

УДК 619: 616-097.3:661.182:612.014.46

РІВЕНЬ ПОКАЗНИКІВ ІМУННОЇ РЕАКТИВНОСТІ У КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ОДНОРАЗОВОГО ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОГО ВВЕДЕННЯ СУМІШІ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ (Ag, Fe, Cu, двоокис Mn)

М. Є. РОМАНЬКО, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник лабораторії токсикологічного моніторингу Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків
E-mail: marina_biochem@ukr.net

Наночастинки металів (NPMe) у вигляді колоїдних дисперсій є однією з найбільш біодоступних форм металів у порівнянні із традиційно використовуваними солями відповідних металів. Метою досліджень стало визначення рівня показників гуморальної і клітинної ланок імунітету в крові щурів за умов одноразового внутрішньошлункового введення суміші NPMe (Ag, Cu, Fe, двоокис Mn) у діапазоні доз у порівнянні із сумішшю солей відповідних металів.

За визначенням рівня гематологічних і показників неспецифічної резистентності та клітинних медіаторів імунної реактивності в організмі щурів доведено біосумісність суміші NPMe (Ag, Cu, Fe, двоокис Mn) у дозі 0,3 мг/кг маси тіла, що у подальшому доцільно враховувати при розробленні мінеральних біодобавок у такому композиційному складі зі спрямованою адаптаційною імуномодулюючою дією.

Але, за одноразового введення суміші NPMe у дозах 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг і 4,0 мг/кг маси тіла характер патогенетичних змін досліджуваних показників носить дозозалежний характер та вказує на вибіркочну імунотоксичну дію наночастинок. Коливальний характер змін кількості лейкоцитів, зниження кількості еритроцитів на фоні помірного зниження вмісту гемоглобіну (на 27,4 і 17,6 %), гіперглобулінемія поряд з надлишковим утворенням таких імунотоксичних метаболітів як ЦІК середньої молекулярної маси і серомукоїдів (на 50,8 і 30,5 %) та маркерів гострофазової імунної реактивності – γ -інтерферону та інтерлейкіну-1 β (у 2,9 і 2,4 рази, ($p \leq 0,05$)) – у плазмі крові дослідних щурів вказує на загострення патологічного процесу з розвитком запальних реакцій внаслідок імунотоксичного впливу суміші NPMe у дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла відповідно.

Отримані дані стали передумовою для проведення експерименту по визначенню ефектів хронічного впливу суміші NPMe на організм лабораторних тварин, а знання щодо їх біосумісності та біодоступності є базовими для доклінічного і клінічного тестування наночастинок як субстанцій ветеринарних засобів і кормових біодобавок.

Ключові слова: токсичність, імунітет, неспецифічна резистентність, кров, суміш наночастинок металів, солі металів, плазма, щури

Актуальність. Чисельність відомих наноматеріалів постійно зростає, але серед дослідників немає єдиної думки щодо можливого токсичного впливу нано-

розмірних сполук. Відомо, що наночастинки металів (NPMe) у вигляді колоїдних дисперсій є однією з найбільш біодоступних форм металів у порівнянні із



традиційно використовуваними солями відповідних металів.

Дослідження потенційних ризиків використання наноматеріалів може бути адекватним за використання ключових системних характеристик живого організму, чутливих до токсичної дії. Кров, як одна із біологічних рідин організму, відповідає якісним і кількісним змінам свого складу на будь-які екзогенні та ендогенні фактори, тобто є своєрідним біомаркером, а дослідження клініко-біохімічних показників крові є одним із інформативних методів, що дозволяє встановити перехід фізіологічного стану організму в патологічний.

Аналіз останні досліджень та публікацій. Завдяки високій біодоступності NPMe за контактної взаємодії з біосистемами, їх мембранотропним і каталітичним властивостям, з одного боку виникають механічні, токсичні, імунологічні пошкодження через запалення лімфатичної системи, ураження нирок, печінки і селезінки лабораторних тварин [1, 2]. Наявність цито-, імунотоксичних та інших негативних ефектів NPMe залежить від їх форми, концентрації та розміру. З іншого боку – існують літературні повідомлення, які, навпаки, доводять спроможність NPMe, зокрема Аргентуму та Ауруму, впливати на напруженість імунітету. Так, механізми імуномодулюючих ефектів цих NPMe, навіть у порівнянні зі стероїдними гормонами, пов'язують з індукцією ретикуло-ендотеліальної системи та посиленням обміну речовин через активацію макрофагів і окиснювальних процесів у головного мозку, стимуляцію гуморальних імунних реакцій за підвищенням концентрації імуноглобулінів класів А, М і G, абсолютної кількості Т-лімфоцитів та функціалізацію ствольних клітин, нормалізацію рівня цитокінів TNF- α і IL-1 β , що переконливо вказує на можливість використання нанометалів

як субстанції для створення терапевтичних та імунобіологічних засобів [3, 4].

Мета дослідження – визначення рівня показників гуморальної і клітинної ланок імунітету в крові щурів за умов одноразового внутрішньошлункового введення суміші NPMe (Ag, Cu, Fe, двоокис Mn) у діапазоні доз у порівнянні з сумішшю солей відповідних металів.

