

УДК 619:615.27:615.9:57.082.26

КУЧИНСКИЙ М.П., д-р вет. наук; **НИКОЛАЕНКО С.А.**, магистр

БОРИСОВЕЦ Д.С., канд. вет. наук

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», **ФЕДОТОВ**

Д.Н., канд. вет. наук

УО «Витебская государственная ордена «Знак Почёта» академия

ветеринарной медицины»

ezhik-18.06@rambler.ru

АСПЕКТЫ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ НАНОМИКРОЭЛЕМЕНТОВ

В статье приводятся результаты обоснования безопасности применения наночастиц микроэлементов путём изучения экспериментального образца ветеринарного препарата на основе наночастиц Co, Cu, Fe.

Ключевые слова: наночастицы микроэлементов, цитотоксические свойства, *Tetrachimena pyriformis*, гематологические показатели, физико-химические свойства, относительная биологическая ценность и безвредность, морфологическое обоснование.

Постановка проблемы. В настоящее время широкое распространение получает направление, основанное на разработке препаратов нового поколения, включающих наноразмерные частицы биологически активных веществ [1, 2].

В животноводческих предприятиях Республики Беларусь широко распространены болезни минеральной недостаточности животных. Традиционное использование в профилактике гипомикроэлементозов растворов и препаратов на основе неорганических солей по разным причинам не всегда даёт желаемый эффект. Поэтому в последние годы большое внимание уделяется разработке новых средств профилактики болезней микроэлементной недостаточности, в том числе на основе наночастиц микроэлементов. Как показывают отечественные и зарубежные клинические исследования, перспективными в этом направлении являются препараты нового поколения на основе микроэлементов в виде наночастиц железа, кобальта и меди. Однако использование последних в животноводстве предъявляет повышенные требования к качеству и безопасности получаемой продукции [3–5].

Цель исследований – изучение безопасности применения на ряде биологических объектов экспериментального образца ветеринарного препарата на основе наночастиц Co, Cu, Fe.

В рамках поставленной цели решались следующие задачи:

а) изучить на культуре клеток СПЭВ цитотоксические свойства экспериментального образца препарата;

б) оценить безвредность экспериментального образца препарата на тест-организмах – инфузориях *Tetrachimena Pyriformis*;

в) определить влияние экспериментального образца препарата на гематологические показатели кроликов, физико-химические свойства, относительную биологическую ценность, безвредность мяса, печени и почек данного лабораторного животного, а также гистоструктуру гепатоцитов.

Материал и методы исследований. Наночастицы микроэлементов Co, Cu, Fe получены в ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси». На основе указанных выше наночастиц микроэлементов сконструирован экспериментальный образец препарата.

Работа выполнялась в 2010–2012 годах в условиях отделов и лабораторий РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» и УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

Испытания цитотоксичности экспериментального образца нанопрепарата осуществлены согласно методическим указаниям МУ 1.2.2635-10 «Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов» (Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010).

Безвредность экспериментального образца препарата оценивалась в опыте на тест-организмах – инфузориях *Tetrachimena Pyriformis*.

В опыте на кроликах изучали влияние созданного препарата на показатели гемопоэза и количество эритроцитов и уровень гемоглобина. Для этого по методу условных аналогов формировали опытную и контрольную группы животных. Опытным животным

експериментальний образец препарата вводили внутримышечно в дозе 2 мл. Контрольные кролики препаратами на основе микроэлементов не обрабатывались.

Органолептические исследования при исследовании мяса кроликов проводили по ГОСТ 7269-79 «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести». Свежесть и доброкачественность мяса исследовали по ГОСТ 23392-78 «Мясо».

Гистологические исследования проводили согласно методическим указаниям: «Организация гистологических исследований, техника изготовления и окраски гистопрепаратов» [6].

Результаты исследований и их обсуждение. При изучении цитотоксичности экспериментального образца нанопрепарата установлено, что через 24 часа в его разведениях 1:1, 1:2 и 1:4 наблюдалась полная дегенерация монослоя, в разведении 1:8 было поражено 50 % монослоя, 1:16 – 20–25 %, 1:32 и выше она не наблюдалась (рис. 1).

