

5. Вельбивец, Н. В. Послеродовый метрит коров (распространение, этиология, патогенез, лечение) / Н. В. Вельбивец, И. Н. Плахотнюк // Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию со дня рождения и 50-летию научно-практической деятельности доктора ветеринарных наук, профессора Г. Ф. Медведева. – Горки: БГСХА, 2013. – С. 194-199.
6. Конопельцев, И. Г. Воспаление вымени у коров: учебное пособие / И. Г. Конопельцев, В. Н. Шулятьев. – СПб.: Издательство СПбГАВМ, 2010. – 355 с.
7. Болезни крупного рогатого скота и свиней / П.А. Красочко [и др.]; Под общ. ред. П. А. Красочко. – Мн.: Технопринт, – 2003. – 464 с.
8. Кузьмич, Р. Г. Эндометриты у коров / Р. Г. Кузьмич. – Витебск, 1999. – 105 с.
9. Полянцева, П. П. Ветеринарное акушерство и биотехнология репродукции животных / П. П. Полянцева, В. В. Подберезный. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2001. – 480 с.
10. Лободин, К. А. Ликфол для коррекции воспроизводительной функции коров / К. А. Лободин, А. Г. Нежданов, В. С. Бузлама // Ветеринария. – 2006. – № 3. – С. 39-44.
11. Разработка, методы контроля и применение антибактериального препарата «Гистеросан МК» для лечения коров с метритным комплексом / Г. Ф. Медведев [и др.] // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – Горки БГСХА, 2015. – С. 73-82.
12. Частота проявления, лечение и профилактика болезней метритного комплекса / Г. Ф. Медведев [и др.] // Материалы международной науч.-практич. конференции «Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных». – Горки БГСХА, 2013. – С. 465-473.
13. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / НАН Беларуси, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского»; сост. А. Э. Высоцкий [и др.] – Минск, 2007. – 156 с.
14. England / David E. Noakes, Timothy J. Parkinson, Gary C. W. // W. V. Saunders Elsevier. Ltd., 2009. – P. 407-425, 198-201.
15. Defining postpartum uterine disease in cattle / I. M. Sheldon [et al.] // Theriogenology, 2006. – V. 65. – P. 1516-1530.

УДК 636:612(075.8)

ЭФФЕКТЫ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯХ

М. Г. Величко, Е. Г. Кравчик

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

Ключевые слова: саркома Уокер - 256, крысы-опухоленосители, супернатант, коллоид наночастиц серебра, бактериальный липополисахарид.

Аннотация. Проведено моделирование бактериальной интоксикации на группах белых крыс-самок линии Wistar путем подкожной инъекции раствора бактериального липополисахарида (ЛПС) и изучены эффекты различных концентраций коллоидов серебра в сочетании с липополисахаридом (LPS) на активность ферментов у животных-опухоленосителей (саркома Уокер - 256). В супернатантах печени, сердца, почек и селезенки крыс определяли ферменты

обмена глутамина и содержание тиоловых групп (небелковые SH-гр, белковые SH-гр и общие SH-гр) и малонового диальдегида (МДА) – в крови и гемолизатах. Коллоид наночастиц серебра был получен методом эрозивно-взрывного диспергирования металлов. Введение наночастиц при данном моделировании привело к росту уровня восстановленного глутатиона, изменению редокс-статуса. Стимулирующее влияние нанозахвата на развитие окислительного стресса обусловлено специфической активностью данного металла и связано, возможно, с наличием у наночастиц корпускулярного, волнового и квантового эффектов.

EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES ON ANIMAL-TUMOR CARRIERS

M. G. Velichko, E. G. Kravchyk

EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Terezhkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: Walker - 256 sarcoma, tumor-bearing rats, supernatant, colloid of silver nanoparticles, bacterial lipopolysaccharide.

Summary. The modeling of bacterial intoxication on groups of white Wistar female rats was carried out by subcutaneous injection of a solution of bacterial lipopolysaccharide (LPS) and the effects of various concentrations of silver colloids in combination with lipopolysaccharide (LPS) on the activity of enzymes in animal tumor carriers (Walker Sarcoma 256) were studied. In supernatants of the liver, heart, kidneys and spleen of rats, the enzymes of glutamine metabolism and the content of thiol groups (non-protein SH-gr, protein SH-gr and total SH-gr) and malondialdehyde (MDA) in blood and hemolysates were determined. A colloid of silver nanoparticles was obtained by the method of erosive-explosive dispersion of metals. The introduction of nanoparticles in this simulation led to an increase in the level of reduced glutathione and a change in redox status. The stimulating effect of nano capture on the development of oxidative stress is due to the specific activity of this metal and is possibly associated with the presence of particle, wave, and quantum effects in nanoparticles.

