

microflora of the digestive tract and the animal organism]. Veterinarija – Veterinary medicine, 1, 47-54 [in Russian].

7. Shenderov, B.A. (1998). *Mikroflora cheloveka i zhivotnyh i ee funkcii [Microflora of human and animals and its functions]* (Vol. 1). Minsk: Grant [in Russian].

8. Corcionivoschi, N. (2010). The effect of probiotics on animal health. *Scientific papers. Animal science and biotechnologies*, 43(1), 35-41.

УДК 636.064: 636.084:616.155.194.8:615.273.2

DOI: 10.31073/vet_biotech35-14

РЄЗНІЧЕНКО Л.С., канд. біол. наук, e-mail: lriezniuchenko@gmail.com,

ДИБКОВА С.М., канд. біол. наук, ст. наук сп., e-mail: sdybkova@gmail.com

Інститут біологічної хімії ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України

Інститут ветеринарної медицини НААН України

ДОРОШЕНКО А.М., канд. мед. наук, e-mail: andrew.m.doroshenko@gmail.com

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця

НАНОЧАСТИНКИ ЗАЛІЗА ЯК ЕФЕКТИВНИЙ ЗАСІБ ПРОФІЛАКТИКИ І ЛІКУВАННЯ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ТВАРИН

В статті наведені результати визначення in vivo ефективності наночастинок заліза у лікуванні модельної залізодефіцитної анемії щурів за умов перорального введення. Встановлено, що вже після десятиденного курсу лікування спостерігається нормалізація маркерних показників крові (концентрація гемоглобіну, концентрація сироваткового заліза крові, % насичення трансферину), яка є більш вираженою порівняно із терапевтичною дією препарату порівняння. Показано, що під впливом досліджених наночастинок спостерігається також нормалізація стану кишкової мікрофлори тварин та стимуляція росту пробіотичних клітин.

Ключові слова: *наночастинок заліза, дефіцит заліза, дисбіоз, нормалізація, протианемічна активність.*

Вступ. Наноматеріали, зокрема наночастинок металів, з огляду на їх високу біологічну активність, зайняли одну з провідних позицій у розробці нових високоефективних засобів терапії і діагностики різних захворювань людини [1]. Останнім часом, поряд із гуманною медициною, все більш активно наноматеріали і нанотехнології впроваджуються у практику ветеринарної медицини [2, 3]. Так, для наночастинок срібла доведена їх висока антимікробна активність проти штамів-збудників широкого спектру захворювань домашніх та сільськогосподарських тварин [4, 5]. Наночастинок золота широко застосовуються при створенні високочутливих діагностиків вірусних

захворювань тварин і птиці [2]. Активно розробляються та демонструють високу ефективність у тваринництві нанонутрицевтики: завдяки наноформі забезпечується підвищена біодоступність речовин, а отже більш виражене підвищення продуктивності та вирішення проблеми дефіциту життєво необхідних мікроелементів [3, 6, 7].

Серед життєво необхідних мікроелементів, дефіцит яких призводить до найбільш масштабних збитків у тваринництві, зокрема у свинарстві, провідну роль відіграє залізо. Зазначається, що дефіцит заліза може призводити до 100% захворюваності новонароджених поросят та подальшої втрати 20–30% поголів'я молодняку у перші тижні. Особливо гостро із важкими наслідками дефіцит заліза переносять високопродуктивні тварини [8, 9].

З огляду на те, що свинарство є однією з пріоритетних та перспективних галузей тваринництва як в Україні, так і в світі, пошук нових ефективних засобів профілактики дефіциту заліза і лікування залізодефіцитної анемії тварин є актуальним завданням.

Метою роботи було визначення *in vivo* ефективності наночастинок заліза у лікуванні модельної залізодефіцитної анемії (ЗДА) дослідних тварин за умов перорального введення експериментальної субстанції.

Матеріал і методи досліджень. Наночастинки заліза (НЧЗ), використані в роботі, були синтезовані за оригінальним протоколом в ІБКХ ім. Ф.Д. Овчаренка НАН України методом хімічної конденсації у водному розчині. Частинки мали сферичну форму, середній розмір 40 нм, 100% вміст заліза у складі та були охарактеризовані як безпечні згідно критеріїв і норм Методичних рекомендацій «Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів», затверджених Науково-експертною радою Державного експертного центру МОЗ України (протокол №8 від 26.09.2013 р.) [10]. LD₅₀ НЧЗ перевищує 5000 мг/кг.

Досліди проводили на 60 самках щурів *Wistar* із початковою масою 60–90 г. Тварин було отримано з віварію ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології імені академіка М. Д. Стражеска» НАМН України. Для оцінки протианемічної активності НЧЗ перед початком експерименту у дослідних тварин моделювали аліментарну ЗДА шляхом утримування тварин на залізодефіцитній дієті протягом 4 місяців. Контрольних умовно-здорових тварин утримували на дієті з нормальним вмістом заліза [11–12].

Усі досліди на тваринах проводили із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄС №609 від 24.11.1986 р., Наказу МОЗ України №66 від 13.02.2006 р. та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» 2006 р.

Протианемічну активність НЧЗ досліджували за умов внутрішньошлункового введення наночастинок тваринам із модельною ЗДА у дозі 12,0 мг/кг на день.

Як препарат порівняння використовували заліза (III) гідроксид полімальтозний комплекс, який вводили за тих самих умов.