Матеріали і методи дослідження. На сьогодні одним із пріоритетних напрямів сучасних нанобіотехнологій є створення нових засобів: нанонутрицевтиків, наносорбентів, дезінфектантів, пробіотиків тощо, у складі яких особлива увага приділяється есенційним металам у нанорозмірному стані. З метою створення ефективної кормової біодобавки спрямованої дії – нанонутрицевтика – нами було проведено низку попередніх досліджень щодо тестування безпечності або потенційної токсичності наночастинок Купруму, Феруму, Цинку, двоокису мангану, Аргентуму, Ауруму та Кобальту у розмірно-концентраційному діапазоні в експериментах *in vitro* [5, 6]. Встановлено, що за такими системними біомаркерами як генотоксичність, мутагенність та загальна токсичність (за активністю мембранної АТР-ази та цитозольної ЛДГ-ази) на моделі субклітинних фракцій еукаріотичних клітин колоїдні дисперсії наночастинок Аргентуму, Феруму, Купруму та двоокису Мангану у вихідних концентраціях є безпечними та біосумісними.

У роботі використовували колоїдні дисперсії наступних NPMe: наночастинок Аргентуму (NPAg) – ~ 30 нм із вихідною концентрацією 86,4 мкг/см³; наночастинок Феруму (NPFe) – ~ 100 нм, 3174,0 мкг/см³; наночастинок Купруму (NPCu) – ~ 70 нм, 2678,6 мкг/см³; наночастинок двоокису мангану (NP двоокису Mn) – ~ 50 нм, 2785,0 мкг/см³ за металом відповідно, які отримували методом хімічної конденсації шляхом відновлення відповід-

них солей металів у водному середовищі [7], що дозволяє отримувати стійкі водні дисперсії наночастинок певного розміру.

Суміш NPMe містила NPAg, NPFe, NPCu та NP двоокису Mn у аліквотному співвідношенні з кінцевою концентрацією 100 мкг/см³ за металом відповідно.

Як препарат-порівняння в дослідженнях використовували розчин суміші солей відповідних металів у іонній формі: AgNO₃, (CuSO₄ · 5H₂O), (MnSO₄ · 5H₂O) і (FeSO₄ · 7H₂O) у аліквотному співвідношенні з кінцевою концентрацією 100 мкг/см³ за металом відповідно.

Дослідження були проведені за умов віварію та у лабораторії токсикологічного моніторингу відділу токсикології, безпеки та якості с.-г. продукції ННЦ «ІЕКВМ» на 144 статевозрілих щурах-самцях лінії *Vistar* масою (200-250) г. За принципом аналогів було сформовано 6 груп тварин по 24 щури у кожній (табл. 1).

Тваринам I і II дослідних груп вводили одноразово внутрішньошлунково за допомогою зонду розчини суміші NPMe і солей відповідних металів у дозі 0,3 мг/кг маси тіла, III, IV і V дослідних груп – NPMe у дозах, що перевищували рекомендовану біотичну дозу препарату в 3,3, 6,7 і 13,3 рази (1,0; 2,0 і 4,0 мг/кг маси тіла) відповідно.

Тваринам контрольної групи вводили за аналогічних умов за допомогою зонду 2 см³/щура фізіологічний розчин натрію хлориду (NaCl).

Для визначення рівня гематологічних і біохімічних показників крові у вищезазначені терміни досліджень (табл. 1) по 6 щурів з кожної групи декапітували за умов легкого хлороформного наркозу та відбирали зразки крові шляхом тотального знекровлення.

Експериментальні дослідження на тваринах проводили з урахуванням основних принципів біоетики: утримання, догляд за тваринами та їх годівлю здійснювали згідно з нормами та раціонами, рекомендованими для даного виду лабораторних тварин. За період досліду тварини всіх груп мали вільний доступ до води [8, 9].

Рівень гематологічних показників досліджували за загальноприйнятими методами [9]. У плазмі крові визначали концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси шляхом осадження білкових комплексів антиген-антитіло ПЕГ-6000 та серумоїдів (Sm) – за різницею оптичної густини за довжини хвиль 260 нм та 280 нм, як описано в роботі [10]. Рівень загального білка, альбумінів, фракцій глобулінів, інтерферону та інтерлейкіну-1β в плазмі

1. Схема експерименту з вивчення одноразового впливу суміші NPMe на організм білих щурів лінії *Vistar* (n = 144)

Група тварин	Доза на кг маси тіла, мг/кг	Терміни дослідження, доба				
		1	3	7	14	
		Кількість тварин для дослідження				
Контроль, n = 24	NaCl, 2 см ³ на тварину	6	6	6	6	
Дослідні, n = 24	I	NPMe, 0,3 мг/кг маси тіла	6	6	6	6
	II	Суміш солей Me, 0,3 мг/кг маси тіла	6	6	6	6
	III	NPMe, 1,0 мг/кг маси тіла	6	6	6	6
	IV	NPMe, 2,0 мг/кг маси тіла	6	6	6	6
	V	NPMe, 4,0 мг/кг маси тіла	6	6	6	6



крові тварин визначали за використання наборів реактивів виробництва фірми «HUMAN» (Німеччина).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета прикладних програм Microsoft Excel 2003 (for Windows XP) із використанням t-критерію Ст'юдента ($p < 0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення. Результати проведених досліджень свідчать (табл. 2, 3), що за одноразового введення суміші NPMe у підвищених дозах (III, IV і V групи), починаючи з 1-ої доби експерименту, в крові тварин реєстрували збільшення кількості лейкоцитів та зниження кількості еритроцитів і вмісту загального гемоглобіну, що у середньому складало відповідно 34,3 % та 38,2 % і 17,6 % ($p < 0,05$) відносно контрольних значень цих показників.

