по размеру антигенами (гаптенами) не вызовет образование антител. Если эти небольшие антигены при-

соединить к каким-либо крупным молекулам или частицам, а затем использовать для иммунизации, то антигена к гаптену образуются. Антиген может быть адсорбирован на поверхности частицы или химически присоединен к ней. Прикрепление антигенов к частицам позволяет значительно повысить их иммуногенность. Антиген, прикрепленный к частице, отличается от свободного антигена несколькими свойствами:

- размер антигена увеличивается до размера частицы;

- высвобождение антигена в организме существенно пролонгируется (эффект депонирования);

- поверхность частицы с антигеном представляет собой множество молекул антигена, положение которых фиксировано в пространстве; в растворе тоже есть множество молекул свободного антигена, но они не фиксированы, а в свободно движутся в объеме растворителя (обычно воды); это различие существенно сказывается на взаимодействии антигена с клеточными рецепторами; связанные частицы, покрытые молекулами антигена с клеточными рецепторами, сближаются и образуют кластеры – против обоямы антигенных молекул выстраивается обояма рецепторов;

- практически любая частица не инертна в отношении клеток человека и животного; клетки обязательно реагируют на контакт с частицей; не является исключением и частица с прикрепленным антигеном; при этом реакция клеток человека и животных на частицу с антигеном существенно отличается

ЛИТЕРАТУРА

1 Андреев, Г.Б. Материалы, производимые по нанотехнологиям: потенциальный риск при получении и использовании / Г.Б. Андреев [и др.]// Российский химический журнал, том LII, 2008.– № 5.– С. 32–39.

2 Моргалев, Ю.Н. «Вопросы оценки биобезопасности наноматериалов» / Ю.Н. Моргалев [и др.]// Физика (известия вузов). – Томск, 2010. – Т. 53. – № 11, ч. 3. – С. 18–23.

3 Глушкова, А.В. «Нанотехнологии и нанотоксикология – взгляд на проблему» /А.В. Глушкова [и др.]// Токсикологический вестник. – 2007. – № 6. – С. 4–8.

4 Глущенко, Н.Н. Токсичность наночастиц цинка и его биологические свойства / Н.Н. Глущенко [и др.]// Актуальные проблемы транспортной медицины, №3 (21). – Москва. – 2010г.

5 Миронов, В. Ф. Водорастворимые цинк- и никельсодержащие металлокомплексы пектиновых полисахаридов. Биологическая активность цинковых

от реакции на растворимую форму того же антигена.

В последнее время для повышения иммуногенности антигенов используют методы их присоединения к микро- и нанометровым частицам различной природы [8]. Представленные в этом сообщении данные свидетельствуют о том, что иммобилизация антигенов на микро- и наночастицах значительно повышает интенсивность иммунных реакций при введении таких антигенов в организм животных. При этом изменяются интенсивность, продолжительность и качественные характеристики иммунной реакции в ответ на антиген. Антигены на микрочастицах могут вызывать длительную и интенсивную продукцию антител. Антигены, иммобилизованные на наночастицах, провоцируют интенсивные Т-клеточные реакции наряду с сильной продукцией антител.

На данном этапе исследований о процессах, протекающих в живых организмах при участии наночастиц недостаточно. Комплексный подход к этой проблеме подразумевает выработку общих принципов и универсальных характеристик, показывающих механизм взаимодействия наночастиц с биомолекулами. Однако полноценно эксплуатировать преимущества, которые сулит применение нанотехнологий в ветеринарной медицине, можно только адекватно оценив связанные с наноматериалами преимущества и опасности и приняв соответствующие меры по защите по негативному их влиянию на организм животных.

металлокомплексов/ В.Ф. Миронов// Бутлеровские сообщения, Казань, 2004. –Т.5. –№3. –С.36–38.

6 Нестеров, Д.В. Влияние цинка на эффективность использования кормовых ферментных препаратов/ Д.В. Нестерова [и др.]// Вестник Оренбургского государственного университета. – 2010. – N 6, июнь. – С. 156–159.

7 Андреев, Г.Б. Материалы, производимые по нанотехнологиям: потенциальный риск при получении и использовании/ Г.Б. Андреев // Российский химический журнал, 2008. – Т. 52. – № 5. – С. 32–38.

8 Калистратова, В.С. Экспериментальное исследование биокинетики наночастиц оксида цинка у крыс после однократного перорального введения с использованием технологии меченых атомов» / В.С. Калистратова// Медицинская радиология и радиационная безопасность, 2012. – N 5. – С.5 – 10.