Середня маса тварин на початку курсу експериментального лікування модельної ЗДА становила 220 ± 20 г.

Дослідних тварин в експерименті розподіляли на 4 групи:

Група 1 – контрольні умовно-здорові тварини ($n=15$).

Група 2 – контрольні тварини із ЗДА без експериментального лікування (контроль анемії, $n=15$);

Група 3 – тварини із ЗДА, яким протягом 10 діб вводили НЧЗ (доза 12 мг/кг/добу) ($n=15$);

Група 4 – тварини із ЗДА, яким протягом 10 діб вводили заліза (III) гідроксид полімальтозний комплекс (препарат порівняння) (доза 12 мг/кг/добу) ($n=15$).

Тваринам з контрольних груп (групи 1 і 2) вводили еквівалентні об'єми води для ін'єкцій (розчинник субстанції НЧЗ).

Відбір проб крові здійснювали на 1, 5 та 10 добу після введення субстанції НЧЗ (по 5 тварин на кожний відбір). Матеріали для аналізу отримували після евтаназії тварин шляхом декапітації під хлороформним наркозом.

В якості маркерних показників крові у дослідних тварин аналізували концентрацію гемоглобіну (г/л; геміхромним методом), концентрацію заліза сироватки крові (мкмоль/л) та відсоток насичення трансферину (%). Використовували набори стандартних діагностикумів для клініко-діагностичних та біохімічних лабораторій виробництва ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Дніпропетровськ, Україна). Вимірювання оптичної щільності проб здійснювали за допомогою фотоелектроколориметра КФК-3 (Росія).

Отримані значення концентрацій гемоглобіну, заліза сироватки крові та відсотку насичення трансферину виражали у відносних одиницях (в. о.) m/m_0 , де m_0 – величина показників у крові контрольних умовно-здорових тварин (група 1), m – величина відповідних показників у крові дослідних анемічних тварин (група 2), анемічних тварин за умов перорального введення наночастинок заліза (групи 3) або препарату порівняння (група 4).

Окрім динаміки змін маркерних показників крові аналізували стан кишкової мікрофлори дослідних тварин із ЗДА без лікування та після 10-денного курсу експериментального лікування наночастинками або препаратом порівняння. Посів вмісту сліпої кишки на селективні середовища виконували на наступну добу після

завершення 10-денного курсу експериментального лікування за стандартними протоколами [13]. Досліджувану аліквоту вмісту сліпої кишки вагою 1 г вносили в агаризований (0,1%) тіогліколево-фосфатний буфер у співвідношенні 1:10 та готували розведення на тіогліколево-фосфатному буфері від 10^{-1} до 10^{-10} . Отримані розведення висівали по $0,05 \text{ см}^3$ на селективні середовища для кількісного підрахунку представників захисної та транзиторної мікрофлори.

Морфологію виділених культур визначали мікроскопіюванням забарвлених по Граму препаратів.

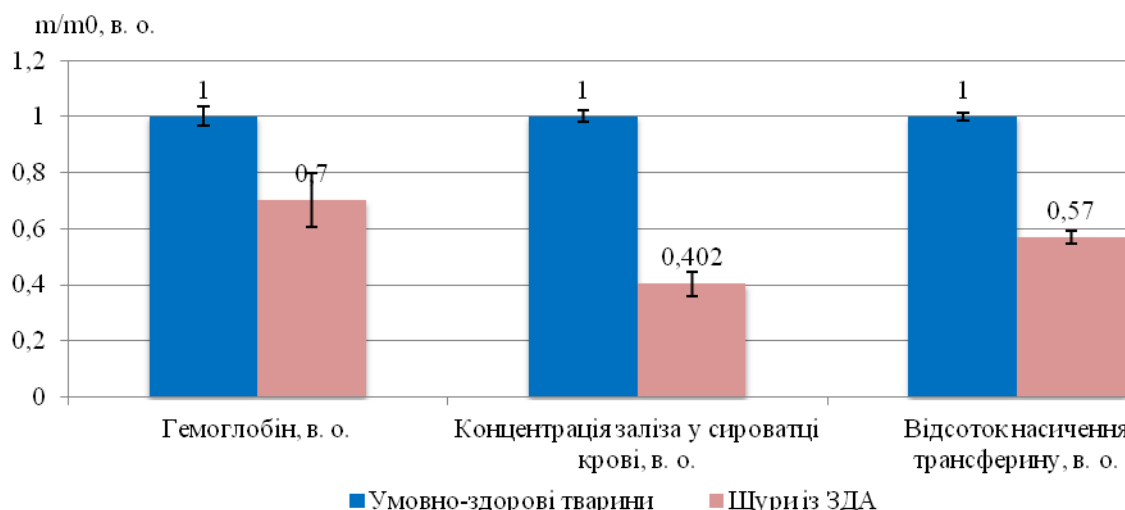
Дослідження *in vitro* характеру впливу наночастинок заліза різної концентрації на ростову активність пробіотичного штаму *Lactobacillus acidophilus* виконували згідно стандартних мікробіологічних протоколів [13].

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Microsoft Office Excel з використанням критерію Стьюдента [14].

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті утримання щурів протягом 4 місяців на залізодефіцитній дієті у дослідних тварин спостерігали клінічні ознаки, що відповідають проявам аліментарного дефіциту заліза [15]. Так, порівняно із контрольними умовно-здоровими тваринами із стандартним раціоном, дослідні тварини із залізодефіцитною дієтою характеризувались сонливістю, зменшеною руховою активністю, погіршенням стану волосяних покривів із появою ділянок алопеції.

