

# УСТАНОВЛЕНИЕ ЯВЛЕНИЯ УГНЕТЕНИЯ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ ЖИВОТНЫХ В СИСТЕМЕ *IN VIVO* И *IN VITRO* ЛАЗЕРНЫМ И ПОЛЯРИЗОВАННЫМ ОПТИЧЕСКИМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

Красочко П.А.<sup>1</sup>, Самуйленко А.Я.<sup>2</sup>, Плавский В.Ю.<sup>3</sup>, Еремец В.И.<sup>2</sup>,  
Пухова Н.М.<sup>2</sup>, Красочко П.П.<sup>1</sup>, Машеро В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
[krasochko@mail.ru](mailto:krasochko@mail.ru)

<sup>2</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», Щелково Московской обл.  
[vnitibp@mail.ru](mailto:vnitibp@mail.ru)

<sup>3</sup>ГНУ «Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси»  
e-mail - [v.plavskii@ifanbel.bas-net.by](mailto:v.plavskii@ifanbel.bas-net.by)

**Резюме.** В статье приведены результаты исследований по влиянию низкоинтенсивного лазерного и полихроматического поляризованного оптического излучений на репродукцию вирусов ИРТ в культуре клеток МДБК (*in vitro*) и организме животных (*in vivo*). Показано, что применение излучений в определенных режимах оказывает угнетающее действие на репликацию вирусов, что может быть использовано для защиты животных от вирусных инфекций.

**Resume.** The article presents the results of studies on the effect of low-intensity laser and polychromatic polarized optical radiation on the reproduction of IRT viruses in MDBK cell culture (*in vitro*) and animal body (*in vivo*). It is shown that the use of radiation in certain modes has an inhibitory effect on the replication of viruses, which can be used to protect animals from viral infections.

**Ключевые слова:** поляризованное полихроматическое излучение, низкоинтенсивное лазерное излучение, вирусу ИРТ, культура клеток МДБК.

**Key words:** polarized polychromatic radiation, low-intensity laser radiation, IRT virus, MDVC cell culture

**Введение.** Для борьбы с вирусными инфекциями животных применяются различные подходы; активная специфическая профи-

лактика с использованием живых и инактивированных вакцин; пассивная профилактика с использованием специфических иммуноглобулинов и сывороток; неспецифическая профилактика с использованием иммуномодулирующих средств; химиотерапия и химиопрофилактика вирусных инфекций с использованием противовирусных препаратов; различные физические методы.

Вирусы - внутриклеточные паразиты и оказать на них влияние с помощью лекарственных средств, не повредив при этом клетки макроорганизма, практически невозможно. Поэтому применение противовирусных препаратов в большинстве случаев малоэффективно, а опасность возникновения побочных нежелательных эффектов велика. Основным недостатком химиотерапии и химиопрофилактики вирусных инфекций является высокая токсичность препаратов, которые поражают не только инфицированные клетки организма, но и нормально функционирующие.

В этой связи, одним из перспективных направлений борьбы с вирусными инфекциями является использование физических факторов. При этом заслуживает внимания применение различных видов оптического излучения – солнечного, ультрафиолетового, лазерного, полихроматического поляризованного [1-6]. По своей физической природе свет – мощное волновое воздействие, вызывающее целый ряд физиологических и биохимических изменений как на клеточном тканевом уровне, так и на уровне целостного организма. При проникновении света в ткани происходит поглощение энергии различными структурами организма, а именно водой, форменными элементами крови и меланином кожи [7]. На сегодняшний день широко используются низкоинтенсивные полупроводниковые лазеры, светодиодные аппараты для фототерапии и аппараты монохроматического поляризованного излучения [8]. Прогресс медицинской науки и техники стал в значительной степени определяться достижениями в области квантовой электроники [8].

Свет лазера и поляризованного излучения отличаются от естественного света. Характерные их особенности - монохроматичность (т. е. генерируется только одна длина волны), когерентность (т.е. согласованное протекание волновых процессов во времени и пространстве) и поляризация (т.е. колебания электрического вектора световой волны происходит в одной плоскости).

Исследователи идентифицировали различные биологические эффекты, которые возникают в процессе лазерной стимуляции: ак-

тивацию продукции АТФ, усиление синтеза коллагеновых волокон кожи, увеличение активности специфических ферментов, активация лимфатической системы, благоприятные условия для развития новых кровеносных сосудов, активация синтеза ДНК и белка.