З результатів досліджень, наведених у таблиці 2 видно, що на 14-ту добу досліду в крові щурів, що одержали максимально введену дозу суміші NPMe (4,0 мг/кг маси тіла), кількість лейкоцитів вже почала вірогідно зменшуватись на 18,2 % у порівнянні з цим показником у контрольній групі.

З даних таблиці 3 виявляється, що на 14-ту досліду зниження рівня еритроцитів залишалось вірогідним у щурів III і V груп, а рівня загального гемоглобіну – лише у крові тварин, що одержували максимальну дозу суміші NPMe (4,0 мг/кг маси тіла), що вказує на порушення перенесення Оксигену від легень до тканин і вуглекислого газу від тканин до легень.

Визначена спрямованість змін вмісту еритроцитів та наповнення їх гемом через добу та їх часткову нормалізацію через 14 діб після введення суміші NPMe, очевидно, зумовлено тим, що утилізований Ферум із наночастинок метаболічним шляхом входить до гему еритроцитів. Так, у роботі [11] зазначено, що у разі введення щурам із залізодефіцитною анемією аліментарного походження 30 мг Fe/кг маси тіла препарату на основі наночастинок (AMI-25) рівень гематокриту досягав нормального за 7 діб.

Здатність організму протистояти агресивному впливу чинників біотичної і абіотичної природи (екзо- і ендотоксинам) тісно пов'язана з імунною реактивністю

2. Вміст лейкоцитів у крові щурів за одноразового внутрішньо шлункового введення розчинів суміші NPMe та суміші солей відповідних металів у динаміці 14 діб ($M \pm m$; $n = 6$)

Група тварин	Лейкоцити, 109/л			
	Термін дослідження, доба			
	1-ша	3-тя	7-ма	14-та
Контроль – NaCl	9,52 ± 0,56	10,64 ± 0,80	9,92 ± 0,80	10,96 ± 0,88
I. Суміш NPMe: 0,3 мг/кг маси тіла	11,68 ± 0,82	10,88 ± 0,80	11,08 ± 0,76	11,80 ± 0,84
II. Суміш солей Me: 0,3 мг/кг маси тіла	11,04 ± 0,56	10,72 ± 0,64	12,84 ± 1,60	11,12 ± 0,88
III. Суміш NPMe: 1,0 мг/кг маси тіла	12,00 ± 0,48*	12,24 ± 0,96*	13,28 ± 0,32*	12,96 ± 0,40*
IV. Суміш NPMe: 2,0 мг/кг маси тіла	13,20 ± 0,40*	13,76 ± 0,88*	13,76 ± 0,96*	13,56 ± 0,28*
V. Суміш NPMe: 4,0 мг/кг маси тіла	16,48 ± 0,64*	15,22 ± 0,92*	13,60 ± 1,12*	8,96 ± 0,40*

Примітка у цій та наступних таблицях: * – різниця значень показника вірогідна при ($p < 0,05$) відносно значень такого показника у контрольних тварин.

3. Кількість еритроцитів та вміст загального гемоглобіну в крові щурів за одноразового внутрішньошлункового введення розчинів суміші NPMе та суміші солей відповідних металів впродовж 14 діб ($M \pm m$; $n = 6$)

Група тварин	Термін дослідження, доба	
	1-ша	14-та
Еритроцити, 1012/л		
Контроль – NaCl	8,20 ± 0,39	7,99 ± 0,47
I.Суміш NPMе: 0,3 мг/кг маси тіла	6,81 ± 0,05	6,87 ± 0,52
II.Суміш солей Me: 0,3 мг/кг маси тіла	6,19 ± 0,28*3	6,39 ± 0,68
III.Суміш NPMе: 1,0 мг/кг маси тіла	6,73 ± 0,23*	6,11 ± 0,35*
IV.Суміш NPMе: 2,0 мг/кг маси тіла	6,51 ± 0,66*	7,09 ± 0,48
V.Суміш NPMе: 4,0 мг/кг маси тіла	5,77 ± 0,29*	5,50 ± 0,26*
Загальний гемоглобін, г/л		
Контроль – NaCl	135,60 ± 2,38	124,30 ± 5,18
I.Суміш NPMе: 0,3 мг/кг маси тіла	122,10 ± 5,40	131,10 ± 6,50
II.Суміш солей Me: 0,3 мг/кг маси тіла	127,10 ± 3,03	112,90 ± 11,00
III.Суміш NPMе: 1,0 мг/кг маси тіла	114,10 ± 3,13*	107,60 ± 10,68
IV.Суміш NPMе: 2,0 мг/кг маси тіла	118,80 ± 8,80*	118,10 ± 5,00
V.Суміш NPMе: 4,0 мг/кг маси тіла	106,40 ± 2,45*	97,20 ± 4,75*

організму, представляючи собою одне з основних її наслідків і виразів.