Аналіз концентрації гемоглобіну, концентрації заліза та відсоток насичення трансферину в крові щурів, які отримували протягом 4 місяців залізодефіцитну дієту, виявив достовірне зниження цих показників порівняно із значеннями, отриманими для контрольних умовно-здорових тварин (рис. 1).

Концентрація гемоглобіну у щурів, які отримували залізодефіцитну дієту, знизилася приблизно на 30%, порівняно із значенням цього показника для умовно-здорових тварин, що свідчить про розвиток анемії (рис. 1). Достовірне зниження приблизно на 60% і 43% відповідно у тварин із модельною ЗДА спостерігалось і для показників концентрації заліза в сироватці крові та відсоток насичення трансферину, що підтверджує наявність дефіциту заліза в організмі дослідних тварин.



Примітка: * – вірогідність різниці щодо умовно-здорових тварин (контролю) ($p < 0,001$). Планки похибок – межі довірчого інтервалу за $p = 0,95$.

Рис. 1. Концентрація гемоглобіну в крові, концентрація заліза та відсоток насичення трансферину в сироватці крові (г/мг, в. о.) у щурів, яких протягом 4 місяців утримували на залізодефіцитній дієті, $n = 15$.

Посів вмісту сліпої кишки щурів із модельною ЗДА, виявив виражені дисбіотичні порушення кишкової мікрофлори порівняно з контрольними тваринами (табл. 1). Так, наприклад, у біотопі кишечника умовно-здорових тварин кількість лактобацил і біфідобактерій складала $3,5 \times 10^8$ КУО/г та $4,7 \times 10^8$ КУО/г відповідно, тоді як у тварин із модельною ЗДА значення цих показників були на порядок меншими і становили $2,2 \times 10^7$ КУО/г і $3,4 \times 10^7$ КУО/г відповідно.

Таблиця 1

Склад мікрофлори сліпої кишки щурів із модельною залізодефіцитною анемією, порівняно із контролем (умовно-здорові тварини), $n = 5$

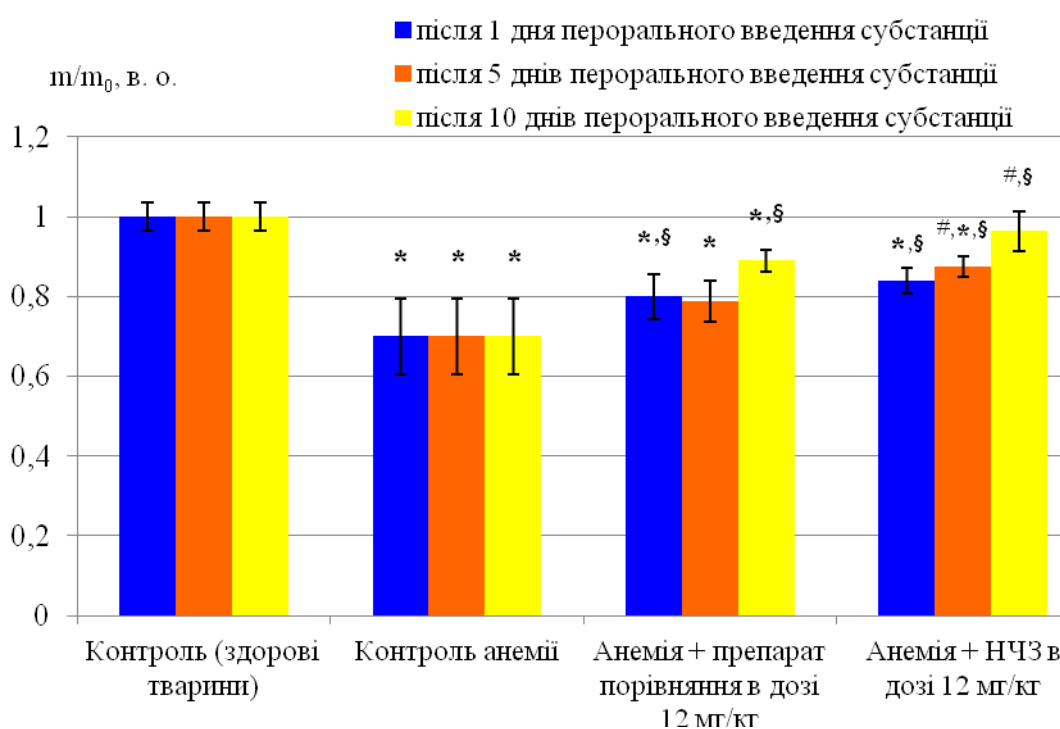
Мікроорганізми	Кількість мікроорганізмів у 1 г вмісту товстого кишечника (КУО/г)	
	Умовно-здорові тварини (контроль)	Тварини із модельною ЗДА
Загальна кількість анаеробних	$4,1 \times 10^9$	$2,0 \times 10^8$ *
Загальна кількість аеробних	$3,0 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$
Лактобацили	$3,5 \times 10^8$	$2,2 \times 10^7$ *
Біфідобактерії	$4,7 \times 10^8$	$3,4 \times 10^7$ *
Ешерихії	$4,4 \times 10^4$	$1,1 \times 10^3$ *
Ентеробактерії	$6,2 \times 10^4$	$6,8 \times 10^5$ *
Ентерококи	$4,3 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$
Сульфитредукуючі клостридії	$3,3 \times 10^4$	$4,5 \times 10^5$ *
Стрептококи	$2,5 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$
Гриби, плісені	$1,1 \times 10^3$	$2,9 \times 10^5$ *
Стафілококи	$2,2 \times 10^3$	$3,7 \times 10^4$ *
Патогенні (шигела, сальмонела)	–	–

Примітка: * – вірогідність різниці щодо групи I ($p < 0,05$).

