

НАНОБІОТЕХНОЛОГІЇ Й НАНОПРОДУКТИ: ДОСЯГНЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ДОСЛІДЖЕНЬ У ТВАРИННИЦТВІ ТА ВЕТЕРИНАРНІЙ МЕДИЦИНІ

**Доповідь академіка НААН В.В. Влізла на засіданні Загальних зборів
Національної академії аграрних наук України
23 березня 2017 р.**

Розвиток нанотехнології започаткував американський фізик, лауреат Нобелівської премії Р. Фейнман у 1959 р., висловивши припущення, що в майбутньому багато матеріалів і пристроїв виготовлятимуться на атомарному або молекулярному рівні та матимуть небачені досі властивості (R.P. Feynman, 1960). Однак термін «нанотехнологія» уперше застосував професор Токійського університету Н. Танігучі в 1974 р. у своїй доповіді «Про основні концепції «нанотехнології» (N. Taniguchi, 1974).

Нині на основі нанотехнологій розроблено консолідовані наноматеріали, нанополімери, нанобіоматеріали, фулерени, нанотрубки, нанопорошки, нанопористі матеріали, наноструктурні рідини (колоїди, міцели, гелі), фармакологічні нанопрепарати. Розвиток нанотехнології дав початок новим галузям наук, однією з яких є нанобіотехнологія, присвячена вивченню структурних змін, біологічних і біофізичних процесів у природних біологічних об'єктах або їх нанобіологічних аналогах.

США є визнаним лідером із досліджень і розробок у галузі нанотехнології. Ще в 2000 р. було розроблено наукову програму «Національна нанотехнологічна ініціатива», яка координує основні дослідження з цього наукового напрямку. Щорічні асигнування федерального уряду в нанотехнологію становлять приблизно 1 млрд дол. (чверть відповідних витрат усіх країн світу). Крім того, США лідирують за кількістю

дослідницьких компаній-початківців, а також за кількістю патентів і публікацій у галузі нанотехнології (М.О. Кизим, 2011). Світовим лідером за загальним обсягом капіталовкладень, крім США, у цій сфері є Японія. Країни ЄС за обсягами інвестицій у розвиток нанотехнологій займають 3-тє місце. В ЄС основним інститутом, що здійснює регулювання наоіндустрії та управління різними фондами і програмами на наднаціональному рівні, є Європейська комісія. Серед цих програм функціонує програма розвитку наномедицини та екологічної хімії. Щороку кількість наукових публікацій з нанотехнологічної проблематики в ЄС становить не менше 12 тис. (у США близько 15 тис.). Найбільш цитованими виданнями, що публікують наукові статті в галузі нанотехнологій, є мультидисциплінарні — Science у США й Nature у Європі.

У світі понад 50 країн постійно збільшують обсяги інвестицій у спеціальні програми розвитку нанотехнологій, що стало важливим чинником науково-технічного прогресу та інноваційним складником їх економіки. Передбачається, що світовий ринок для наноматеріалів у 2021 р. має досягти обороту 5,3 млрд \$ (у 2016 р. він становив 1,6 млрд \$).

У сфері фундаментальних нанотехнологічних досліджень українські вчені займають вагомі позиції, водночас у сфері практичного їх впровадження й розвитку наоіндустріальних виробництв наша країна відстає від лідерів на десятки років.

З метою прискорення розвитку нанобіотехнологічних досліджень у Національній академії аграрних наук України її Президією сформовано програму наукових досліджень «Створення і використання нано- і біотехнологічних матеріалів і засобів у тваринництві» на 2016–2020 рр., головною установою якої є Інститут біології тварин (ІБТ) НААН. Крім ІБТ НААН, за цією програмою виконують дослідження Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН, ННЦ «Інститут бджільництва імені П.І. Прокоповича», Буковинська ДСГДС НААН та інші установи. У Відділенні ветеринарної медицини (ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН (ІЕКВМ) та Інститут ветеринарної медицини НААН) вивчаються можливості застосування наносполук у виготовленні імунобіологічних препаратів, вплив наночастинок на збудники хвороб, а також токсикологічна дія наноматеріалів на організм. Виконання завдань програм НААН забезпечить розроблення нанобіотехнологічних матеріалів і засобів, дослідження їх біологічної дії та ефективного використання у тваринництві та ветеринарній медицині. Нині в цих науково-дослідних установах проводять дослідження з визначення механізмів дії наночастинок і наносполук на біологічні ефекти.

