

УДК 619.22.28:614.48:615.9:636.065

ПРИРОДНІ ІНДИКАТОРИ БЕЗПЕКИ НАНОМАТЕРІАЛІВ

КОВАЛЕНКО В. Л., д. вет. н.¹
ПОНОМАРЕНКО Г. В., к. вет. н., доцент²
ПОНОМАРЕНКО О. В., к. вет. н.²
ЗАГРЕБЕЛЬНИЙ О. В.³
БОВКУН Т. В., директор⁴
КУНИЦЬКИЙ В. А., директор⁵

¹Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ
²Харківська державна зооветеринарна академія, м. Харків
³Державний НДІ з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, м. Київ
⁴ТОВ "НВП "Екологічний Капітал", м. Київ
⁵ТОВ "НВП "Брістон-Фарм", м. Київ
kv12000@mail.ru; gp1966@mail.ru

Наведена інформація щодо дослідження впливу різних хімічних сполук та наноматеріалів, що застосовують, як для розробки сучасних матеріалів-реманентів, так і лікарських засобів. Нерегламентоване застосування препаратів може призвести до їх накопичення у продуктах бджільництва, таких як мед та віск. Проблема біобезпеки та благополуччя навколишнього середовища вимагає ефективного контролю застосовуваної продукції для обробки навколишнього середовища та тварин. Тому, рекомендується в лабораторних умовах застосовувати бджіл, як індикаторів системи благополуччя безпечної продукції та екології навколишнього середовища з метою визначення токсичного впливу речовин за різним способом їх застосування.

Ключові слова: наночастинки, наноматеріали, біобезпека, токсичність, бджоли, мікроорганізми, екологія.

Постановка проблеми. Актуальною проблемою ветеринарної науки є створення нетоксичних, високоефективних, екологічно безпечних препаратів, які спрямовані на підвищення санітарного стану об'єктів сільського господарства, тваринництва та харчової промисловості. Основне призначення бактерицидних препаратів – зниження кількості мікроорганізмів в об'єктах довкілля за допомогою хімічних методів, що не загрожує безпеці й придатності для переробки чи споживання сировини і харчових продуктів.

Як і будь-яка нова технологія, нанотехнологія несе не лише беззаперечні переваги, але й потенційну небезпеку шкідливого впливу на здоров'я людини і природні екосистеми. Дані щодо токсичного впливу різних наноматеріалів на лабораторних тварин свідчать про їхню можливу небезпеку для людей, які контактують із такими наноматеріалами. Серед можливих шкідливих ефектів виділяють: розвиток фіброзу та інших легеневих ушкоджень після короткочасної експозиції вуглецевих нанотрубок; транслокацію наночастинок до головного мозку через нюхальний нерв; здатність нано-

частинок переходити до кровотоку, а також їхню здатність активізувати тромбоцити і зумовлювати тромбоз кровеносних судин тощо [1, 2].

Світовий розвиток нанотехнологій неминуче призведе до створення ряду принципово нових небезпек для життєдіяльності людини. Небезпека зумовлена специфікою яка реалізується у сфері нанотехнологій і наноматеріалів, заснованих, передусім, на: самоорганізації, високій адаптивності, самовивчаємості і самовідтворюваності. Проте на жаль, ні яку увагу не приділяють впливу наноматеріалів на організм комах, таких як бджоли [2-5].

Доцільно зазначити, що бджоли, реагуючи на екологічні забруднення навколишнього середовища, першими стикаються з проблемами виживання в несприятливих умовах. Наступні реагують люди – безпосередні забруднювачі природи, і часу на осмислення цього факту у нас залишилося мало. Час кризи екології постійно наближається. Головне завдання на сьогоднішній день – зберегти те, що маємо.