У таблиці 4 наведені результати досліджень показників білкового профілю та гуморальної ланки імунної системи в плазмі крові щурів, що одержували розчини суміші NPMе у дозовому діапазоні та суміші солей відповідних металів, у динаміці експерименту.

Так, одержані результати свідчать, що на фоні нормальних (фізіологічних) значень вмісту загального білка у плазмі крові щурів, яким вводили підвищені дози суміші NPMе (III – V групи) впродовж дослідів встановлювали зміни у кількісному співвідношенні білкових фракцій у протейнограмі тварин. Так, рівень альбумінів у крові щурів III дослідної групи почав знижуватись вже на 1 добу після введення суміші NPMе, а IV і V груп – починаючи з 3 доби, що складало у середньому відповідно 14,2, 15,3 і 17,0 % ($p \leq 0,05$).

Вміст загальних глобулінів у плазмі крові дослідних тварин, особливо IV і V груп, відповідно був підвищеним відносно їх контрольних значень ($p \leq 0,05$), що знайшло відображення на значенні показника коефіцієнту кількісного співвідношення альбумін/глобулінів ($< 1,00$). Такий тип протейнограми вказує на індукцію імунної реактивності в організмі дослідних щурів внаслідок введення суміші NPMе у дозовому діапазоні.

Відомо, що утворення імунних комплексів – фізіологічних продуктів реакції антиген-антитіло, є частиною захисних імунних механізмів, тобто одним з компонентів імунної відповіді. Рівень продукції ЦІК відображає фази розвитку запального процесу і свідчить про взаємозв'язки з клінічним перебігом патології.

З результатів, які наведені в таблиці 5, видно, що вірогідне зростання рівня утворення ЦІК середньої молекулярної маси впродовж всього експерименту реєструва-



ли в плазмі крові щурів, що одержали підвищені дози суміші NPMe – 2,0 і 4,0 мг/кг маси тіла, а за введення у дозі 1,0 мг/кг та розчину суміші солей металів у біотичній дозі – лише на 14-ту добу досліду. Так, на цей час значення ЦІК у плазмі крові щурів II, III, IV і V груп підвищувались у середньому на 16,4, 49,3, 55,2 і 82,1 % ($p \leq 0,05$) відносно їх контрольного рівня. Вважають, що виражене підвищення рівня ЦІК в

кінці гострого і особливо протягом хронічного захворювання зумовлено активацією гуморального імунітету і надходженням антигену в кров та свідчить про несприятливий прогноз [12, 13].

При визначенні рівня утворення білків підгострої фази – патологічних білків – серомукоїдів встановлено (табл. 5), що рівень показника зростає у плазмі крові щурів III групи, починаючи з 7-ї доби, та V

4. Стан показників білкового профілю у плазмі крові щурів за одноразового внутрішньо шлункового введення розчинів суміші NPMe та суміші солей відповідних металів у динаміці 14 діб ($M \pm m; n = 6$)

Група тварин	Термін досліджень, доба	Загальний білок, г/л	Альбуміни, г/л	Глобуліни, г/л	A/Г
Контроль – NaCl	1	68,55±1,57	40,50±0,90	28,30±2,50	1,43
	3	71,65±0,73	38,07±1,90	33,58±0,70	1,13
	7	72,78±1,75	38,87±1,50	33,91±1,70	1,15
	14	73,47±1,23	38,90±0,93	34,57±1,50	1,13
I.Суміш NPMe: 0,3 мг/кг маси тіла	1	68,67±0,65	40,40±0,68	28,27±1,00	1,43
	3	70,10±0,77	39,30±0,75	30,80±1,00	1,28
	7	72,83±2,55	37,23±1,50	35,60±1,50	1,05
	14	72,87±0,93	37,27±2,05	35,60±0,10	1,05
II.Суміш солей Me: 0,3 мг/кг маси тіла	1	65,58±0,75	38,70±1,50	26,88±1,60	1,44
	3	68,85±0,98	35,77±3,38	33,08±0,50	1,08
	7	62,43±0,73	39,33±1,75	23,10±2,20	1,70
	14	71,50±2,87	38,33±1,50	33,17±0,30	1,16
III.Суміш NPMe: 1,0 мг/кг маси тіла	1	64,33±1,52	36,40±1,33*	27,90±0,80	1,31
	3	72,58±0,40	36,10±1,30*	36,48±0,60	0,99
	7	72,60±0,83	31,77±0,55*	40,83±0,70*	0,78
	14	69,93±1,85	33,73±0,80*	36,20±2,50	0,93
IV.Суміш NPMe: 2,0 мг/кг маси тіла	1	71,40±1,38	39,10±0,95	32,30±0,50	1,21
	3	75,43±2,77	33,27±1,20*	42,16±1,00*	0,79
	7	70,35±3,00	31,90±0,05*	38,45±1,20*	0,83
	14	71,78±1,22	38,80±0,75	32,98±1,20	1,18
V.Суміш NPMe: 4,0 мг/кг маси тіла	1	72,53±2,38	36,33±0,75*	36,20±0,50	1,00
	3	72,00±1,00	29,10±0,63*	42,90±0,50*	0,68
	7	72,67±0,27	31,00±1,75*	41,67±1,06*	0,74
	14	73,63±1,93	33,03±1,30*	40,60±1,32*	0,81

Примітка. A/Г – альбумін/глобуліновий коефіцієнт.