(Поступила в редакцию 31.05.2020 г.)

Введение. Изучение научных и патентных публикаций показало, что исследования о влиянии наночастиц, содержащих биологически активные соединения, на патологически измененные ткани являются актуальными и обладают высокой степенью новизны. Нанокapsулы, благодаря своим малым размерам, могут проникать через тонкие капилляры, попадать в клетки тканей. Встречаются сообщения о том, что иммобилизация наночастицами лекарственных веществ способствует оптимизации их доставки к пораженным органам-мишеням. Современные технологии позволяют получать различные нанобъекты, содер-

жащие катионы металлов. Металлическое серебро активно действует практически на всю патогенную микрофлору. Антимикробная активность серебра и его препаратов связана с комплексобразующим, биохимическим и каталитическим действием ионов серебра на бактериальные ферменты, белки и мембранные структуры. Положительным моментом является очень большое различие в токсичности соединений серебра для низших форм жизни (одноклеточные, бактерии, вирусы и т. д.) и для высших организмов (животные, человек), достигающее 5-6 порядков (в 105-106 раз). Концентрации соединений серебра, летальные для микроорганизмов, практически безвредны для животных и человека. Наноразмерное серебро является активным иммуномодулятором. У наноразмерных частичек серебра наблюдается аномально высокая активность, намного выше, чем у серебросодержащих ионов или молекул и чем у т. н. «блочного», крупного серебра [1-7].

Цель работы – определить эффекты различных концентраций коллоидов серебра в сочетании с липополисахаридом (LPS) на активность ферментов при злокачественном росте.

Материал и методика исследований. Для эксперимента были отобраны крысы-самки линии Wistar массой 130-150 г, содержащиеся на стандартном рационе вивария, в количестве 24 шт. Всем животным была перевита саркома Уокера - 256. Животные были разделены на три группы по 8 крыс в каждой. Крысы 1-й группы контрольные, получавшие инъекции физиологического раствора в режиме, аналогичном животным опытных групп. Крысам 3-й группы за 72 ч до декапитации внутривентриально вводился раствор наночастиц серебра в объеме 0,5 мл ежедневно из расчета суммарной дозы 6,7 нмоль/кг массы тела. Для создания технологий диагностики патологических образований в биологических объектах, предварительно допированных наночастицами, проведено моделирование бактериальной интоксикации на группах белых крыс-самок линии Wistar путем подкожной инъекции раствора бактериального липополисахарида (ЛПС). Крысы 2-й, а также 3-й группы получали подкожно инъекцию раствора липополисахарида (LPS) в объеме 0,5 мл из расчета LPS 0,4 мг/кг массы тела за 48 ч до забоя.

В супернатантах печени, сердца, почек и селезенки крыс определяли ферменты обмена глутамина (глутаматдегидрогеназа (ГлДг), глутаминсинтетаза (ГС), фосфат-зависимая глутаминаза (ФЗГ), фосфат-независимая глутаминаза (ФНГ)), содержание тиоловых групп (небелковые SH-гр, белковые SH-гр и общие SH-гр) и малонового диальдегида (МДА) в крови и гемолизатах у животных-опухоленосителей. Кол-

лоид наночастиц серебра был получен методом эрозивно-взрывного диспергирования металлов [8].

Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения Graph Pad Prism (t-тест; ANOVA, dunnett's test). Различия считали достоверными при $P < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. В исследуемых тканях не выявлено изменений уровня глутатиона, однако в печени и селезенке животных-опухоленосителей обнаружен эффект наночастиц на уровень белковых сульфгидрильных групп (нормализация в печени и увеличение в селезенке) (таблица 1).

Таблица 1 – Активность ферментов обмена глутамина в печени крыс-самок в модели с введением LPS на фоне назначения наночастиц

Фермент	Группа		
	контроль	LPS	наночастицы + LPS
ГС, мкмоль γ -ГТК \times мин ⁻¹ \times мг белка ⁻¹	0,68 \pm 0,04	0,84 \pm 0,08*	0,62 \pm 0,01*
ФЗГ, мкмоль НАД + Н ⁺ \times мин ⁻¹ \times мг белка ⁻¹	14,74 \pm 0,38	17,27 \pm 0,12*	15,24 \pm 0,74*#
ФНГ, мкмоль НАД + Н ⁺ \times мин ⁻¹ \times мг белка ⁻¹	6, 81 \pm 0,95	8,63 \pm 1,40*	5,22 \pm 1,12*#
ГлДг (глу), мкмоль НАД + Н ⁺ \times мин ⁻¹ \times мг белка ⁻¹	11,94 \pm 1,05	30,56 \pm 0,77*	47,78 \pm 1,11*#
ГлДг (α -кг), мкмоль НАД ⁺ \times мин ⁻¹ \times мг белка ⁻¹	17,11 \pm 1,17	38,19 \pm 6,99*	19,34 \pm 4,47#