Наночастинки та сполуки на їх основі починають застосовувати у галузі біофізики, молекулярної біології, протеоміки, генетики, зокрема для створення біомаркерів. Магнітні наночастинки, на які нанесено антитіла та фрагменти ДНК, мають властивість посилювати сигнал із численних біомолекул. Це дасть змогу діагностувати хворобу на ранніх стадіях й ефективніше лікувати різні захворювання. Водночас синтез наночастинок, які мають властивості ад'ювантів, та їх взаємодія з антигеном (вірусом, бактерією чи їх фрагментами) дає можливість створювати вакцини нового покоління. У галузі ветеринарної медицини наночастинки використовують у діагностиці для виявлення вірусних, паразитарних і бактеріальних патогенів.

В ІБТ НААН у співпраці з Національним університетом «Львівська політехніка» створюють і використовують у дослідженнях полімерні носії псевдополіамінокислот

для доставки біологічно активних речовин. Створено нанополімер GluLa-DPG-PEG600, який у своєму складі містить глютамінову та лауринову кислоти, дипропіленгліколь, поліетиленгліколь. За допомогою електрофорезу в 5%-му поліакриламідному гелі встановлено здатність GluLa-DPG-PEG600 зв'язувати сироватковий альбумін крові. Це є позитивною характеристикою даного полімеру як потенційного транспортера для протейнів і лікарських засобів, зокрема для створення вакцин, оскільки протейни є основними антигенними складниками. Установлено, що цей нанополімер здатний проникати через мембрану і надходити у статеві клітини — спермії. Дослідженнями з депонування цього полімеру в органах щурів виявлено його локалізацію у м'язовій тканині та подальше розщеплення міоцитами. На основі аналізу гістоструктури тканини і органів тварин з використанням люмінесцентної мікроскопії установлено, що після внутрішньом'язового введення комплексу GluLa-DPG-PEG600-F + BCA Alexa Fluor 555 його виявлено у печінці, мозку, нирках і селезінці тварин.

Здійснюється активна робота над використанням псевдополіамінокислот як носіїв мінеральних речовин для створення преміксів і кормових добавок для тваринництва.

Наночастинки можуть переносити фізіологічно активні речовини, ксенобіотики і лікарські засоби у клітини-мішені як основи розвитку патологічного процесу. У ролі наночастинок, які стають своєрідними «кур'єрами» або «контейнерами», можуть бути використані наночіпи — фосфоліпідні частинки, ліпосоми, фулерени, дендримери, хітозан, нанотрубки та ін. Завдяки наноструктуризації зменшується розмір лікарської форми і підвищується вміст активної речовини у крові. Українськими вченими доведено можливість трансмембранного транспортування нанорозмірних комплексів і частинок у клітини бактерій, що здатні до вибіркового акумулювання колоїдних частинок Au, а також визначено молекулярні структури і механізми, відповідальні за цей процес.

Розроблено новий метод детекції кон'югатів катіонних олігоелектролітів з олігодезоксинуклеотидами. Запропонований метод дає змогу спростити і здешевити вибір найкращого носія, візуально виявити факт

комплексотворення між речовинами, що взаємодіють. Універсальність цього методичного підходу підтверджено взаємодією з олігодезоксинуклеотидами іншого катіонного полімеру природного походження — хітозану (В.В. Влізло та ін., 2015).