групи впродовж всього досліджу в середньому на 16,5 та 44,5 % ($p \leq 0,05$) у порівнянні з його контрольним значенням. Одержані результати, у сукупності з динамікою гематологічних показників, свідчать про розвиток запальних реакцій в організмі щурів через 14 діб після введення дослідного зразка суміші NРМе у дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла.

Ще одними з найважливіших маркерів гострофазової імунної відповіді організму, включаючи диференціювання імунокомпетентних клітин, подання та експресію антигену, клітинну активацію і проліферацію, вважають цитокіни – про- та протизапальні медіатори [14], рівень яких у плазмі крові відображає теперішній стан імунної системи та розвитку захисних реакцій в організмі тварин.

Під час дослідження вмісту γ -інтерферону у плазмі крові дослідних щурів встановлено, що на 1-шу добу експерименту його рівень вірогідно знижувався на 20,6 % лише в тварин II групи (табл. 5), яким вводили розчин солей металів. Зниження рівня цього показника залишалось вірогідним й на 14-ту добу в плазмі крові тварин, які одержали суміш солей металів (II група) і NРМе у максимальній дозі (V група), що є одною з ознак розвитку імунодефіцитного стану в організмі.

У плазмі крові щурів I, III і IV груп вміст γ -інтерферону через 14 діб експерименту вірогідно зростав. Але на фоні помірного зростання цього показника в тварин I групи, яким вводили суміш NРМе у біотичній дозі, рівень цього медіатора значно підвищувався у 2,9 і 2,4 рази ($p \leq 0,05$) у щурів III і IV груп, яким вводили препарат у дозах 1,0 і 2,0 мг/кг маси тіла.

Підвищення вмісту інтерлейкіну-1 β у крові залежить від строків загострення та відображає динаміку патологічного процесу [15]. Механізми регуляції специфічної імунної відповіді інтерлейкінами-1 β полягають у активації цитотоксичних Т-лімфоцитів і NK-клітин, продукції інших

цитокінів, простагландинів, стимуляції фагоцитозу, генерації супероксид-радикалів тощо. Визначене на 14-ту добу досліджу вірогідне підвищення вмісту інтерлейкіну-1 β у плазмі крові щурів усіх дослідних груп (III – V групи) за винятком тієї, тварини якої одержали суміш металів у обох формах у біотичній дозі (I і II групи), вказує на загострення патологічного процесу внаслідок імунотоксичного впливу суміші NРМе у підвищених дозах.

Висновки і перспективи.

За визначенням рівня гематологічних і показників неспецифічної резистентності та клітинних медіаторів імунної реактивності в крові щурів доведено біосумісність суміші NРМе (Ag, Cu, Fe, двоокис Mn) у дозі 0,3 мг/кг маси тіла, що у подальшому доцільно враховувати при розробленні мінеральних біодобавок у такому композиційному складі зі спрямованою адаптаційною імуномодулюючою дією.

Досліджені клініко-біохімічні показники крові приходили до фізіологічних рівнів у щурів наприкінці досліджу як при введенні розчинів суміші металів у обох дисперсних формах у біотичній дозі (0,3 мг/кг маси тіла), так й суміші NРМе – у дозі 2,0 мг/кг маси тіла, але за впливу суміші NРМе у дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла – визначені зміни показників не мали зворотної динаміки до кінця експерименту, що вказує на вибірккову дозову імунотоксичність останньої.

Коливальний характер змін кількості лейкоцитів, зниження кількості еритроцитів на фоні помірного зниження вмісту гемоглобіну (на 27,4 і 17,6 %), гіперглобулінемія поряд з надлишковим утворенням таких імунотоксичних метаболітів як ЦІК середньої молекулярної маси і серумкоїдів (на 50,8 і 30,5 %) та маркерів гострофазної імунної реактивності – γ -інтерферону та інтерлейкіну-1 β (у 2,9 і 2,4 рази) ($p \leq 0,05$) – у крові дослідних щурів вказує на загострення патологічного процесу з розвитком запальних реакцій внаслідок



5. Рівень показників неспецифічної резистентності та вміст медіаторів імунної відповіді у плазмі крові щурів за одноразового внутрішньо шлункового введення розчинів суміші NPMe та суміші солей відповідних металів впродовж 14 діб (M ± m; n = 6)