Окрім цього, у вмісті сліпої кишки тварин із модельною ЗДА було виявлено підвищення кількості ентеробактерій, грибів та сульфитредукуючих клостридій (табл. 1), а також інші ознаки розвитку дисбактеріозу.

Отже, разом з характером змін маркерних показників крові, отримані дані щодо розвитку кишкового дисбіозу у щурів з модельною ЗДА свідчать про комплексні патологічні зміни в організмі тварин в умовах наявного дефіциту заліза.

На цьому тлі вже через 1 добу після перорального введення НЧЗ (12 мг/кг) спостерігалось підвищення концентрації гемоглобіну в крові дослідної групи в середньому на 20%, порівняно із групою тварин із модельною ЗДА (рис. 2).



Примітки: * – статистично вірогідно щодо умовно-здорових тварин (контролю), $p < 0,05$; § – статистично вірогідно щодо тварин із ЗДА, $p < 0,05$; # – статистично вірогідно щодо щурів із анемією, яким вводили препарат порівняння, $p < 0,05$.

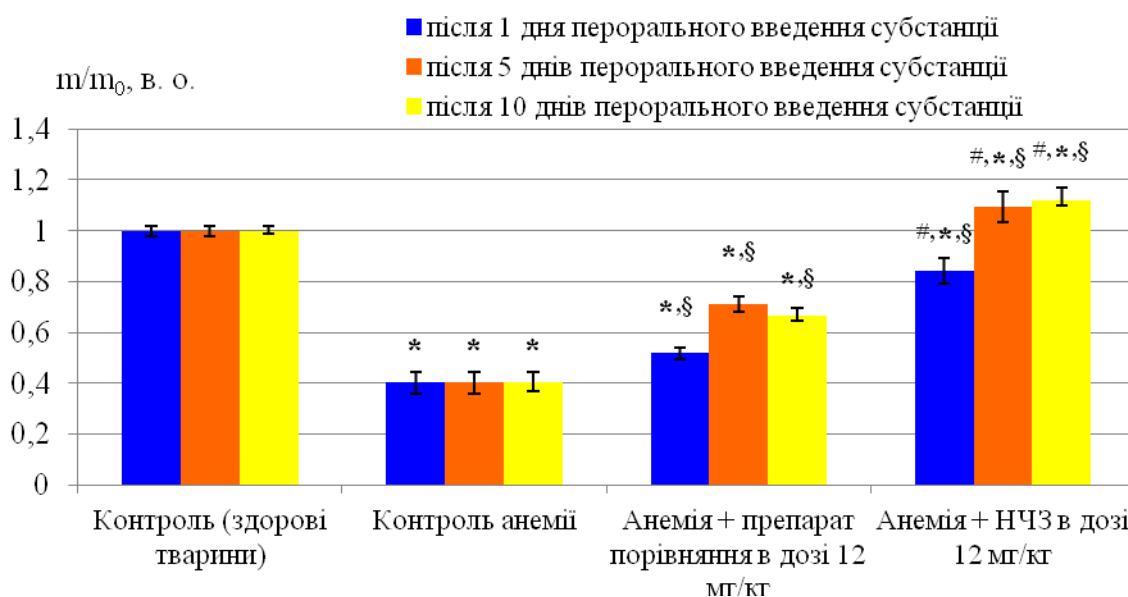
Рис. 2. Концентрація гемоглобіну (m/m_0 , в. о.) в крові щурів з модельною ЗДА через 1, 5 та 10 діб перорального введення наночастинок заліза (НЧЗ) та препарату порівняння, порівняно з контрольними групами, $n=5$.

Після 5 діб перорального введення НЧЗ концентрація гемоглобіну в крові дослідних тварин достовірно не змінювалася порівняно із даним показником після 1 доби експериментального лікування, тоді як через 10 діб після початку перорального введення НЧЗ рівень цього показника у дослідних тварин досягав контрольних значень умовно-здорових тварин (95–98%) (рис. 2).

Динаміка підвищення концентрації гемоглобіну в крові анемічних тварин

під впливом заліза (III) гідроксиду полімальтозного комплексу (препарату порівняння) була менш вираженою порівняно із впливом НЧЗ: через 10 діб після перорального введення препарату порівняння рівень гемоглобіну в крові тварин із модельною ЗДА сягав 85% рівня цього показника для умовно-здорових тварин (рис. 2).

Порівняно із динамікою змін вмісту гемоглобіну концентрація заліза в сироватці крові дослідних тварин під впливом субстанції НЧЗ у добовій дозі 12 мг/кг вже через 5 діб досягала контрольного рівня умовно-здорових тварин та залишалась на цьому рівні через 10 діб введення НЧЗ (рис. 3).