Проведені в ІБТ НААН дослідження щодо адресної доставки ліків свідчать про ефективність використання нових полімерних носіїв на основі диметиламіноетилметакрилату для транспортування антисенсолігодезоксинуклеотидів у клітини ссавців (ДНК-нанотехнології). Результати цих досліджень свідчать про зниження рівня експресії фізіологічного пріона у клітинах лінії L1210 на 70–90%. Доведено можливість успішного застосування цих кон'югатів для повного пригнічення експресії фізіологічного пріона у селезінці, тонкій кишці і, що найважливіше, мозку тварин. Доведено, що наносполуки здатні долати гематоенцефалічний бар'єр і впливати на патологічний процес у мозку.

Упровадження нанобіотехнологічних підходів у практику дає змогу здійснювати ранню діагностику захворювань. Нанодіагностика *in vitro* розвивається у двох напрямках: використання наночастинок як маркерів біологічних молекул і застосування інноваційних нанотехнологічних способів вимірювання. Зокрема, сенсорні системи, які вже нині використовують у біології, істотно спрощують діагностику захворювань і дають змогу простежувати взаємодію між протеїнами і ДНК в режимі реального часу. Будуть створені та вдосконалені ДНК-чіпи, які дозволять аналізувати генетичну інформацію людини чи тварин для створення індивідуальних ліків (К. Ан, 2009).

У характеристиці наноматеріалів особливо важливими є розчинність, розмір частинок, а також проникність через біологічні мембрани. Розмір частинок також повинен бути оптимальним, оскільки зменшення величини частинок має свої межі не тільки з погляду технології, а й біодоступності та безпечності. Не можна вважати виправданим бажання отримати якомога менший розмір частинок речовини, оскільки зменшення розміру може викликати їх інактивацію, швидке виведення з організму або прояв патологічної дії на організм. Установлено,

що фізіологічно обґрунтованим є розмір наночастинок не менше 5–7 нм, за якого вони збираються у кластери (асоціати), де частинки не доторкаються одна до одної, а перебувають на відстані 2–3 нм. Якщо розміри частинок менше 2 нм, то їх «поведінка» стає непередбачуваною. Визначенням генотоксичних властивостей наночастинок металів *in vitro* та *in vivo* методом ДНК-комет встановлено, що наночастинки Au розміром 20 та 45 нм у концентраційному діапазоні $4-14 \cdot 10^5$ мкг/мл та Ag розміром 30 нм у концентрації 10^5 мкг/мл не пригнічували фізіологічні процеси, а навпаки, активували їх у клітинах бактерій-пробіотів. Генотоксичну дію на еукаріотичні тестові клітини виявляють наночастинки Au розміром 10 і 20 нм, Zn та Cu — 20 нм і Fe — 14, 18 та 23 нм у всьому досліджуваному концентраційному діапазоні.

Наночастинки Ag виявляють антивірусні, антибактеріальні та ранозагоювальні ефекти. Нанодезінфектанти на основі наночастинок Ag мають широкий спектр біоцидної і антивірусної активності та значно вищу токсичність стосовно мікробів, вірусів і грибків. Завдяки новітнім технологіям отримання та нанесення наночастинок можна досягти рівномірнішого їх розподілу по поверхні паперу та уникнути утворення агломератів. Нанесення наночастинок цього елемента на сульфаніламід (зокрема, стрептоцид) модифікує наявний лікарський засіб і дає такі позитивні ефекти, як пролонгація та локалізація дії.

В Інституті ветеринарної медицини НААН використовують наночастинки Ag для знищення патогенних мікроорганізмів, а в Інституті бджільництва НААН проводять дослідження протигрибкових і протибактеріальних властивостей двох препаратів — шумерське срібло (Ag і Cu) та йодоселен (I і Se).

Науковцями ННЦ «ІЕКВМ» розроблено технології виготовлення та регламент застосування вакцини, інактивованої проти інфекційного ринотрахеїту, вірусної діареї та парагрипу-3 великої рогатої худоби, з використанням наноалмазів як ад'ювантів. Установлено показники мітотичної активності культур клітин FLK-71 та FLK-SBBL під впливом наночастинок Fe та Ag.