Група тварин	Термін дослідження, доба	
	1-ша	14-та
ЦіК середньої молекулярної маси, мг/мл		
Контроль – NaCl	0,048 ± 0,006	0,067 ± 0,014
I.Суміш NPMe: 0,3 мг/кг маси тіла	0,056 ± 0,006	0,065 ± 0,009
II.Суміш солей Me: 0,3 мг/кг маси тіла	0,055 ± 0,002	0,078 ± 0,002*
III.Суміш NPMe: 1,0 мг/кг маси тіла	0,054 ± 0,003	0,100 ± 0,007*
IV.Суміш NPMe: 2,0 мг/кг маси тіла	0,058 ± 0,004	0,104 ± 0,014*
V.Суміш NPMe: 4,0 мг/кг маси тіла	0,074 ± 0,004*	0,122 ± 0,019*
Серомукоїди, мг/мл		
Контроль – NaCl	0,089 ± 0,007	0,104 ± 0,006
I.Суміш NPMe: 0,3 мг/кг маси тіла	0,091 ± 0,008	0,099 ± 0,017
II.Суміш солей Me: 0,3 мг/кг маси тіла	0,079 ± 0,006	0,110 ± 0,004
III.Суміш NPMe: 1,0 мг/кг маси тіла	0,095 ± 0,002	0,123 ± 0,002*
IV.Суміш NPMe: 2,0 мг/кг маси тіла	0,106 ± 0,008*	0,111 ± 0,003
V.Суміш NPMe: 4,0 мг/кг маси тіла	0,141 ± 0,023*	0,142 ± 0,013*
γ-інтерферон, пг/мл		
Контроль – NaCl	58,20 ± 3,39	56,10 ± 2,47
I.Суміш NPMe: 0,3 мг/кг маси тіла	56,61 ± 4,00	69,50 ± 2,28*
II.Суміш солей Me: 0,3 мг/кг маси тіла	46,20 ± 2,22*3	35,60 ± 2,38*
III.Суміш NPMe: 1,0 мг/кг маси тіла	56,70 ± 4,12	161,20 ± 5,45*
IV.Суміш NPMe: 2,0 мг/кг маси тіла	66,00 ± 8,00	133,70 ± 8,58*
V.Суміш NPMe: 4,0 мг/кг маси тіла	60,05 ± 5,45	40,00 ± 3,22*
Інтерлейкін-1β, пг/мл		
Контроль – NaCl	2,40 ± 0,12	2,22 ± 0,10
I.Суміш NPMe: 0,3 мг/кг маси тіла	2,26 ± 0,10	2,36 ± 0,16
II.Суміш солей Me: 0,3 мг/кг маси тіла	2,21 ± 0,03	2,41 ± 0,14
III.Суміш NPMe: 1,0 мг/кг маси тіла	2,41 ± 0,06	5,11 ± 0,08*
IV.Суміш NPMe: 2,0 мг/кг маси тіла	2,32 ± 0,15	4,72 ± 0,05*
V.Суміш NPMe: 4,0 мг/кг маси тіла	2,36 ± 0,12	3,34 ± 0,04*

імунотоксичного впливу суміші NPMe у дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла відповідно.

Отримані дані стали передумовою для проведення експерименту по визначенню ефектів хронічного впливу суміші NPMe на

організм лабораторних тварин, а знання щодо їх біосумісності та біодоступності є базовими для доклінічного і клінічного тестування наночастинок як субстанцій ветеринарних засобів і кормових біодобавок.

Автор висловлює подяку к. біол. н. Т. Г. Грузиній та к. біол. н. Л. С. Резніченко (Інститут біоколоїдної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України) за допомогу у синтезі наночастинок металів.

Література

1. Dumortier, H. Functionalized carbon nanotubes are non-cytotoxic and preserve the functionality of primary immune cells [Text] / H. Dumortier, S. Lacotte, G. Pastorin, R. Marega, W. Wu, D. Bonifazi, J. P. Briand, M. Prato, S. Muller, A. Bianco // Nano Letters. – 2006. – Vol. 6, No. 7. – P. 1522–1528. doi:10.1021/nl061160x.
2. Monteiro-Reviere, N. A. Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes [Text] / N. A. Monteiro-Reviere, R. J. Nemanich, A. O. Inman, Y. Y. Wang, J. E. Riviere // Toxicology Letters. – 2005. – Vol. 155, No. 3. – P. 377–384. doi:10.1016/j.toxlet.2004.11.004.
3. Patent 20040116551 A1 United States, IPC C08K 3/10, C08K 3/00. Antimicrobial compositions containing colloids of oligodynamic metals [Text] / R. N. Terry (USA). – No. 10/649,595 ; filed 26.08.03 ; publ. 17.06.04. – 35 pp. URL : <https://www.google.com/patents/US20040116551>.
4. Shukla, R. Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside cellular compartment: a microscopic overview [Text] / R. Shukla, V. Bansal, M. Chaudhary, A. Basu, R. R. Bhonde, M. Sastry // Langmuir. – 2005. – Vol. 21, No. 23. – P. 10644–10654. doi:10.1021/la0513712.
5. Головка, А. М. Оцінювання та контролювання біологічної безпеки наноматеріалів у ветеринарній медицині [Текст] / А. М. Головка, В. О. Ушкалов, Л. С. Резніченко, М. Є. Романько, Т. Г. Грузіна, С. М. Дибкова, З. Р. Ульберг // Вісник аграрної науки. – 2011. – № 5. – С. 24–28. URL: <http://agrovisnyk.org.ua/ua/old-archive/issue-5-2011>.
6. Дибкова, С. М. Оцінка генотоксичності та мутагенності наночастинок металів, перспективних компонентів ветеринарних нанонутрицевтиків [Текст] / С. М. Дибкова, М. Є. Романько, Л. С. Резніченко, Т. Г. Грузіна, З. Р. Ульберг, В. О. Ушкалов, О. Т. Куцан // Ветеринарна біотехнологія. – 2011. – № 19. – С. 61–69.
7. Методические разработки к практикуму по коллоидной химии [Текст] / под ред. А. В. Перцова. – М. : Изд во Моск. ун та, 1976. – 132 с.
8. Западнюк, И. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте [Текст] / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – 3 е изд., перераб. и доп. – К. : Вища школа, 1983. – 383 с.
9. Коцюмбас, І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів [Текст] / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега, О. Л. Тішин, Ю. М. Косенко. – Львів : Тріада плюс, 2005. – 360 с. ISBN: 966 7596 64 8.
10. Кондрахин, И. П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии [Текст] : справ. изд. / И. П. Кондрахин, Н. В. Курилов, А. Г. Малахов, А. В. Архипов, А. Д. Белов, И. М. Беляков, Н. И. Блинов, А. В. Коробов, Л. А. Фролова, Н. А. Севастьянова. – М. : Агропромиздат, 1985. – 287 с.
11. Weissleder, R. Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity [Text] / R. Weissleder, D. D. Stark, V. L. Engelstad, V. R. Bacon, C. C. Compton, D. L. White, P. Jacobs, J. Lewis // American Journal of Roentgenology. – 1989. – Vol. 152, No. 1. – P. 167–173. doi:10.2214/ajr.152.1.167.
12. Радчук, Н. А. Ветеринарная микробиология и иммунология [Текст] : учеб. по спец. «Ветеринария» / Н. А. Радчук, Г. В. Дунаев, Н. М. Колычев, Н. И. Смирнова. – М. : Агропромиздат, 1991. – 383 с. ISBN: 5 10 001805 4.
13. Самуйленко, А. Я. Инфекционная патология животных [Текст] : в 2 т. / А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьев, Е. А. Непоклонов, Е. С. Воронин, Н. В. Фомина, С. А. Гринь, В. И. Белоусов, Н. В. Мельник, Е. А. Рубан, В. И. Еремец, Е. П. Сапегина, С. С. Ямникова, С. Ж. Цыбанов. – М. : Академкнига, 2006. – Т. 2. – 807 с. ISBN: 5 94628 263 8.
14. Vilček, J. The cytokines: an overview [Text] / J. Vilček // The Cytokine Handbook / Ed. by A. W. Thomson, M. T. Lotze. – 4th ed. – London : Academic Press, 2003. – Vol. 1. – P. 3–18. doi:10.1016/b978-012689663-3/50005-3.
15. Кадагидзе, З. Г. Цитокины [Текст] / З. Г. Кадагидзе // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4, № 3. – С. 131–135. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19394660>.