*Примечание – * достоверно по отношению к контролю; # достоверно по отношению к группе «LPS»*

Активность глутаминсинтетазы в печени, сердце и селезенке у животных, получавших коллоиды серебра, не превышала величин контрольных животных. Активность глутаматдегидрогеназы (субстрат L-кетоглутарат) в почках, сердце и селезенке была достоверно выше в этой группе животных, активность глутаматдегидрогеназы (субстрат – глутамат) во всех тканях была достоверно ниже, чем в первой и второй группах. Уровень белковых тиоловых групп (белковые SH-гр) нормализовался у животных, получавших подкожно коллоиды серебра (2 группа). Указанные эффекты были выявлены в почках, сердце и селезенке.

Следует отметить, что введение животным ЛПС (в дозе 0,4 мг/кг массы тела за 48 ч до забоя) не сопровождалось изменениями показателей окислительного статуса (белковых SH-групп и GSH) в крови животных. В то же время отмечено повышение концентрации МДА (при расчете показателя на мл плазмы, но не на мг белка). Вводимые на

фоне ЛПС наночастицы повышали концентрацию МДА (как при пересчете на мл плазмы, так и на мг белка) (таблица 2).

Таблица 2 – Концентрация МДА в плазме и гемолизате крови крыс в модели с введением липополисахарида (LPS) на фоне назначения наночастиц

Показатель	Группа		
	контроль	LPS	наночастицы + LPS
плазма, нмоль/мл плазмы	4,03 ± 0,32	4,96 ± 0,43*	5,13 ± 0,36*
плазма, нмоль/мг белка	0,062 ± 0,013	0,068 ± 0,007	0,123 ± 0,013*•
гемолизат, нмоль/мл взвеси эритроцитов	10,38 ± 0,86	10,70 ± 1,13	10,93 ± 0,76
Гемолизат, нмоль/г гемоглобина	0,052 ± 0,002	0,051 ± 0,01	0,056 ± 0,07

Примечание – * достоверно по отношению к контролю; • достоверно по отношению к группе LPS

Одновременно в эритроцитах активность глутатиопероксидазы в реакции с H_2O_2 падала, а с t-BOOH – повышалась. Приведенные данные указывают на возможность стимуляции развития окислительного стресса в крови при введении наночастиц на фоне интоксикации ЛПС.

Исследование показателей окислительного статуса в печени крыс, получавших ЛПС, обнаружило несколько отличные от крови изменения. Концентрация МДА (нмоль/г ткани) достоверно падала. При исследовании системы глутатиона в печени крыс мы выявили некоторую активацию защитных систем организма в условиях моделирования бактериальной интоксикации (таблица 3). Введение ЛПС вызывало небольшой рост восстановленного глутатиона, сопровождавшееся снижением содержания его окисленной формы.

Таблица 3 – Активность глутатионредуктазы, Г-6-Ф-Дг и концентрация МДА в печени крыс в модели с введением липополисахарида на фоне назначения наночастиц

Показатель	Группа		
	контроль	LPS	наночастицы + LPS
1	2	3	4
ГР, нмоль NADFH/мин/мг белка	6,89 ± 0,93	11,57 ± 0,48*	9,7 ± 0,74*•
Г-6-Ф-Дг, мкмоль NADF/мин/г ткани	62,25 ± 5,53	73,16 ± 7,35*	67,03 ± 3,59

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4
---	---	---	---

МДА, нмоль/г ткани	52,62 ± 5,7	45,41 ± 5,62*	50,59 ± 9,22
--------------------	-------------	---------------	--------------

Примечание – * достоверно по отношению к контролю;
• достоверно по отношению к группе LPS

Это приводило к небольшому сдвигу соотношения восстановленного глутатиона к окисленному и, соответственно, росту содержания общего глутатиона. Данные изменения обусловлены достоверной активацией глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (основного поставщика восстановленных форм НАДФ для синтеза GSH) на фоне ЛПС.

Введение наночастиц при данном моделировании привело к дальнейшему росту уровня восстановленного глутатиона, редокс статуса, что обусловлено сопутствующей активацией глутатионредуктазы на фоне стабильного уровня окисленного глутатиона. Концентрация МДА, активность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы не отличались от контроля.