Культивування цих субліній з наночастинками Ag підвищує продукування ними антигену вірусу лейкозу в 1,6 та 2 рази відповідно, що може бути використано в удосконаленні технології виготовлення вітчизняного імпортозаміщувального тест-набору для серологічної діагностики лейкозу великої рогатої худоби (О.Т. Куцан та ін., 2016).

В ІБТ НААН проведено комплексні дослідження впливу функціональних наночастинок Ag на дозрівання ооцитів, зберігання спермій, запліднення та ранній ембріональний розвиток кролів. Проведені дослідження дали змогу створити ліпосомальний препарат арготон — високоефективний для лікування та профілактики ендометритів без використання антибіотиків.

Перспективними є використання наноматеріалів в аналітичній біохімії та діагностиці, встановлено, що наночастинки Ag з гіалуроном, отримані в ІБТ НААН, мають добрі оптичні властивості. На їх основі розроблено метод визначення вмісту білків у тканинах, він має ряд переваг порівняно з класичними методами аналітичної біохімії.

Майбутнє нанобіотехнологій не за вільними наночастинками, а за функціональними нанобіоматеріалами, в яких наявність вільних наночастинок зведено до мінімуму, а найкраще — до нуля. Перспективними є функціональні нанобіоматеріали у вигляді наноаквахелатів різних металів, які виявляють високу біологічну активність і не є токсичними, зокрема колоїдні розчини, аквахелати та гідратовані наночастинки макро- і мікроелементів. В Україні вперше розроблено нанотехнологію отримання водних розчинів більшості біотичних елементів, які не синтезувалися хімічними методами (В.Б. Борисевич та ін., 2009). Наноаквахелати можуть бути використані в сільському господарстві, у харчовій промисловості, медицині, геронтології, для збагачення кормових, харчових і біологічно активних добавок.

В установах НААН проводяться дослідження з використання наноаквацитратів макро- і мікроелементів. За умов *in vitro* проведено оцінку біологічної активності цитратів Fe, Cu, Zn, Mg, отриманих методом нанотехнології. Досліджено їхній вплив на культури клітин і білки крові людини

(альбуміни, імуноглобуліни). Установлено, що найбільшу цитотоксичну активність стосовно культури клітин виявляли наночастинки Cu та Zn, найменшу — Mg. Найбільшу денатураційну активність щодо білків плазми крові людини визначено для наночастинок Fe, найменшу — для Mg (Т. Korolenko et al., 2010).

Важливим напрямом комплексних нанотехнологічних і фізіологічних досліджень, що виконуються в ІБТ НААН, є з'ясування фізіолого-біохімічних механізмів дії наноаквацитратів мікроелементів в організмі тварин у різні періоди онтогенетичного розвитку та продуктивного використання (Р.Я. Іскра та ін., 2014; В.В. Влізло та ін., 2015). З цього напрямку розробляються кормові добавки на основі цитратів мікроелементів з високою біологічною активністю (В.Б. Борисевич та ін., 2009). Додаванням різних кількостей наноаквацитратів мікроелементів до раціонів тварин встановлено мінімальні фізіологічно активні та оптимальні їх дози для великої рогатої худоби, свиней, кролів, бджіл. Досліджено вплив цих сполук на: вміст у тканинах і рідинах макро- і мікроелементів, формування імунобіологічної реактивності в організмі, стан антиоксидантної, детоксикаційної, репродуктивної та імунної систем, ріст і розвиток телят, поросят, кроленят, а також їх роль у лікуванні та профілактиці мікроелементозів у тварин. Вивчено вплив наноаквацитратів окремих елементів на біологічну цінність продукції тваринництва за показниками хімічного складу молока, м'яса, вмісту жирних кислот, мікроелементів і білків. Отримано результати досліджень, які забезпечили розроблення методології вивчення біологічної дії наноаквахелатів в організмі тварин, а також їхнього впливу на біологічну цінність та якість продукції тваринництва. Установлено певні відмінності дії наноаквацитратів Se, Cr, Fe в організмі тварин порівняно з іншими сполуками цих мікроелементів, що зумовлено підвищеною їхньою фізіологічною активністю та інтенсивністю всмоктування у травному каналі. В ІБТ НААН визначено токсичні дози наноаквацитратів 18 елементів (Cr, Cu, Fe, Zn, Se, Mn, Mo, I, V, Bi, Ni, Mg, S, Ge, Al, Ag, Ce, Si) та їх поєднань, які виявились