References

1. Dumortier, H., Lacotte, S., Pastorin, G., Marega, R., Wu, W., Bonifazi, D., Briand, J. P., Prato, M., Muller, S., & Bianco, A. (2006). Functionalized carbon nanotubes are non-cytotoxic and preserve the functionality of primary immune cells. *Nano Letters*, 6(7), 1522–1528. doi:10.1021/nl061160x.



2. Monteiro-Riviere, N. A., Nemanich, R. J., Inman, A. O., Wang, Y. Y., & Riviere, J. E. (2005). Multi-walled carbon nanotube interactions with human epidermal keratinocytes. *Toxicology Letters*, 155(3), 377–384. doi:10.1016/j.toxlet.2004.11.004.
3. Terry, R. N. (2004). Antimicrobial compositions containing colloids of oligodynamic metals. U.S. Patent No. US20040116551 A1. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office. URL: <https://www.google.com/patents/US20040116551>.
4. Shukla, R., Bansal, V., Chaudhary, M., Basu, A., Bhonde, R. R., & Sastry, M. (2005). Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview. *Langmuir*, 21(23), 10644–10654. doi:10.1021/la0513712.
5. Golovko, A., Ushkalov, V., Reznichenko, L., Romanko, M., Gruzina, T., Dybkova, S., & Ulberg, Z. (2011). Otsiniuvannia ta kontroliuvannia biolohichnoi bezpeky nanomaterialiv u veterynarnii medytsyni [Estimating and controlling biosafety of nano-materials in veterinary medicine]. *Visnyk ahrarynoi nauky*, 5, 24–28 (in Ukrainian). URL: <http://agroviznyk.org.ua/ua/old-archive/issue-5-2011>.
6. Dybkova, S. M., Roman'ko, M. E., Rieznichenko, L. S., Gruzina, T. G., Ulberg, Z. R., Ushkalov, V. O., & Kutsan, O. T. (2011) Otsinka henotoksychnosti ta mutahennosti nanochastynok metaliv, perspektivnykh komponentiv veterynarnykh nanonutrytsevyktiv [Genotoxicity and mutagenic assessment of metal nanoparticles, promising components of veterinary nanonutriceutics]. *Veterynarna biotekhnolohiia*, 19, 61–69 (in Ukrainian).
7. Percov, A. V. (Ed.) (1976). Metodicheskie razrabotki k praktikumu po kolloidnoj himii [Methodical developments for the workshop on colloid chemistry]. Moscow: Izdatel'stvo Moskovskogo universiteta (in Russian).
8. Zapadnyuk, I. P., Zapadnyuk, V. I., Zakhariya, E. A., & Zapadnyuk, B. V. (1983). *Laboratornye zhitvotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v eksperimente* [Laboratory animals. Breeding, keeping, use in experiment] (3rd ed.). Kiev: Vishcha shkola (in Russian).
9. Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. H., Patereha, I. P., Tishyn, O. L., & Kosenko, Yu. M. (2005). Doklinichni doslidzhennia veterynarnykh likarskykh zasobiv [Preclinical testing of veterinary drugs]. Lviv: Triada plus (in Ukrainian). ISBN: 966 7596 64 8.
10. Kondrakhin, I. P., Kurilov, N. V., Malakhov, A. G., Arkhipov, A. V., Belov, A. D., Belyakov, I. M., Blinov, N. I., Korobov, A. V., Frolova, L. A., & Sevast'yanova, N. A. (1985). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika v veterinarii* [Clinical laboratory diagnostics in veterinary medicine]. Moscow: Agropromizdat (in Russian).
11. Weissleder, R., Stark, D. D., Engelstad, B. L., Bacon, B. R., Compton, C. C., White, D. L., Jacobs, P., & Lewis, J. (1989). Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity. *American Journal of Roentgenology*, 152(1), 167–173. doi:10.2214/ajr.152.1.167.
12. Radchuk, N. A., Dunaev, G. V., Kolychev, N. M., & Smirnova, N. I. (1991). *Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya* [Veterinary microbiology and immunology]. Moscow : Agropromizdat (in Russian). ISBN: 5 10 001805 4.
13. Samuylenko, A. Ya., Solov'ev, B. V., Nepoklonov, E. A., Voronin, E. S., Fomina, N. V., Grin', S. A., Belousov, V. I., Mel'nik, N. V., Ruban, E. A., Eremets, V. I., Sapegina, E. P., Yamnikova, S. S., & Tsybanov, S. Zh. (2006) *Infektsionnaya patologiya zhyvotnykh* [Animal infectious pathology] (Vol. 2). Moscow : Akademkniga (in Russian). ISBN: 5 94628 263 8.
14. Vilček, J. (2003). The cytokines: an overview. In A. W. Thomson & M. T. Lotze (Eds.) *The Cytokine Handbook* (4th ed., Vol. 1, pp. 3–18). London: Academic Press. doi:10.1016/b978-012689663-3/50005-3.
15. Kadagidze, Z. G. (2003). Tsitokiny [Cytokines]. *Prakticheskaya onkologiya*, 4(3), 131–135 (in Russian). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19394660>.