Незважаючи на проведені лікувально-профілактичні заходи, варрооз, аскаосфероз,

аспергільоз, гнильцеві та вірусні хвороби, а також шкідники бджіл продовжують наносити значний економічний збиток бджільництву. Ці захворювання супроводжуються частими обробками із застосуванням фармпрепаратів, в основному з негативними екологічними наслідками. Багаторазові обробки ветеринарними препаратами забруднюють бджолопродукцію і підвищують її собівартість. У зв'язку з появою змішаних захворювань в бджолиних сім'ях, виникла нагальна потреба розробки екологічнобезпечних препаратів комплексної дії [5, 7].

Всі препарати, рекомендовані для бджільництва ветеринарними фахівцями, проходять ретельні всебічні випробування. Дотримання встановленого регламенту забезпечує відсутність реальної небезпеки препаратів на бджіл і продукції бджільництва для людей. Проблеми виникають лише у зв'язку з тим, що в окремих випадках бджолярі не уважно ставляться до рекомендацій фахівців або свідомо порушують їх, сподіваючись домогтися більш значного лікувального ефекту. Крім того, часто в окремих регіонах продаються лікарські засоби, що не пройшли випробування в профільних лабораторіях, не затверджені в установленому порядку і не мають "Реєстраційного посвідчення". У цьому випадку порушується рівновага між лікувальною користю та санітарної безпекою застосування хімічного препарату. Таким чином, бджолярі самі створюють проблеми екологічної недоброякісності продуктів бджільництва, які потім виявляються або в кормових запасах зимуючих бджіл, знижуючи їхню зимостійкість, аж до загибелі, або на столах людей, які чекають від них лікувальних і дієтичних властивостей та сподіваються на поліпшення здоров'я. Нерегламентоване застосування препаратів може призвести до накопичення в продуктах бджільництва, таких як мед і віск, залишків цих недозволених засобів. У звичайній практиці вони часто недооцінюються.

У ряді зарубіжних країн отримала визнання жива індикаторна система контролю екологічної ситуації в регіоні – родина бджіл. Відомо, що в активний період життєдіяльності, бджоли відвідують зону медоносних рослин площею до 12 км². У цьому випадку до вуликів, разом з нектаром, пилком і прополісом часто приносяться різні забруднюючі агенти хімічної та

фізичної природи. Принесення забруднювачів у сім'ї відбивається і на загальній продуктивності та життєздатності бджіл, їхній стійкості до захворювань, здатності до благополучної зимівлі [7, 8].

Швидка і масова реакція бджіл на погіршення екологічної ситуації в зоні опилування і збірної діяльності є запорукою надійності своєрідного біологічного контролю за станом навколишнього середовища [3].

Один із основних факторів несприятливого впливу на життєдіяльність сімей бджіл, на нашу думку, це вплив на сім'ї бджіл різних хімічних ветеринарних засобів, що застосовуються безпосередньо у вуликах. Загальновизнано, що на сьогодні найбільш ефективним способом лікування і профілактики хвороб бджіл є хіміотерапія [3].

Мета досліджень – проаналізувати інформацію літературних джерел, власний досвід за можливості застосування одного із пріоритетних напрямів – питання безпеки наноматеріалів у бджільництві. Визначити в експериментальних дослідженнях можливість подальшого дослідження токсичного впливу препаратів на бджолах, як альтернативу їх впливу на організм лабораторних тварин.

Матеріал і методи досліджень. Наводиться інформація літературних джерел та результати власних досліджень стосовно застосування деяких матеріалів які використовуються у бджільництві. Розглянуто загальний стан бджіл та патоморфологічні зміни за обробки ветеринарними препаратами і можливий вплив наноматеріалів на їх організм.

Для токсикологічного дослідження використали групи медоносних бджіл української степової породи, клінічно здорові. Дослід розпочали з мінімальної 0,05 % концентрації препарату із поступовим збільшенням концентрації препарату від 0,05 % до 2 %. Препарат вводили у вулик шляхом розпилення з "Росинки" у кількості 200 мл/м² обприскуючи всю внутрішню поверхню вулика. Після у вулик поміщали дослідну групу бджіл (150 особин) і спостерігали за ними. Льотки вулика були закриті. Контрольний огляд проводили через 1 хв; 15 хв; 30 хв; 60 хв та 2 години після введення бджіл у вулик.