у 6–8 разів нижчими від їх мінеральних солей.

Введення цитратів Cr, Se, Co та Zn до раціону корів поліпшувало функцію печінки, обмін Ca, P та вітаміну E. Мінеральна добавка стимулювала секреторну активність молочної залози, підвищувала середньодобові надої молока у корів на 3,3–7,8% (Р.С. Федорук та ін., 2014).

Досліджено комплексну дію цитратів мікроелементів на метаболічні процеси в організмі поросят у період відлучення від свиноматок. Установлено виражений вплив цитратів мікроелементів у меншій концентрації (Fe, Zn, Mn, Cu, Co), порівняно з їх неорганічними солями, на показники метаболізму в крові поросят, зокрема зростання антиоксидантної активності еритроцитів, їх кількості, вмісту гемоглобіну та загального білка. Доведено, що за умов комплексного застосування цих наноцитратів у годівлі поросят посилюється адаптаційна здатність і резистентність їх організму у період відлучення від свиноматок (Р.Я. Іскра та ін., 2014).

Проведено комплексне дослідження впливу ферум цитрату в складі препарату нанофероцит (ТУ У 21.2-30995014-009:2014), створеного в ІБТ НААН, на ферум- і оксигентранспортну функції крові та процеси метаболізму в організмі поросят. Установлено ефективність застосування цього препарату для профілактики аліментарної ферумдефіцитної анемії. З'ясовано, що введення ферум цитрату сприяє підвищенню кількості еритроцитів і концентрації гемоглобіну у крові, позитивно впливає на ферумзв'язувальну функцію трансферину, стабілізує білки крові, вміст Fe, Cu, Co, Mn, вітамінів A та E, продуктів ПОЛ і показники антиоксидантної системи (V. Vlizlo et al., 2014).

Експериментально доведено високу ефективність дії хром цитрату (Cr (III)) в організмі тварин на показники вуглеводного, білкового та ліпідного обмінів, активацію антиоксидантної, NO-синтазної, ендокринної та імунної систем. Установлено, що введення до раціону тварин хром цитрату поліпшує функцію наднирникових, щитоподібної та підшлункової залоз.

У вагітних кролематок і свиноматок за впливу хром цитрату здійснюється корекція різних ланок метаболізму, зокрема

стабілізуються вуглеводний, ліпідний і білковий обміни, нормалізуються антиоксидантна та імунна системи організму. Метаболічно ефективні кількості хром цитрату, які додавали до раціонів тварин, можна рекомендувати для регуляції процесів обміну речовин і профілактики недостатності Cr(III) в організмі (Р.Я. Іскра, 2013; 2014).

Установлено, що наноаквацитрати мінеральних елементів є не лише біологічно активними, а й безпечними для здоров'я та дозволені для збагачення кормів, сировини і харчових продуктів. Так, за використання цитратів Cr, Se та Ge для підгодівлі бджіл виявлено зниження вмісту важких металів (Cd, Pb) як у тканинах цілого організму, так і окремих анатомічних відділах бджіл (Р.С. Федорук, 2014). Установлено зміни динаміки вмісту ліпідів, що сприяють процесам метаболічного нагромадження енергетичних і пластичних компонентів та підтверджують доцільність використання добавок цитратів мікроелементів у підгодівлі бджіл. Це забезпечує підвищення їх життєздатності, збільшення вмісту в організмі та продукції бджільництва есенціальних мікроелементів, ліпідних і вуглеводних компонентів.