SUMMARY

M. Ye. Roman'ko. *Level of indicators of immune reactivity in blood of rats under conditions of one-time intragastric administration of the mixture of nano-particles of metals (ag, fe, cu, mn dioxide)/ Biological Resources and Nature Management. – 2017. – 9, №5–6. – P.68–79.*

Metal nanoparticles (NPMe) in the form of colloidal dispersions - is one of the most bioavailable forms of Me in comparison with the traditionally used salts of corresponding metals.

Research of potential risks of using nanomaterials may be adequate at the use of key system characteristics of a living organism that is susceptible to toxic effects.



АННОТАЦІЯ

М. Є. Романько. Уровень показателів імунної реактивності в крові крыс в умовах одноразового внутрішньожелудочного введення суміші наночастиць металів (аg, fe, си, двоукись тп)// Біоресурси і природокористування. – 2017. – 9, №5–6. – С. 68–79.

Наночастиці металів (NPMe) в формі коллоїдних дисперсій – одна з найбільш біодоступних форм металів по порівнянню з традиційно використовуваними солями відповідуючих металів. Метою досліджень стало визначення рівня показателів гуморальної і клітинної частини імунітету в крові крыс в умовах одноразового внутрішньожелудочного введення суміші NPMe (Ag, Si, Fe, двоукись Mn) в діапазоні доз в порівнянню з сумішшю солей відповідуючих металів.

По результатам визначення рівня гематологічних і показателів неспецифічної резистентності, а також клітинних медіаторів імунної реактивності в організмі крыс доведена біосовместимость суміші NPMe в дозі 0,3 мг/кг маси тіла, що в наступному цілесовместивно улічувати при розробці мінеральних біодобавок в такому композиційному складі з напрямленим адаптаційним імунототулірующим впливом.

Но, при одноразовому введенні суміші NPMe в дозах 1,0 мг/кг, 2,0 мг/кг і 4,0 мг/кг маси тіла характер патогенетических змін досліджуваних показателів носить дозозависимий характер і указує на избирательное імунототуліксичное дієвство наночастиць. Колебательний

характер змін кількості лейкоцитів, зменшення кількості еритроцитів на фоні помірного зниження вмісту гемоглобіну (на 27,4 і 17,6 %), гіперглобулінемія на фоні помірного утворення таких імунототуліксичних метаболітів як ЦИК середньої молекулярної маси і серамукоїдов (на 50,8 і 30,5 %) і маркерів острофазової імунної реактивності – інтерферону і інтерлейкіна-1β (в 2,9 і 2,4 рази, (p ≤ 0,05)) – в крові експериментальних крыс указує на обострення патологічного процесу з розвитком запальних реакцій внаслідок імунототуліксичного впливу суміші NPMe в дозах 1,0 і 4,0 мг/кг маси тіла відповідально.

Полученные данні стали передпосылкой для проведення експерименту по визначенню ефектів хронічного впливу суміші NPMe на організм лабораторних тварин, а знання стосовно їх біосовместимости і біодоступности базовими для доклінічного і клінічного тестування наночастиць як субстанцій ветеринарних препаратів і кормових біодобавок.

Ключевые слова: токсичность, иммунитет, неспецифическая резистентность, кровь, смесь наночастиц металлов, соли металлов, плазма, крысы