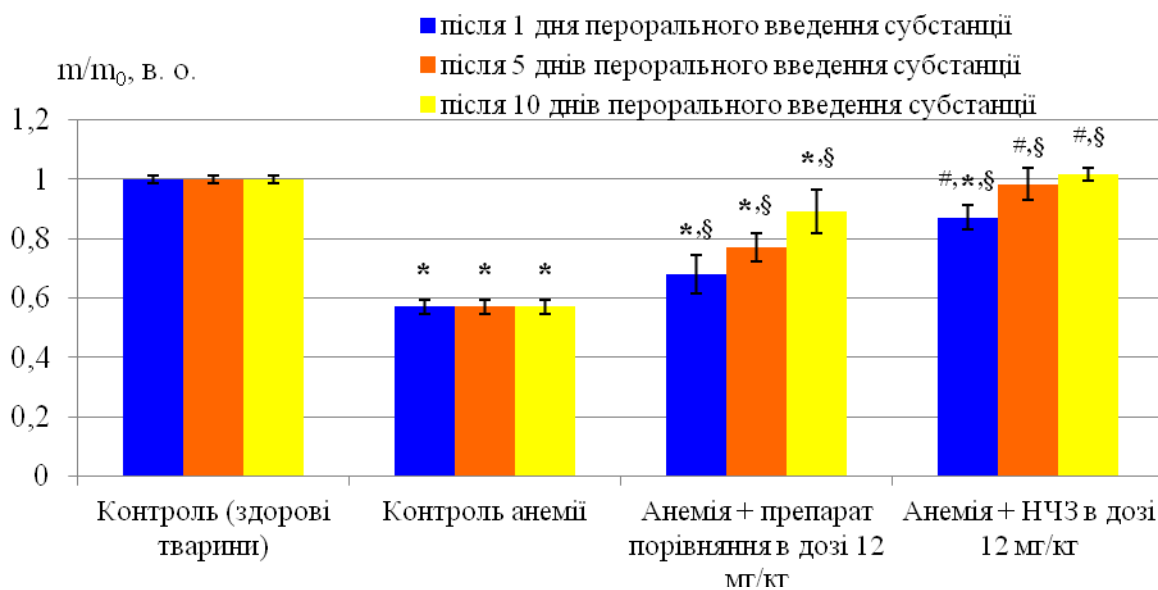


Примітки: * – статистично вірогідно щодо умовно-здорових тварин (контролю), $p < 0,05$; § – статистично вірогідно щодо тварин із ЗДА, $p < 0,05$; # – статистично вірогідно щодо щурів із анемією, яким вводили препарат порівняння, $p < 0,05$.

Рис. 3. Концентрація заліза (m/m₀, в. о.) в сироватці крові щурів із модельною ЗДА через 1, 5 та 10 діб перорального введення наночастинок заліза (НЧЗ) (n=5) та препарату порівняння, порівняно із контрольними групами.

Разом з тим, під впливом препарату порівняння в дозі 12 мг/кг вміст заліза в сироватці крові дослідних тварин після 10 діб перорального введення дорівнював в середньому 60–70% від значень цього показника у здорових тварин (рис. 3).

Швидка нормалізація до рівня контрольних значень умовно-здорових тварин спостерігалась під впливом НЧЗ і при визначенні показників насичення трансферину, значення якого сягали 75–80% контрольного рівня вже через 1 добу після введення субстанції НЧЗ, а через 5 діб дорівнювали 100% контрольного значення для умовно-здорових тварин (рис. 4).



Примітки: * – статистично вірогідно щодо умовно-здорових тварин (контролю), $p < 0,05$; § – статистично вірогідно щодо тварин із ЗДА, $p < 0,05$; # – статистично вірогідно щодо щурів із анемією, яким вводили препарат порівняння, $p < 0,05$.

Рис. 4. Відсоток насичення трансферину (m/m_0 , в. о.) в крові щурів з модельною ЗДА через 1, 5 та 10 діб перорального введення наночастинок заліза (НЧЗ) ($n=5$) та препарату порівняння, порівняно із контрольними групами.

На відміну від характеру дії НЧЗ під впливом препарату порівняння значення показника відсоток насичення трансферину в сироватці крові дослідних тварин сягало 70–80% рівня від контрольних значень через 5 діб після введення та не перевищувало 85–90% після 10 діб експериментального лікування (рис. 4).

Аналіз стану мікрофлори дослідних тварин із модельною ЗДА через 10 днів, протягом яких щурам перорально вводили НЧЗ та препарат порівняння, виявив виражену позитивну динаміку зміни складу мікрофлори. Зокрема, кількісні показники захисної та транзиторної мікрофлори наблизилися до показників здорових тварин. У тварин, яким вводили НЧЗ, спостерігали приріст біомаси лактобацил ($3,4 \times 10^8$ КУО/г) та біфідобактерій ($4,1 \times 10^8$ КУО/г). Позитивна динаміка щодо нормалізації мікрофлори кишечника у щурів після 10-ти денного курсу перорального прийому НЧЗ спостерігалась і в показниках чисельності сульфитредуючих кластридій. Так, у тварин із ЗДА кількість таких анаеробних мікроорганізмів складала $4,5 \times 10^5$ КУО/г, в умовно-здорових тварин – $3,3 \times 10^4$ КУО/г, а у тварин, яким протягом 10 діб вводили НЧЗ, значення цього показника становило $3,8 \times 10^4$ КУО/г, тобто наблизилось до рівня здорових тварин.