У ННЦ «ІЕКВМ» установлено динаміку та ступінь впливу наноаквацитратів металів Ge, Se, Mg, Cu і Ag у різних дозах на чинники неспецифічної резистентності організму птиці (О.Т. Куцан та ін., 2016). Завдяки додаванню цитрату наноферуму до металоглобуліну отримано удосконалений нанометалоглобулін, що дає змогу застосовувати препарат для лікування анемії новонароджених поросят і курчат. Доведено позитивний вплив комплексного пробіотично-металопротеїнового препарату з додаванням цитрату наноферуму на приріст маси тіла, показники вродженого імунітету та експресію генів, що кодують цитокіни IL-17 α , IL-2, IFN- γ у курчат.

В Інституті розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН уперше в Україні розроблено технологію збереження та раціонального використання генетичних ресурсів вітчизняних порід свиней із застосуванням наноматеріалів на основі високодисперсного кремнезему та цукрози. Дослідження здійснюються в рамках ПНД 28 у співпраці з Інститутом хімії поверхні

імені О.О. Чуйка НАН України. Створено кріоколекцію із 750 доз сперми та 44 яйцеклітин свиней миргородської породи. Використання кріоколекцій забезпечить реалізацію заходів щодо функціонування «віртуальних генофондних кріостад», що економічно вигідніше, порівняно з фактичним утриманням стад тварин. У співпраці з племінними і дослідними господарствами мережі НААН з розведення свиней вітчизняних порід упроваджуватиметься методологія кріозбереження генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин, у т.ч. і як «віртуальних генофондних кріостад». Розроблена технологія забезпечила участь IPGT НААН у 2017 р. у міжнародному проєкті FAO щодо збереження генофонду великої рогатої худоби бурої карпатської породи.

За результатами нанобіотехнологічних досліджень і застосування нанопродуктів у ІБТ НААН захищено 3 докторські (1 готується) і 6 кандидатських дисертацій (11 готуються), опубліковано понад 300 наукових праць та 4 методичні рекомендації.

Водночас розуміння закономірностей дії нанопродуктів потребує подальшого вивчення їх властивостей з проведенням

глибоких фундаментальних нанобіотехнологічних досліджень, що можуть успішно виконуватися в НААН спільно з інститутами НАН України та організаціями інших відомств.

Враховуючи одержані інститутами Відділень зоотехнії та ветеринарної медицини НААН результати, наукові дослідження у галузі нанобіотехнології у майбутньому слід зосередити на таких напрямках: вивчення біологічної дії нових ефективних для тваринництва та ветеринарної медицини нанопродуктів; застосування наноматеріалів для збагачення і зберігання кормів; використання нанопродуктів як БАД і регуляторів фізіолого-біохімічних функцій організму; розв'язання проблем генетики і відтворення тварин на основі нанобіотехнологій; використання нанобіотехнологій та впровадження нанобіосенсорів і наноматеріалів для лабораторних досліджень; нейтралізація ксенобіотиків, алергенів і токсинів з використанням нанопродуктів; створення нових наноматеріалів і нанопрепаратів для діагностики, профілактики та лікування різних захворювань.

Висновки

Нанобіотехнологія є одним з найважливіших напрямів у біологічній науці, тваринництві та ветеринарній медицині, сучасному аграрному виробництві, а також харчовій промисловості, що може стати важливою основою подальшого науково-технічного, економічного та соціального розвитку України в найближчому майбутньому. Важливою умовою подальшого поступу

у розвитку нанобіотехнології в Україні може бути визнання цього напрямку стратегічним інноваційним пріоритетом для науковців НААН з державною підтримкою на всіх рівнях, комплексності виконання таких досліджень, ефективного захисту і збереження прав на об'єкти інтелектуальної власності, їх комерціалізацію, своєчасну апробацію та впровадження одержаних розробок.