В исследованиях, выполненных в 1981 году в университете Земельвайс в Будапеште, было установлено, что биологической активностью и терапевтическим действием обладает не только лазерное излучение, но и полихроматический поляризованный свет теплового источника (галогенной лампы). Были созданы и получили развитие системы светотерапии на основе поляризованного света «Биоптрон». По степени поляризации света лампа «Биоптрон» приближается к лазерам, но в отличие от монохроматического когерентного излучения лазеров, его свет является полихроматическим (широкополосным), то есть некогерентным. После применения поляризованного света происходят изменения и в иммунной системе, одно из которых – увеличение количества клеток Лангерганс, которое сопровождается повышением продукции иммуноглобулинов, способствующих ликвидации патологических процессов [2,9].

При низкоинтенсивном лазерном и поляризованном облучении за счет активации процессов репликации, транскрипции и трансляции повышается неспецифическая резистентность каждой отдельной клетки организма. Возрастает надежность ее работы и увеличиваются возможности адаптации к широкому кругу патогенных факторов. Формируется состояние, обозначенное Ф.З.Меерсоном как «адаптивная стабилизация клеточных структур».

*Целью настоящего исследования* явилось проведение исследований по установлению свойства низкоинтенсивного лазерного и полихроматического поляризованного оптического излучения угнетать репродукцию вирусов, обусловленное повышением устойчивости чувствительных клеток к проникновению вирусов и их дальнейшей репродукции *in vitro* (культуре клеток) и *in vivo* (в организме животных).

**Материалы и методы.** Исследования проведены в условиях УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», ГНУ «Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси», РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»

В работе использовали сформированный монослой клеток МДБК 0,5 л стеклянных плоских сосудов, вирус инфекционного ринотрахеита (ИРТ, штамм КМИЭВ-6), аппарат «Биоптрон» и аппарат лазерного «СТП-99».

Изучение влияния поляризованного полихроматического излучения (ППИ) на репродукцию вируса ИРТ проводили в 3 этапа:

1 - клетки облучали по 2, 4 и 6 мин при интенсивности излучения  $40 \text{ мВт/см}^2$ , после чего производили заражение клеток;

2 - клетки облучали через 2 часа после заражения вирусом по 2, 4 и 6 мин;

3- облученные вначале клетки как в этап 1, заражали вирусом и через два часа проводили повторное облучение. Контролем служили зараженные клетки вирусом без облучения.

Изучение влияния низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ) на репродукцию вируса ИРТ проводили в 2 этапа:

1 - клетки облучали НЛИ по 1,0 ,1,5 и 2,0 мин при интенсивности излучения  $1 \text{ Вт/см}^2$ , после чего производили заражение вирусом;

2- клетки облучали НЛИ по 1,0 ,1,5 и 2,0 минуты при интенсивности излучения  $1 \text{ вт/см}^2$  через 2 часа после заражения.

Контролем также служили зараженные клетки вирусом без облучения.

Во всех случаях после заражения через 48 часов фиксировали характерное для вируса ИРТ ЦПД. После замораживания клеток в каждом образце контролировали наличие вируса с использованием разработанной методики количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, чувствительность которой составляла 40 копий/мл.

**Результаты исследований.** В таблице 1 приведены результаты выявления наличия ДНК вируса ИРТ в инфицированных клетках МДБК, облученных поляризованным полихроматическим светом. Степень угнетения репродукции вируса определяли по формуле:

$$\gamma = 100 - (n_o/n_k) \cdot 100,$$

где  $\gamma$  – степень угнетения репродукции вируса;  $n_o$  - количество копий ДНК вируса ИРТ, облученного поляризованным полихроматическим светом;  $n_k$  - количество копий ДНК необлученного вируса ИРТ (в контрольной группе).

Таблица 1 – Результаты обнаружения ДНК вируса ИРТ, культивируемого в монослое перевиваемых клеток МДБК, облученных поляризованным полихроматическим светом (n = 3)

Режим облучения	Время облучения, мин	Количество копий ДНК	Степень угнетения репродукции вируса ИРТ, ( $\gamma$ ) %
До заражения	2	$(8,74 \pm 0,85) \cdot 10^7$ ***	36,7
	4	$(7,44 \pm 0,72) \cdot 10^7$ **	46,1
	6	$(1,01 \pm 0,01) \cdot 10^8$ *	26,8
После заражения	2	$(1,09 \pm 0,10) \cdot 10^8$ *	21,0
	4	$(1,12 \pm 0,09) \cdot 10^8$	18,8
	6	$(8,87 \pm 0,87) \cdot 10^7$ ***	35,7
Двукратное - до и после заражения	2	$(5,95 \pm 0,56) \cdot 10^7$ ***	56,9
	4	$(1,17 \pm 0,11) \cdot 10^7$ ***	91,5
	6	$(5,27 \pm 0,49) \cdot 10^7$ ***	61,8
Контроль (без облучения)		$(13,8 \pm 0,54) \cdot 10^8$	-