Отже, отримані дані свідчать про високу протианемічну активність експериментальної субстанції НЧЗ при лікуванні модельної ЗДА, більш виражену, порівняно із характером дії препарату порівняння, у якості якого був застосований заліза (III) гідроксид полімальтозний комплекс.

Враховуючи виявлену *in vivo* властивість НЧЗ сприяти нормалізації мікрофлори шлунково-кишкового тракту та стимулювати приріст лакто- та біфідобактерій в експериментах *in vitro* на прикладі пробіотичного штаму *L. acidophilus* було досліджено особливості впливу різних концентрацій наночастинок за умов їх додавання у середовище культивування бактеріальних клітин. Результати досліджень ростової активності штаму *L. acidophilus* у присутності різних концентрацій НЧЗ представлені на рис. 5.

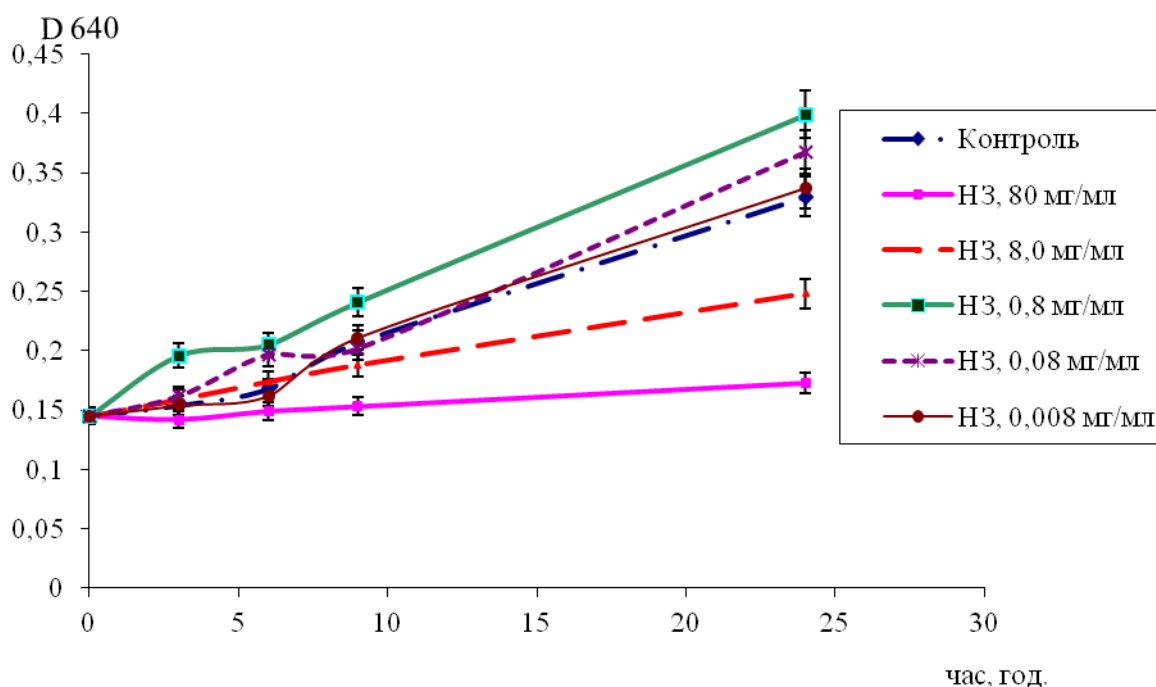


Рис. 5. Динаміка росту штаму *L. acidophilus* у присутності в середовищі культивування НЧЗ у різних концентраціях.

Отримані дані свідчать про концентраційну залежність характеру впливу НЧЗ на ростову активність досліджених бактеріальних клітин. Зокрема, показана властивість НЧЗ за вихідної концентрації препарату 0,8 мг/мл за металом (кінцева концентрація НЧЗ в середовищі культивування 0,08 мг/мл) стимулювати приріст біомаси штаму-пробіоту *L. acidophilus*.

Виявлений позитивний вплив субстанції НЧЗ на стан мікрофлори шлунково-кишкового тракту дослідних тварин, а також здатність стимулювати ріст пробіотичних штамів свідчать про перспективність використання цього типу наночастинок у розробці комплексних металовмісних пробіотиків як

нового класу імунобіологічних препаратів, що можуть виявляти високу терапевтичну активність при лікуванні і дисбіотичних станів, і залізодефіцитної анемії тварин.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. В дослідженнях *in vivo* показана ефективність наночастинок заліза у лікуванні модельної залізодефіцитної анемії щурів за умов перорального введення експериментальної субстанції.

2. Встановлено, що після десятиденного курсу перорального введення наночастинок заліза дослідним тваринам спостерігається нормалізація маркерних показників крові (концентрація гемоглобіну, концентрація сироваткового заліза крові, відсоток насичення трансферину), яка є більш вираженою порівняно із терапевтичною дією заліза (III) гідроксиду полімальтозного комплексу, використаного як препарат порівняння.

3. Показано, що під впливом досліджених наночастинок заліза разом із нормалізацією біохімічних показників крові відбувається нормалізація стану кишкової мікрофлори.

4. В дослідженнях *in vitro* на прикладі штаму *L. acidophilus* підтверджений концентраційно-залежний стимулюючий вплив наночастинок заліза на ростову активність пробіотичних клітин.

5. Наведені результати досліджень свідчать про ефективність досліджених наночастинок заліза як потенційного нового засобу профілактики і лікування залізодефіцитної анемії тварин.