Высокий уровень общего глутатиона в печени животных, получавших наночастицы на фоне ЛПС, свидетельствует об активации процессов биосинтеза, для которых немного сниженный уровень глутатионредуктазы являлся вполне достаточным.

Введение наночастиц при данном моделировании привело к росту уровня восстановленного глутатиона, редокс статуса, что обусловлено сопутствующей активацией глутатионредуктазы на фоне стабильного уровня окисленного глутатиона.

В группе животных, которые получали коллоиды серебра вместе с бактериальным липополисахаридом, концентрация МДА достоверно снижалась в плазме, но не изменялась в гемолизатах эритроцитов (таблица 4).

Таблица 4 – Концентрация МДА в плазме и гемолизате крови крыс

Группа	Плазма		Гемолизат	
	нмоль/мл плазмы	нмоль/мг белка	нмоль/мл взвеси эритроцитов	нмоль/г гемоглобина
Контроль	2,99 ± 0,52	0,07 ± 0,004	4,05 ± 0,27	0,014 ± 0,001
LPS	2,21 ± 0,25*	0,036 ± 0,001*	3,63 ± 0,28*	0,013 ± 0,001*
наночастицы + LPS	1,61 ± 0,14*##+	0,026 ± 0,003*##+	3,66 ± 0,4*	0,014 ± 0,001##+

Примечание – * достоверно по отношению к контролю;
достоверно к группе «LPS»; + достоверно к группе «наночастицы + LPS»

Стимулирующее влияние нанозахвата на развития окислительно-стресса обусловлено специфической активностью данного металла и

связано, возможно, с наличием у наночастиц корпускулярного, волнового и квантового эффектов.

Заключение. Доказана целесообразность использования показателей системы глутатиона (GSH, GSSG, активность глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы), активности глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, системы глутамина (глутаминсинтетаза, фосфат-зависимая и фосфат-независимая глутаминазы, глутаматдегидрогеназа в прямой и обратной реакция) тестируемых в печени крыс с одновременным определением малонового диальдегида (МДА, в плазме и гемолизате крови) для оценки эффектов коллоидов наночастиц серебра на патологические образования в биологических объектах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Применение биомагнитных носителей в медицине и ветеринарии / О. С. Бурова [и др.] // Сборник докладов. – 2002, Москва, ИБХФ им. Н. М. Эмануэля РАН. – С. 60-67.
2. Серебро в медицине / Е.М. Блажитко [и др.]. – Новосибирск: Наука-Центр, 2004. – 254 с.
3. Величко, М. Г. Подходы к изучению сочетанных эффектов транспортных носителей и физических факторов для целенаправленной доставки наночастиц в патологически измененные клетки/ М. Г. Величко // Материалы конференции «Современные технологии сельскохозяйственного производства» сборник тезисов 17-18 апреля 2007. ГГАУ, 2007. – С. 232.
4. Величко, М. Г. Модификация поверхностно активными веществами коллоидов солей серебра для работы на биологических объектах / М. Г. Величко, М. А. Ельчанинова, О. В. Кондратович // Материалы XII межд. науч. практ. конф. «Современные технологии сельскохозяйственного производства». – Гродно, 2009. – С. 381-382.
5. Величко, М. Г. Окислительный статус крыс при воздействии наночастицами серебра / М. Г. Величко, М. А. Ельчанинова, Т. Ч. Гроховская // Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XIII Междунар. Науч.-практ. Конф., Гродно, 2010 г. // Гродненский государственный аграрный университет. – Гродно, 2010. – С. 163-165.
6. Величко, М. Г. Влияние наночастиц серебра в сочетании с производными глутамина и фенилаланина на активность трансаминаз в тканях крыс-опухоленосителей / М. Г. Величко, И. О. Леднева // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. статей Респ. науч.-практ. конф. – Гомель, 2012. – С. 56-58.
7. Леднева, И. О. Использование показателей системы глутатиона для оценки эффектов наночастиц серебра на патологические образования в биологических объектах / И. О. Леднева, М. Г. Величко, Е. Г. Кравчик // Донозоология и здоровый образ жизни. – 2014. – № 2. – С. 19-24.
8. Каплуненко, В. Г. Получение новых биогенных и биоцидных наноматериалов с помощью эрозивно-взрывного диспергирования металлов/ В. Г. Каплуненко, М. В. Косинов, Д. В. Поляков // Сборник трудов по материалам научно-практической конференции с международным участием «Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины», 11-12 октября 2007 г., СибУПК. – Новосибирск, 2007. – С. 134-137.