Примечание: Достоверность \* –  $P \leq 0,05$ , \*\* –  $P \leq 0,01$ , \*\*\* –  $P \leq 0,001$

Полученные результаты свидетельствуют, что облучение клеток ППИ приводит к угнетению репродукции вируса ИРТ. Характерно, что предварительное облучение уменьшает количество вируса на 26,8-46,1%, облучение после заражения – в пределах 18,8-35,7%. Когда проводят облучение до и после заражения, количество вируса уменьшается от 56,9% до 91,5% по сравнению с контролем. Это свидетельствует, что ППИ активизирует метаболизм клеток, препятствует проникновению вируса в клетку и тем самым происходит угнетение его репродукции.

В таблице 2 приведены результаты выявления наличия ДНК вируса ИРТ в клетках МДБК после культивирования с различными сроками облучения монослоя низкоинтенсивным лазерным излучением.

Из таблицы 2 видно, что в культуре клеток без облучения при обычной репродукции вируса ИРТ выявлялось в ПЦР  $11392,00 \pm 1938,12$  копий ДНК. Но облучение клеточного монослоя в течение 1 мин НЛИ степень угнетения снизилась на 220%, при облучении 1,5 мин - на 144%, при облучении 2,0 мин - 112%. Но облучение после заражения выявило обратный процесс – облучение 1 мин - 139%, 1,5 мин - 413%, 2,0 мин - 826%. Полученные данные свидетельствуют, что увеличение экспозиции до заражения снижа-

ет противовирусный эффект, но увеличение экспозиции после заражения – существенно угнетает репродукцию вируса.

Таблица 2 – Влияние облучения клеток МДБК низкоинтенсивным лазерным излучением

Режим облучения	Время облучения, мин	Количество копий ДНК	Степень угнетения репродукции вируса ИРТ, %
До заражения	1,0	5188,00±1959,71*	220
До заражения	1,5	7913,67±1350,74	144
До заражения	2,0	7662,50±107,37	112
После заражения	1,0	8182,00±3228,43	139
После заражения	1,5	2758,00±1104*	413
После заражения	2,0	3289,50±2282,5*	826
Контроль		11392,00±1938,12	-

Примечание: Достоверность \* –  $P \leq 0,05$

Вторую серию опытов по изучению влияния поляризованного света на репродукцию вирусов в системе *in vivo* провели на животных. Так, как особенностью иммунного ответа при использовании живых вакцин является репродукция вируса в чувствительных клетках, исследовали наличие вируса и его количества в пробах сыворотки крови вакцинированных животных. Для этого использовали разработанный нами метод количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Результаты наличия вируса ИРТ в сыворотке крови телят после вакцинации против ИРТ и облученных поляризованным полихроматическим светом представлены в таблице 3. Из таблицы 3 видно, что под воздействием поляризованного облучения отмечено угнетение репродукции вакцинного вируса в чувствительных клетках. Так, к 21 дню концентрация вируса составляла 118% к исходным данным, к 28 дню – 47,1%, к 35 дню = 9,3%. Но у контрольных животных эти показатели были значительно выше - к 21 дню концентрация вируса составляла 134% к исходным данным, к 28 дню – 117%, к 35 дню – 128%. Полученные результаты свидетельствуют, что облучение приводит к угнетению репродукции вируса после первичного введения вакцины. Усиление репродукции вируса отмечается после второй иммунизации.

Таблица 3 – Результаты обнаружения ДНК вируса ИРТ у телят после вакцинации против инфекционного ринотрахеита и облученных поляризованным полихроматическим светом (n = 5)

Группы телят	Количество копий ДНК в 250 мкл сыворотки крови телят на день взятия крови			
	7-й день	21-й день	28-й день	35-й день
	Ко-во (%)	Ко-во (%)	Ко-во (%)	Ко-во (%)
Контрольная группа (необлученные)	56,7±3,5 (100%)	78,5±4,5 (134%)	68,5±3,81 ** (117%)	75,1±5,63*** (128%)
Опытная группа (облученные)	90,4±2,79*** (100%)	106,5±4,51** (118%)	42,6±3,57 (47,1%)	8,4±0,76 (9,3%)

Достоверность: \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* –  $P \leq 0,001$

Эти данные объясняют воздействие ППС на репродукцию вируса ИРТ в системе *in vivo*, т.е. при облучении животных происходит активизация чувствительных клеток, приводящая к угнетению способности проникновения вируса в чувствительные клетки.

**Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что нами выявлено новое свойство поляризованного оптического излучения угнетать репродукцию вирусов как в системе *in vitro*, так и в системе *in vivo*. Это свойство имеет большую практическую значимость и результаты можно использовать:

- для изучения взаимодействия системы вирус-клетка;
- для профилактики и терапии вирусных инфекций у животных и человека;
- для снижения концентрации вирусов в организме инфицированных животных и для повышения эффективности лечебных мероприятий;
- для стимуляции поствакцинального иммунитета при иммунизации живыми вирусными вакцинами.

#### Литература

1. Ятусевич А.И. и др. Дифференциальная диагностика болезней животных: практ. пособие // Техноперспектива, Минск, 2010. – 449 с.
2. Машеро В.А., Красочко П.П. Новые экологические подходы к активизации иммунной системы организма животных и птиц // Ученые записки УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2004. – Т. 40. – С. 249 – 250.
3. Красочко П.А., Плавский В.Ю., Машеро В.А., Карамалак А.И., Красочко П.П., Пташок А.Л. Методические указания по использованию полихроматического поляризованного света для лечения и профилактики заболеваний животных, утв. ГУВ МСХП РБ // Изд. РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского», Минск,

2008. – 40 с.

4. Машеро В.А., Плавский В.Ю., Карамалак А.И. и др. Особенности воздействия полихроматического поляризованного света на организм животных // Биоэкология и ресурсосбережение: мат. VIII Межд. конф. молодых ученых, 21 – 22 мая 2009 г. – Витебск, 2009. – С. 143 – 144.

5. Красочко П. А., Плавский В. Ю., Борисовец Д. С. Результаты изучения антивирусного действия лазерного излучения // Ветеринарна Медицина : мижвід. тематичний навуков. зб. – Харків, 2015. – Вип. 101. – С. 84-88.

6. Красочко П. А., Плавский В. Ю., Красочко П. П. и др. Результаты изучения антивирусного действия полихроматического поляризованного света // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 4. – С. 154–162.

7. Брилли Г.Е., Петросян В.И., Житенева Э.А., Сеницын Н.И., Киричук В.Ф., Мартынов Л.А. Новые данные об изменении структуры биожидкостей под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения // Физическая медицина, 1996. - Т.5. - №1-2. - С.39-40.

8. Загускин С.Л., Загускина С.С. Лазерная и биоуправляемая квантовая терапия. – М.: Изд-во Квантовая медицина, 2004. – 113 с.

9. Козловская Л.Е., Улащик В.С. Фототерапия полихроматическим поляризованным светом (биопрототерапия) // Здоровоохранение, 199. - № 8 - С. 53-55.

10. Илларионов В. Е. Современные методы физиотерапии. М., изд. Медицина, 2007. – С. 164-171.

## **ПРИМЕНЕНИЕ МАЛОЙ АВИАЦИИ В БОРЬБЕ С БЕШЕНСТВОМ ДИКИХ ЖИВОТНЫХ**

*Мельник Р.Н.<sup>1</sup>, Гринь С.А.<sup>1</sup>, Мельник Н.В.<sup>1</sup>, Самуйленко А.Я.<sup>1</sup>, Клюкина В.И.<sup>1</sup>,  
Святенко М.С.<sup>1</sup>, Хаконов А.А.<sup>1</sup>, Барсуков Ю.И.,<sup>2</sup> Смирнов Д.А.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», Щелково Московской обл.  
e-mail: vnitibp@mail.ru

<sup>2</sup>ФГБНУ «Центр ветеринарии», Москва

<sup>3</sup>ГБУВ МО «Терветуправление 3», Щелково Московской обл.

**Резюме.** В статье показана эпизоотическая международная ситуация в отношении бешенства животных особенно диких плотоядных. Бешенство регистрируется более чем в 150 странах мира и наносит наибольший социальный и экономический ущерб. Представлены данные, что около 10 миллионов человек в год подвергаются вынужденной антирабической вакцинации из-за укусов больными или подозреваемыми в заболевании животными, в России около 440-450 тысяч человек.

Авторы статьи показали источники заражения бешенством: дикие животные, безнадзорные животные, домашние животные, в процентном соотношении. Так же показан европейский опыт по борьбе с бешенством, на основной территории Европейского Сою-