З огляду на те, що наночастинок заліза поряд із вираженою протианемічною активністю виявляють позитивний вплив на стан мікрофлори та, зокрема, здатні стимулювати ріст пробіотичних штамів, перспективи подальших досліджень полягають у розробці і створенні комплексних металовмісних пробіотиків як нового класу імунобіологічних препаратів, що можуть виявляти багатовекторну терапевтичну дію.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Rai M. Strategic role of selected noble metal nanoparticles in medicine / M. Rai, A.P. Ingle, S. Birla et al. // Crit. Rev. Microbiol. – 2016. – Vol. 42(5). – P. 696–719.
2. Bai D.P. Theranostics aspects of various nanoparticles in veterinary medicine / D.P. Bai, X.Y. Lin, Y.F. Huang, X.F. Zhang // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – No. 19. – 3299; doi: 10.3390/ijms19113299.
3. Hill E.K. Current and future prospects for nanotechnology in animal production / E.K. Hill, J. Li // Journal of Animal Science and Biotechnology. – 2017. – doi: 10.1186/s40104-017-0157-5.
4. Yuan Y.G. Effects of silver nanoparticles on multiple drug-resistant strains of staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa from mastitis-infected goats: an alternative approach for antimicrobial therapy / Y.G. Yuan, Q.L. Peng, S. Gurunathan // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18. – 569; doi: 10.3390/ijms18030569.
5. Mullally C. Use of a nanocrystalline silver dressing and vacuum-assisted closure in a severely burned dog / C. Mullally, K. Carey, R. Seshadri // J. Vet. Emerg. Crit. Care. – 2010. – Vol. 20(4). – P. 456–463.

6. Gonzales-Eguia A. Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets / A. Gonzales-Eguia, C.M. Fu, F.Y. Lu, T.F. Lien // *Livestock Science*. – 2009. – Vol. 126(1–3). – P. 122–129.
7. Swain P.S. Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: A review / P.S. Swain, S.B.N. Rao, D. Rajendran et al. // *Animal Nutrition*. – 2016. – 2(3). – P. 134–141.
8. Пономарёв В.К. Применение суиферровита для профилактики железодефицитной анемии поросят / В.К. Пономарёв, Т.А. Стручкова, В.И. Сорокин, О.В. Симонова // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. – 2014. – С. 102–104.
9. Szudzik M. Iron supplementation in suckling piglets: an ostensibly easy therapy of neonatal iron deficiency anemia / M. Szudzik, R.R. Starzyński, A. Jończy, et al. // *Pharmaceuticals*. – 2018. – Vol. 11. – 128; doi: 10.3390/ph11040128.
10. Методичні рекомендації «Оцінка безпеки лікарських нанопрепаратів», затверджені Науково-експертною радою Державного експертного центру МОЗ України (протокол №8 від 26.09.2013). – Київ, 2013. – 108 с.
11. Reeves P.G. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet / P.G. Reeves, F.H. Nielsen, Jr. G.C. Fahey // *J. Nutr.* – 1993. – Vol. 123(11). – P. 1939–1951.
12. Kamei A. Dietary iron-deficient anemia induces a variety of metabolic changes and even apoptosis in rat liver: a DNA microarray study / A. Kamei, Y. Watanabe, T. Ishijima et al. // *Physiol Genomics*. – 2010. – 42(2). – P. 149–156.
13. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований / А.С. Лабинская – М.: «Медицина», 1978. – 394 с.
14. Лакин Г.Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей ВУЗов / Г.Ф. Лакин – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.
15. Четверикова Т.Д. Моделирование и коррекция алиментарной анемии / Т.Д. Четверикова, И.М. Красникова, С.А. Медведева и др. // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. – 2006. – Т. 51, № 5. – С. 246–250.

НАНОЧАСТИЦЫ ЖЕЛЕЗА КАК ЭФФЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ ЖИВОТНЫХ / Резниченко Л.С., Дыбкова С.Н., Дорошенко А.М.

В статье приведены результаты определения in vivo эффективности наночастиц железа в лечении модельной железодефицитной анемии крыс в условиях перорального введения. Установлено, что уже после десятидневного курса наблюдается нормализация маркерных показателей крови (концентрация гемоглобина, концентрация сывороточного железа крови, процент насыщения трансферрина), которая является более выраженной по сравнению с терапевтическим действием препарата сравнения. Показано, что под влиянием исследованных наночастиц наблюдается также нормализация состояния кишечной микрофлоры животных и стимуляция роста бактериальных клеток – и пробионтов.

Ключевые слова: наночастицы железа, дефицит железа, дисбиоз, нормализация, антианемическая активность.

IRON NANOPARTICLES AS AN EFFECTIVE MEANS FOR PREVENTION AND TREATMENT OF IRON DEFICIENCY ANEMIA IN ANIMALS / Rieznichenko L.S., Dybkova S.M., Doroshenko A.M.

Introduction. Among the vital microelements which deficiency leads to the greatest damage in livestock, especially in pig breeding, the leading role belongs to iron. Iron deficiency can lead to loss of 20–30% of the suckling piglets in the first weeks. So, search for new remedies effective in prevention of iron deficiency and the treatment of iron deficiency anemia is an urgent task.

The goal of the work was to determine in vivo the iron nanoparticles effectiveness in the treatment of iron deficiency anemia under their oral administration to experimental animals.