Результати досліджень та їх обговорення. Індикаторною системою екологічного небла-

гополуччя є імунна система медоносних бджіл, вона чутливо реагує на зміни умов навколишнього середовища. Під впливом хронічного комбінованого антропопресінга різних ксенобіотиків малої інтенсивності, в медоносних бджолах розвиваються вторинні імунodefіцити [2, 3], що створює сприятливі умови для розвитку інфекційних захворювань. Етіологічним чинником виступають представники сапрофітної, умовно патогенної мікрофлори, деякі віруси, які є природною мікрофлорою організму комах.

Тому, поряд з хімічними та фізичними забруднювачами зовнішнього середовища необхідно враховувати вплив опосередковано змінених біологічних факторів (мікробного й вірусного походження), які є причиною розповсюдження факторних інфекційних захворювань медоносних бджіл.

Існують й інші способи впливу на збудників хвороб, що включають застосування різних рослин в нативному вигляді або у формі настоїв, відварів. Проте, вони, як правило, значно менш ефективні, ніж спеціальні хімічні засоби.

Активне впровадження наноматеріалів у сільське господарство та ветеринарію вимагає глибокого знання потенційних ризиків і побічних ефектів, зв'язаних з використанням цих матеріалів. Виробничі цикли, спрямовані на створення нових наноматеріалів, також можуть супроводжуватися накопиченням відходів, які чинять токсичну, канцерогенну й мутагенну дію на організм людини. У зв'язку з цим, у спеціальній літературі останніх років, велика увага приділяється розгляду питань безпеки наноматеріалів і нанотехнології в медицині й біології. Галузь досліджень, пов'язаних з вивченням безпеки наноматеріалів, дістала назву нанотоксикології [2, 4, 11].

Результат аналізу даних літератури свідчить, що наночастинки володіють не лише більш вираженою фармакологічною активністю, але й токсичністю порівняно зі звичайними мікрочастками. Вони здатні проникати в незміненому вигляді через клітинні бар'єри, а також через гематоенцефалічний бар'єр у центральну нервову систему: циркулювати і накопичуватися в органах і тканинах, викликаючи більш виражені патоморфологічні зміни у внутрішніх органах, а також мають тривалий період напіввиведення. Токсичність наночас-

тинок залежить від їхньої форми і розмірів. Так, дрібні наночастинки веретеноподібної форми викликають більш руйнівні ефекти в організмі, ніж подібні їм частки сферичної форми. Також, досліджуючи вплив на організм, чітко простежується зв'язок доза – ефект [6 - 8]. За останні 5 років кількість публікацій з нанотоксикології стабільно збільшується, однак даних про негативну дію наночастинок на організми та екосистему в цілому недостатньо [9, 10].

Надходження наночастинок в організм людини, тварини або бджіл можливе інгаляційним, пероральним, перкутанним і парентеральним шляхами. Контакт людини з наноматеріалами може відбуватися на етапі розробки, виробництва, використання і переробки [9]. За рахунок броунівського руху наночастинки здатні долати великі відстані в повітряному середовищі і з легкістю проникати в альвеоли легень. Встановлено, що багато наночастинок, які знаходяться в повітрі, мають яскраво виражену тенденцію до спонтанної агрегації та формування конгломератів [8].

Щодо впливу наноматеріалів на здоров'я людини – на сьогодні навести статистично достовірні факти виникнення хронічних хвороб неможливо. Найчастіше токсична дія наноматеріалів вивчається в експерименті на тваринах або на культурах клітин [9, 10].