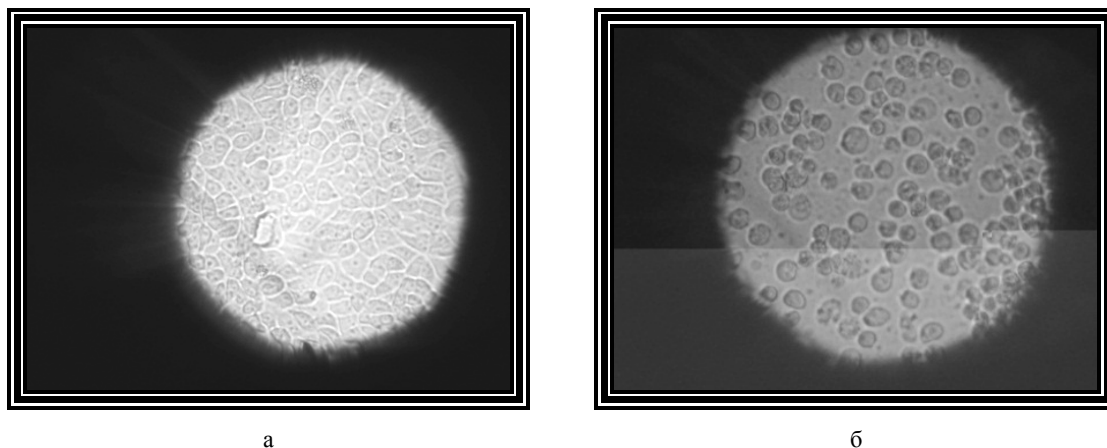


Рисунок 1. Культура клеток СПЭВ (x 20):
а) контроль клеток; б) после экспозиции с препаратом на основе наночастиц

Через 48 часов в лунках с нативным экспериментальным образцом препарата в разведении 1:8 была выявлена полная дегенерация монослоя, 1:16 – поражено 60–70 % монослоя, 1:32 и выше – изменений не наблюдалось.

Через 72 часа в лунках с нативным экспериментальным образцом в разведении 1:16 была отмечена полная дегенерация монослоя, в разведениях 1:32–1:64 – единичные поражения (дегенерация практически отсутствует).

Через 96 часов наблюдалась дегенерация монослоя клеток в лунках, в связи с чем дальнейшая оценка результатов была невозможна.

Таким образом, установлено, что экспериментальный образец на основе наночастиц Co, Cu и Fe обладает слабовыраженными цитотоксическими свойствами.

Результаты исследования безвредности экспериментального образца препарата на тест-организмах инфузориях *Tetrachimena Pyriformis* представлены в табл. 1.

Из данных таблицы 1 видно, что экспериментальный образец препарата обладает незначительной степенью вредности для простейших тест-организмов.

Таблица 1 – **Параметры безвредности экспериментального образца препарата на тест-организмах инфузориях *Tetrachimena Pyriformis***

Признаки отклонений от нормы	Разведение				
	1:10	1:20	1:50	нативный	контроль
Изменения формы, указывающие на нарушение осмотического давления	-	-	-	10 %	-
Изменения формы, связанные с прочей токсичностью движения	-	-	-	10 %	-
Цисты, мёртвые клетки, тени	-	-	-	3 %	-
Нарушения движения	-	-	-	20%	-
Заключение	Безвреден	Безвреден	Безвреден	Слабая степень вредности	Безвреден

Изучение влияния экспериментального препарата на гематологические показатели кроликов (эритроциты, гемоглобин) показало, что количество эритроцитов и уровень гемоглобина в опытной группе животных превышали таковые в контрольной и к концу эксперимента достигали физиологических лимитов (рис. 2, 3).

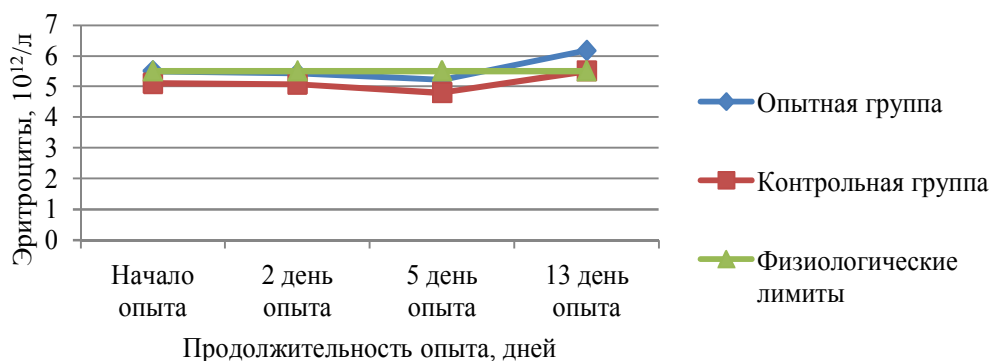


Рисунок 2. Среднее количество эритроцитов в крови опытной и контрольной групп кроликов