Materials and methods. Synthesized biosafe iron nanoparticles were used in this study. Their antianemic properties were studied on the model of iron deficiency anemia of female Wistar rats. Antianemic effectiveness was estimated under the 10-days treatment course of nanoparticles oral administration in the dose of 12 mg/kg. Iron(III)-hydroxide polymaltose complex (IPC) was used as comparison drug. Blood parameters (hemoglobin and iron concentrations, transferrin saturation percentage) were analysed using standard biochemical kits. The state of microflora in lower part of rats' gastrointestinal tract has been determined according to the standard microbiological protocols.

Results of research and discussion. It was determined high antianemic activity of the studied iron nanoparticles in comparison with IPC during the experimental 10-days treatment course. Normalization of all estimated marker blood parameters was observed. Together with blood parameters it was established normalization of quantitative parameters of protective and transient intestinal microorganisms in lower part of rats' gastrointestinal tract up to a level of healthy animals. During in vitro studies using *Lactobacillus acidophilus* strain it was confirmed the stimulating effect of iron nanoparticles on the growth activity of probiotic bacteria.

Conclusions and prospects for further research. Based on the analysis of complex parameters it was revealed high effectiveness of the investigated iron nanoparticles as a potential new means for prevention and treatment of iron deficiency anemia in animals.

The prospects for further research are development of metal-containing probiotics as a new class of immunobiological preparations.

Keywords: iron nanoparticles, iron deficiency, dysbiosis, normalization, antianemic activity.

REFERENCES

1. Rai, M., Ingle, A.P., Birla, S., Yadav, A. & Santos, C.A. (2016). Strategic role of selected noble metal nanoparticles in medicine *Crit. Rev. Microbiol.*, 42(5), 696-719.
2. Bai, D.P., Lin, X.Y., Huang, Y.F. & Zhang, X.F. (2018). Theranostics aspects of various nanoparticles in veterinary medicine *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 3299; doi: 10.3390/ijms19113299.
3. Hill, E.K. & Li, J. (2017). Current and future prospects for nanotechnology in animal production *Journal of Animal Science and Biotechnology*. – doi: 10.1186/s40104-017-0157-5.
4. Yuan, Y.G., Peng, Q.L. & Gurunathan, S. (2017). Effects of silver nanoparticles on multiple drug-resistant strains of staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa from mastitis-infected goats: an alternative approach for antimicrobial therapy *Int. J. Mol. Sci.*, 18, 569; doi: 10.3390/ijms18030569.
5. Mullally, C., Carey, K. & Seshadri, R. (2010). Use of a nanocrystalline silver dressing and vacuum-assisted closure in a severely burned dog *J. Vet. Emerg. Crit. Care.*, 20(4), 456-463.

6. Gonzales-Eguia, A., Fu, C.M., Lu, F.Y. & Lien, T.F. (2009). Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets *Livestock Science*, 126(1-3), 122-129.
7. Swain, P.S., Rao, S.B.N., Rajendran, D., Dominic, G. & Selvaraju, S. (2016). Nano zinc, an alternative to conventional zinc as animal feed supplement: A review *Animal Nutrition*, 2(3), 134-141.
8. Ponomaryov, V.K., Struchkova, T.A., Sorokin, V.I. & Simonova, O.V. (2014). Primeneniye suiferrovita dlya profilaktiki zhelezodefitsitnoy anemii porosyat [Use of suiferrovit for prevention and treatment iron deficiency anemia in piglet] *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta – Proceedings of the Orenburg State Agrarian University*, 102-104 [in Russian].
9. Szudzik, M., Starzyński, R.R., Jończy, A., Mazgaj, R., Lenartowicz, M. & Lipiński, P. (2018). Iron supplementation in suckling piglets: an ostensibly easy therapy of neonatal iron deficiency anemia *Pharmaceuticals*, 11, 128; doi: 10.3390/ph11040128.
10. Dybkova, S.M., Hodovskyi, O.V., Romanko, M.I., Hruzina, T.H., Ulberh, Z.R., Ushkalov, V.O. & Holovko, A.M. (2013). *Metodychni rekomendatsii «Otsinka bezpeky likarskykh nanopreparativ» [Guidelines “Safety assessment of medical nanopreparations”]*. Kyiv [in Ukrainian].
11. Reeves, P.G., Nielsen, F.H. & Fahey, Jr. G.C. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, 123(11), 1939-1951.
12. Kamei, A., Watanabe, Y., Ishijima, T. et al. (2010). Dietary iron-deficient anemia induces a variety of metabolic changes and even apoptosis in rat liver: a DNA microarray study. *Physiol Genomics*, 42(2), 149-156.
13. Labinskaia, A.S. (1978). *Mikrobiologiya s tekhnikai mikrobiologicheskikh issledovaniy [Microbiology with technique of microbiological studies]*. Moscow: Meditsina Publ. [in Russian].
14. Lakin, G.F. (1990). *Biometriya: uchebnoye posobiye dlya biologicheskikh spetsialnostey VUZov [Biometrics: a textbook for the biological specialties of universities]*. M.: Vysshaya shkola [in Russian].
15. Chetverikova, T.D., Krasnikova, I.M., Medvedeva, S.A. et al. (2006). Modelirovaniye i korrektsiya alimentarnoy anemii [Modeling and correction of nutritional anemia]. *Byulleten VSNTs SO RAMN – Bulletin of the VSSC SB RAMS*, 51(5), 246-250 [in Russian].