

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. В.Н. ТАТИЩЕВА»

На правах рукописи

Зайцев Владимир Владимирович

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ
СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ КОБАЛЬТА И МЕДИ
ПРИ ГИПОМИКРОЭЛЕМЕНТОЗАХ**

4.2.1 Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
д. б. н., доцент
Пудовкин Николай Александрович

Астрахань 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
1 Обзор литературы	9
1.1. Распространение меди и кобальта в окружающей среде.....	9
1.2. Биологическое значение меди и кобальта.....	22
1.3. Токсичность меди и кобальта.....	32
2 Материалы и методы исследований	40
3 Собственные исследования	47
3.1. Биогенная миграция микроэлементов в условиях Астраханской области.....	47
3.2. Разработка инъекционной формы нанопорошков меди и кобальта.....	55
3.3. Токсикологическая характеристика нанопорошков металлов.....	57
3.4. Фармакокинетическая характеристика нанопорошков меди и кобальта для животных.....	69
3.5. Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на морфологические показатели крови белых крыс.....	81
3.6. Фармакологическое влияние инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на биохимические показатели крови белых крыс.....	87
3.7. Особенности свободнорадикальных процессов у белых крыс под воздействием инъекционных форм нанопорошка меди и кобальта.....	90
3.8. Анализ динамики распределения и накопления минеральных соединений в организме крыс при введении им терапевтических доз инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта	101
3.9. Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на организм крупного рогатого скота.....	104
3.9.1. Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на морфологические показатели крови крупного рогатого скота	104
3.9.2. Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на биохимические показатели крови коров.....	106
3.9.3. Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на процессы перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной системы крови	

коров.....	108
3.10. Экономическая эффективность применения минеральных наносоединений на основе меди и кобальта.....	110
Заключение	114
Выводы	122
Практические предложения	124
Перспективы дальнейшей разработки темы	125
Список сокращений	126
Список литературы	127
Приложения	151

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследований. Астраханская область является крупнейшим регионом Нижней Волги, в развитии которого ведущее социально-экономическое значение занимает сельское хозяйство, в частности животноводство. Переход данной отрасли на технологические платформы реализации потенциала региона требует решения такой актуальной проблемы, как применение биотических доз наноструктурных соединений различных минеральных веществ [4,7,21,23,145].

Астраханский регион, согласно исследованию многих авторов [36–44,52,141,147,194], является дефицитным по обеспеченности почв, растительности и кормовой базы жизненно важными микроэлементами. Вследствие этого возникает риск развития эндемических заболеваний животных, которые в свою очередь наносят огромный экономический ущерб сельскому хозяйству [1,2,16,19,20,36,37,41].

Гипомикроэлементозы – широко распространенные заболевания животных [45,59,60,136,148]. Значительные перспективы в борьбе с этими заболеваниями открывает применение наноразмерных частиц минеральных элементов.

Наночастицы чрезвычайно привлекательны для ветеринарной медицины, в основном из-за их высокого отношения поверхности к объему, способности взаимодействовать с молекулярными или клеточными процессами и возможности влиять на их функции [4,8,18,32,66,106,166,175]. Множество физиологических процессов происходит в наномасштабах. В связи с этим еще одной важной особенностью наноструктурных материалов является их размер, сравнимый с клеточными органеллами организма [4,177,180,183,195].

Формирование стабильных взаимодействий с лигандами, варибельность размеров и формы, высокая переносящая способность и удобство связывания как гидрофильных, так и гидрофобных веществ делают наночастицы выгодными платформами для таргет-специфичной и контролируемой доставки микро- и макромолекул в терапии заболеваний.

К наиболее перспективным в ветеринарии направлениям развития нанотехнологий следует отнести разработку ветеринарных препаратов с повышенным биологическим эффектом на основе нанодисперсных структур – нанопорошков металлов.

Актуальным [196,201,202,203] является изучение влияния ультрадисперсных порошков металлов на организм сельскохозяйственных животных, обмен веществ, стимуляцию роста и разработка технологий их применения.

В ветеринарной практике используется много препаратов для восполнения дефицита различных минеральных элементов. Однако данные исследования ограничены [4,7,18,22,32,50,66,67,72,73,89,119,127,134,166,173] и требуют дополнений, касающихся новых потенциальных положительных свойств наноструктур.

Степень разработанности темы. Известные российские ученые занимались изучением миграции микроэлементов в системе «почва – растение – животное» (Воробьев В.И., 2002–2020; Самохин В.Т., 1997, 2008; Кутепов А.Ю., 2003; Родионова Т.Н., 2004, Киреев И.В., 2018-2020; Ларина Ю.В., 2017-2021).

На сегодняшний день имеются единичные упоминания об использовании минеральных наноструктурных соединений в ветеринарной медицине [4,17,67,107,119].

Однако никогда не проводилось комплексное лечебно-профилактическое исследование влияния нанопрепаратов металлов на живые организмы, (биогеохимические условия Астраханской области), а также изучение микроэлементного статуса и метаболизма крупного рогатого скота черно-пестрой породы. Кроме того, не устанавливалась фарматоксикологическая характеристика влияния данных препаратов на гематологические показатели, уровень свободнорадикального окисления, активность антиоксидантной и ферментативной системы лабораторных животных.

Цель и задачи исследований. Цель работы – разработка минеральных соединений на основе наночастиц меди и кобальта, изучение их фармако-токсикологических свойств и их эффективность при гипомикроэлементозах крупного рогатого скота в биогеохимических условиях Астраханской области.