Пероральний вплив наночастинок є одним із шляхів їхнього потрапляння в організм тварин та бджіл. Пероральний шлях можливий у разі контамінації наночастинками їжі, перенесення наночастинок у ротову порожнину зі шкірних покривів і, нарешті, за перорального прийому лікарських препаратів, створених на основі наночастинок. Хоча всмоктування наночастинок в шлунково-кишковому каналі (ШКК) незначне, у більшості досліджень було показано, що їхній рівень підвищується в плазмі крові. Відомо, що міра всмоктування наночастинок у шлунково-кишковому каналі залежить від розміру і характеристик поверхні, причому дрібні, нейтральні гідрофобні наночастинки всмоктуються краще, ніж великі й гідрофільні [10].

Дослідження токсичності наноматеріалів на шкірі не виявили негативних ефектів при локальному нанесенні. З іншого боку, деякі наноматеріали володіли досить високою цитотоксичністю, яку виявили на клітинних культу-

рах *in vitro*. Таке протиріччя з результатами, отриманими *in vivo*, може пояснюватися меншою проникаючою здатністю наночастинок через інтактну шкіру. Ця точка зору знаходить додаткове обґрунтування у вигляді результатів експериментів які показали формування великих гранулам за підшкірної імплантації нанотрубок щурам [11].

У разі потрапляння через ШКК можливі два шляхи транспорту наноматеріалів – активний і пасивний. Наночастинок здатні зв'язувати в рідинах важкі метали, пестициди, малорозчинні отрути та проникати з ними до організму. З тонкого кишечника наночастинок потрапляють у кров (минаючи епітеліальний бар'єр або за механізмом ендцитозу). Крім цього, шляхом утворення вільних радикалів і активних форм кисню наночастинок можуть викликати перекисне окиснення ліпідів у клітинах, денатурацію білків і ушкодження нуклеїнових кислот. Це призводить до зниження життєздатності клітин з подальшими фізіологічними, біохімічними, морфологічними (ультраструктурними, гістохімічними) змінами. Крізь шкіру наночастинок можуть проникати з повітря, води, матеріалів, з яких виготовлені предмети побуту. Наночастинок мають місцеву резорбтивну дію на покриви і, таким чином, потрапляють у кровеносну та лімфатичну системи [9, 10].

Вирішення питань токсикологічної і ветеринарно-санітарної оцінки деззасобів, розробка методик визначення ефективності бактерицидної, фунгіцидної, нешкідливої дії, санітарно-гігієнічних нормативів і рекомендацій щодо профілактики захворювань є актуальним і має важливе значення для практики ветеринарної медицини. Враховуючи це, в Інституті ветеринарної медицини НААН провели дослідження пов'язаних із вивченням імунотоксичної дії на лабораторних тваринах, інфузоріях, культурах клітин тваринного походження та проводяться дослідження на бджолах [1].

Використання цих альтернативних методів дослідження токсичності бактерицидних препаратів можна рекомендувати для: орієнтовної пришвидшеної оцінки токсичності; установлення нешкідливості засобів захисту тварин під час вибіркового контролю; з метою отримання орієнтовної оцінки токсичності активно діючої речовини, розчинника, наповнювача

тощо на стадії розробки чи за зміни технології виробництва; у випадках, коли препарату є занадто мало для визначення токсичності на лабораторних тваринах; екологічного тестування препаратів, які можуть представляти загрозу для навколишнього середовища.

У цих дослідженнях застосовували найбільш перспективні та безпечні для використання в гуманній медицині і ветеринарії металеві наноматеріали, засновані на використанні фізичних явищ. У першу чергу, це відноситься до гідратованих наночастинок металів, отриманих за допомогою ерозійно-вибухової нанотехнології з отриманням колоїдних розчинів [1].