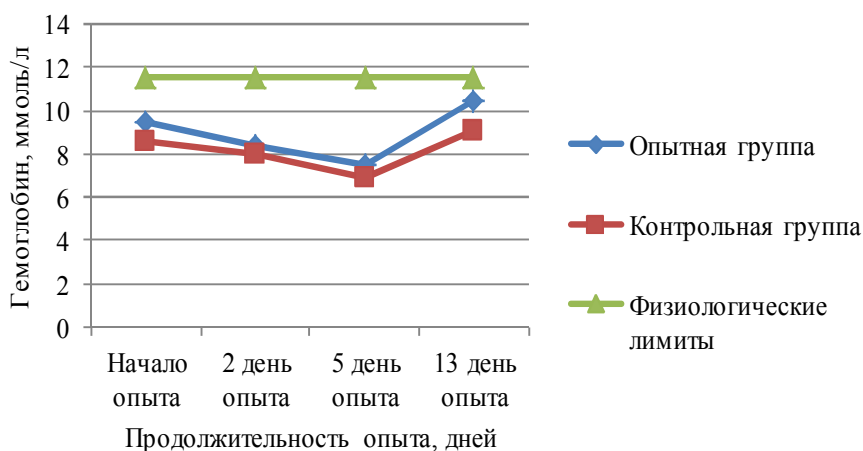


Рисунок 3. Средний уровень гемоглобина в крови опытной и контрольной групп кроликов

Изучение влияния экспериментального образца препарата на физико-химические свойства, относительную биологическую ценность и безвредность мяса, печени и почек кроликов показало, что все пробы мяса соответствовали доброкачественному продукту: мышцы слегка влажные, не оставляют пятен на фильтровальной бумаге, светло-красного цвета. На разрезе мясо плотное, упругое. Запах специфический, свойственный свежему мясу. Пробой варки во всех образцах отмечен специфический запах, характерный для данного вида мяса. Бульон прозрачный и ароматный. Мясо опытной группы кроликов по органолептическим и физико-химическим показателям не отличается от контрольных образцов и является доброкачественным.

При физико-химических исследованиях концентрация водородных ионов в крольчатине колебалась в пределах $6,03 \pm 0,05 - 6,05 \pm 0,03$, аминокислотный азот – $1,10 \pm 0,02 - 1,12 \pm 0,02$ мг КОН, бензидиновая проба на пероксидазу положительная, реакция на полипептиды отрицательная.

Анализ результатов биологической оценки мяса показал отсутствие отклонений морфологической структуры и двигательной активности простейших, что свидетельствует о его безвредности. Наблюдалась тенденция к увеличению относительной биологической ценности мяса, печени и почек, полученных от подопытных животных по сравнению с кроликами контрольной группы (табл. 2).

Таблица 2 – Результаты исследований биологической ценности мяса, печени и почек, полученных от кроликов

Группа	Мясо		Печень		Почки	
	клеток	в проц.	клеток	в проц.	клеток	в проц.
Опытная	240	102,6	378	101,1	400	102,0
Контрольная	234	100,0	374	100,0	392	100,0

Из данных таблицы 2 видно, что относительная биологическая ценность мяса, печени и почек животных опытной группы по отношению к контрольной составляла соответственно 102,6; 101,1 и 102,0 %.

При проведении гистологических исследований в печени кроликов под действием экспериментального образца препарата патоморфологических изменений не выявлено (рис. 4). В печени дольчатая структура вырисовывается более определенно, с выраженной центральной веней. Междольковые соединительнотканые перегородки развиты слабо, что придает печени псевдодольчатый тип строения, который объясняется видовыми особенностями гистологии органа у кроликов.

Паренхима печени преимущественно состоит из гепатоцитов с круглыми светлыми ядрами. По величине они не отличаются друг от друга. Цитоплазма гепатоцитов содержит зернистую массу, которая просветляется и местами вакуолизируется. Хорошо сформирована балочная структура печени, проявляющаяся благодаря тонким межбалочным перегородкам, содержащим эндотелиальные клетки с нитевидными темными ядрами. Центральные вены преимущественно пустые, имеют округло-вытянутую форму.