Сумісне використання аргентуму у колоїдному розчині з молочною кислотою та бензалконию хлорид дозволяє розширити спектр біоцидної дії препарату як за рахунок застосування трьох компонентів, що мають різну спрямованість біоцидної дії, так і за рахунок взаємного синергетичного посилення дії срібла при сумісному їх використанні. В результаті проведених досліджень встановлено, що препарат «Оргасепт» розроблений ІВМ НААН в рекомендованих концентраціях (від 0,05 % до 1 %) не викликає загибелі бджіл тому його можна використовувати для дезінфекції вуликів та пасічного інвентарю для профілактики інфекційних хвороб бджіл у їх присутності.

Завдяки зменшенню навантаження різних шкідливих сполук хімічної природи з боку вулика відбуваються позитивні зміни:

- дорослі особини і розплід не зазнають токсичного впливу речовин, сім'ї не страждають від сторонніх запахів, розплід дихає чистим повітрям;

- - не знижується імунітет бджіл;
- - відсутні небажані зміни спадковості;
- - на пасіці відсутні захворювання, поширені хвороби проявляються значно рідше і в меншому обсязі;
- - бджоли не страждають від надлишку статичної електрики, не відволікаються на безглузді роботи (наприклад, "очищення" від хімії);
- - збільшується тривалість життя робочих бджіл, підвищується якість трутнів, матки зберігають здоров'я й демонструють високий темп яйцекладки протягом декількох сезонів;
- - сім'ї виробляють мед та інші продукти без шкідливих домішок, сторонніх включень і

запахів;

• - зростає сила сімей, кількість розплоду збільшується, виробництво товарного меду підвищується.

Висновки та перспективи подальших розробок. Викладене вище вказує на унікальні властивості наноматеріалів, навіть, якщо вони

складаються з однієї й тієї ж хімічної речовини. Для більш ефективного аналізу токсичного впливу препаратів на основі наноматеріалів для застосування у ветеринарній практиці та у сільському господарстві, необхідно проводити дослідження токсичності на бджолах й визначати якість отриманої продукції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Концепція розробки та використання комплексних дезінфектантів для ветеринарної медицини: Монографія / За ред. В. Л. Коваленка, В. В. Недосекова. – К.: НУБіП України, 2011. – 146 с.
2. Нанотехнологии в биологии и медицине. Коллективная монография / Под ред. чл.-корр. РАМН, проф. Е. В. Шляхто. – М.: – 2009. – 250 с.
3. Шакиров Д. Т. Словарь – справочник пчеловода / Д. Т. Шакиров. – Уфа, –1998. – 150 с.
4. Нанотоксикология: напрямки досліджень (огляд). / Чекман І.С., Сердюк А.М., Кундієв Ю.І. та ін. / Довкілля та здоров'я, – 2009. – 1(48): С. 3–7.
5. Чекман І.С. Наноматеріали і наночастинки: класифікація. / І.С. Чекман, Н.О. Горчакова, О.Ю. Озейчук / Наук. вісн. Нац. мед. ун-ту ім. О.О. Богомольця, 2: – 2009. – С. 188–201.
6. Comparative genotoxicity of cobalt nanoparticles and ions on human peripheral leukocytes in vitro / R. Colognato, A. Bonelli, J. Ponti et al. // Mutagenesis: – 2008. – № 23 (5) – P. 377–382.
7. Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges / M. Ferrari // Nat. Rev. Cancer: – 2005. – № 5 (3) – P. 161–171.
8. Sahoo S. K. The present and future of nanotechnology in human health care / S.K. Sahoo, S. Parveen, J. J. Panda // Nanomedicine: – 2007. – № 3(1) – P. 20–31.
9. Donaldson K. An introduction to the short-term toxicology of respirable industrial fibres / K. Donaldson, C. L. Tran // Mutat. Res: – 2004. – № 553 (1–2) – P. 5–9.
10. Москаленко В. Ф. Екологічні і токсиколого-гігієнічні аспекти біологічної безпеки нанотехнологій, наночастинок та наноматеріалів / В.Ф. Москаленко, О.П. Яворовський // Наук. вісн. Нац. мед. ун-ту ім. О.О. Богомольця, 3: – 2009. – С. 25–35.
11. Sayes C.M. Assessing toxicity of fine and nanoparticles: comparing in vitro measurements to in vivo pulmonary toxicity profiles / C.M. Sayes, K.L. Reed, D.B. Warheit / Toxicology Science: – 2007. – № 97 (1) – P. 163–180.