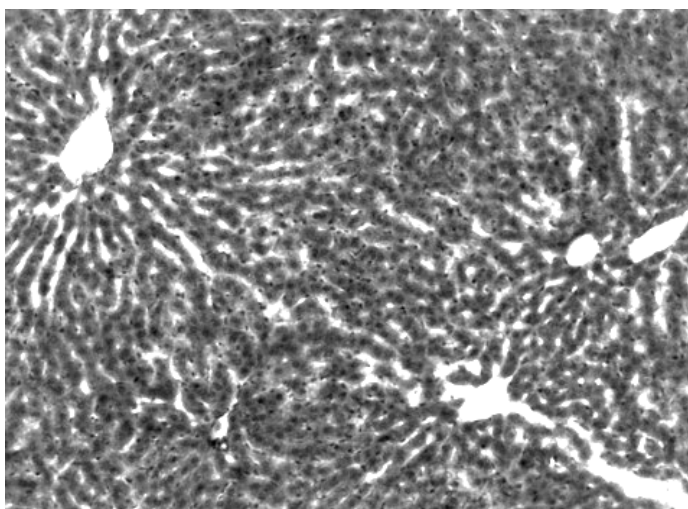


Рисунок 4. Гистологическая картина печени кроликов при применении экспериментального образца препарата

Полученные результаты подтверждают возможность использования наночастиц микроэлементов в создании безопасных препаратов, предназначенных для лечения и профилактики гипомикроэлементозов у сельскохозяйственных животных. Однако при реализации данного направления следует детально и всесторонне изучить механизмы взаимодействия наноразмерных частиц микроэлементов с клетками организма, а также пути их биотрансформации и выведения, что планируется в наших дальнейших исследованиях.

Выводы. 1. Установлено, что экспериментальный образец препарата на основе наночастиц Co, Cu и Fe обладает слабовыраженными цитотоксическими

свойствами и незначительной степенью вредности для простейших тест-организмов.

2. Созданный образец препарата оказывает благоприятное влияние на содержание эритроцитов и уровень гемоглобина в крови кроликов.

3. Мясо и продукты убоя кроликов, обработанных за 15 дней до убоя синтезированным препаратом в дозе 2 мл/гол, по органолептическим, физико-химическим показателям является доброкачественным и не отличается от контрольных образцов.

4. Морфологических изменений в печени кроликов под действием экспериментального образца препарата не выявлено.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кобаяси Н. Введение в нанотехнологию. / Н. Кобаяси. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2007 – 134 с.
2. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 123 с.
3. Bioreduction of AuCl₄⁻ Ions by the Fungus, *Verticillium* sp. and Surface Trapping of the Gold Nanoparticles / [P. Mukhejee, A. Ahmad, D. Mandal et al.] // *Angew. Chem.* – 2001. – V. 40 (19). – P. 3585–3588.
4. Davis N.T. Recent studies of antagonistic interactions in the aetiology of trace element deficiency and excess / N.T. Davis // *Proc Nutr Soc.* – 1974. – V. 33. – P. 293–298.
5. Effects of magnesium sulfate on tissue lactate and malondialde-hydelevels in experimental head trauma / [M.E. Ustun, M. Ak. A. Gurbilek, H. Vatansev et all.] // *Intensive Care Med.* – 2001. – Vol. 27 (1). – P. 264–268.
6. Организация гистологических исследований, техника изготовления и окраски гистопрепаратов: уч.-метод. пособие / В.С. Прудников, И.М. Луппова, А.И. Жуков, Д.Н. Федотов. – Витебск: ВГАВМ, 2011. – 28 с.

Аспекти безпечного застосування експериментального зразка ветеринарного препарату на основі наномікроелементів

М.П. Кучинський, С.А. Ніколаєнко, Д.С. Борисовець

У статті наведені результати обґрунтування безпечного застосування наночастинок мікроелементів шляхом вивчення експериментального зразка ветеринарного препарату на основі наночастинок кобальту, купруму і феруму.

Ключові слова: наночастинки мікроелементів, цитотоксичні властивості, *Tetrachimena pyriformis*, гематологічні показники, фізико-хімічні властивості, відносна біологічна цінність і нешкідливість, морфологічне обґрунтування.