ПРИРОДНЫЕ ИНДИКАТОРЫ БЕЗОПАСНОСТИ НАНОМАТЕРИАЛОВ

Коваленко В.Л.,¹ Пономаренко Г.В., Пономаренко О.В.,² Загребельный А.В.,³
Бовкун Т.В.,⁴ Куницкий В.А.⁵

¹Институт ветеринарной медицины НААН Украины, г. Киев

²Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков

³Государственный НИИ лабораторной диагностики и ветеринарно-санитарной экспертизы, г. Киев

⁴ООО «НПП «Экологический Капитал», г. Киев

⁵ООО «НПП «Бристон-Фарм», г. Киев

Приведена информация по исследованию влияния различных химических соединений и наноматериалов, применяемых как для разработки современных материалов-инвентаря так и лекарственных средств. Нерегламентированное применение препаратов может привести к их накоплению в продуктах пчеловодства, таких как мед и воск. Проблема биобезопасности и благополучия окружающей среды требует эффективного контроля применяемой продукции для обработки окружающей среды и животных. Поэтому, рекомендуется в лабораторных условиях применять пчел, как индикаторов системы благополучия безо-

пасной продукции и экологии окружающей среды с целью определения токсического воздействия веществ с различным способом их применения.

Ключевые слова: наночастицы, наноматериалы, биобезопасность, токсичность, пчелы, микроорганизмы, экология.

NATURAL INDICATORS OF SAFETY QUALITY OF NANOMATERIALS

V. Kovalenko,¹ G. Ponomarenko, O. Ponomarenko,² A. Zagrebelnyi,³ T. Bovkun,⁴ V. Kunitsky⁵

¹Institute of Veterinary Medicine of National Academy of Ukraine, Kyiv

²Kharkov State Zooveterinary Academy, Kharkov

³National Research Institute for laboratory diagnostics and veterinary-sanitary examination, Kyiv

⁴ООО «NPP «Environmental Capital», Kyiv

⁵ООО «NPP «Bristol-Farm», Kyiv

This article provides information about the impact of different chemical compounds and nanomaterials used for the development of advanced materials- implements and medicines.

Peroral influence of nanoparticles is one of the ways of getting to animals and bees. Peroral influence possible in the case of food contamination nanoparticles, carrying nanoparticles in the mouth from the skin and, finally, by peroral medications, which are based on nanoparticles. Although absorption of nanoparticles in the gastrointestinal tract is slight, most studies have shown that peroral administration accompanied by some increase in their levels of plasma.

It is known that nanoparticles measure absorption in the gastrointestinal tract depends on the size and characteristics of the surface and the small, neutral hydrophobic nanoparticles are absorbed better than large and hydrophilic.

There are two possible ways of transport of nanomaterials, when they enters the digestive tract - active and passive. The nanoparticles is capable to bind heavy metals, pesticides, poisons soluble in liquids and deliver them into the body. From the small intestine nanoparticles get into the blood (passing the epithelial barrier, or through the mechanism of endocytosis). In addition, through the formation of free radicals and reactive oxygen species nanoparticles can cause lipid peroxidation in cells, denaturation of proteins and nucleic acids damage. This leads to a decrease in cell viability, followed by physiological, biochemical, morphological (ultrastructural, histochemical) changes. Nanoparticles can penetrate the skin from air, water, materials from which made household items. Nanoparticles have local resorptive effect on covers and thus enter the bloodstream and lymphatic system. Also, because of the high binding capacity they are able to protect sorbents of toxic action of enzymes skin. Therefore it is recommended to use bees as indicators of ecology exhaust to determine the toxic effects of substances.