Для достижения заданной цели нами были поставлены следующие задачи.

1. Изучить распределение меди и кобальта в системе «почва – растение – животное» в биогеохимических условиях Астраханской области.

2. Определить острую, хроническую токсичность инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта при подкожном и внутрижелудочном введении лабораторным животным.

3. Дать фармакокинетическую характеристику инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта при различных дозах и способах введения лабораторным животным и крупному рогатому скоту.

4. Дать оценку влияния инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта на морфологические и биохимические показатели периферической крови животных.

5. Изучить реакцию свободнорадикальных процессов организма на введение инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта.

6. Установить фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта в организме крупного рогатого скота.

Научная новизна. Впервые в ветеринарной практике создано новое соединение на основе наночастиц меди и кобальта. Обоснована возможность его применения животным. Дана токсикологическая характеристика инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта. Изучена фармакокинетика и фармакодинамика данных соединений в организме животных. Дополнены сведения о влиянии нанопрепаратов на окислительно-восстановительные процессы в организме животных и систему крови.

Объект исследований – компоненты экосистем Астраханской области, лабораторные животные и крупный рогатый скот.

Предмет исследования - инъекционные формы нанопорошков металлов на основе меди и кобальта.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы состоит в том, что изучены некоторые особенности действия инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта на организм крупного рогатого скота черно-пестрой породы. Определено влияние данных препаратов на функциональные способности систем организма – кровеносную, нервно-трофическую, антиоксидантную.

Практическая значимость работы заключается в том, что результаты наших исследований обосновывают применение данных соединений для лечения и профилактики гипомикроэлементозов у различных видов животных.

Результаты исследований внедрены в производство крестьянско-фермерского хозяйства Ахмедовой Х.М., государственного бюджетного учреждения Астраханской области «Приволжская районная ветеринарная станция».

Полученные данные включены в учебный процесс в ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева» и ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова».

Методология и методы исследований. Методологическим подходом к решению поставленных задач явилось системное изучение объектов исследования, анализ и обобщение полученных результатов. Объект исследований – инъекционные формы нанопорошков металлов на основе меди и кобальта. Экспериментальные работы проводили на беспородных белых крысах при подкожном и внутрижелудочном введении, а также на морских свинках с целью определения фармакологических и токсикологических характеристик соединений в разных дозировках. Производственный опыт проведен на крупном рогатом скоте

черно-пестрой породы (внутримышечное введение) в личном подсобном хозяйстве «ТЛЕК» Приволжского района Астраханской области.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. По токсикологическим свойствам соединения на основе наночастиц меди и кобальта относится к малоопасным веществам (ГОСТ 12.1.007.76) и не вызывают раздражающего и аллергического действия.

2. Результаты фармакокинетики соединений на основе наночастиц меди и кобальта позволяют рекомендовать их для профилактики и лечения гипомикроэлементозов животных.

3. Соединения на основе наночастиц меди и кобальта оказывают положительное влияние на лечение и профилактику заболеваний, связанных с недостатком этих микроэлементов в организме животных.

Апробация результатов исследования. Материалы диссертации доложены, обсуждены и одобрены на Национальной научно-практической конференции с международным участием в рамках Международного научного форума «Каспий 2021: пути устойчивого развития» (г. Астрахань, 2021); Международной конференции «Мультикультурные ценности и проблемы развития туризма в Прикаспийских странах» (г. Баку, 2022); Международной научно-практической конференции «Современные достижения в решении актуальных проблем агропромышленного комплекса» (г. Минск, 2022); Конференции «Современные проблемы ветеринарной медицины и патологии животных» (г. Саратов, 2022).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них 3 – в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 155 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, собственных исследований и заключения. Список литературы включает в себя 203 источника, из них 51 – иностранных. Работа иллюстрирована 22 таблицами и 35 рисунками.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Распространение меди и кобальта в окружающей среде

Вопросами распределения различных минеральных веществ в окружающей природе занимается наука биогеохимия, основоположником которой является академик В.И. Вернадский. Благодаря его исследовательской деятельности [1, 6, 21, 24, 31, 39] содержание минеральных веществ в почве, водной и воздушной средах стали рассматривать в качестве одного из факторов внешней среды, влияющих на жизнедеятельность живых организмов. Кроме того, он считал, что геохимические процессы земной коры и эволюция элементарного состава живого вещества являются двумя взаимосвязанными друг с другом явлениями [75, 85, 101, 108].

На биогенную миграцию, а также рассеивание и накопление химических веществ, в том числе меди, кобальта и их соединений в различных объектах живой и неживой материи оказывают влияние геохимические и биогеохимические процессы [120,130,146]. Немалую роль играет и антропологический фактор [100,143], прямо или косвенно воздействуя на геохимическую обстановку различных территорий и вместе с тем на обитающие на ней живые организмы.

Исследования в этой области продолжил академик А.П. Виноградов – основоположник учения о биогеохимических провинциях [34,38,75,146], в котором выделил два типа таких провинций. Провинции первого типа называются зональными и имеют тесную связь с почвенно-климатическими зонами, то есть содержание минералов в них напрямую зависит от климатических особенностей и состава почвы. В регионах этого типа животные и растения в большинстве случаев подвержены недополучению микроэлементов [21,36,37,44,51,64]. Ко второму типу относятся азональные провинции, в которых находятся месторождения руд и участки гидрогенной аккумуляции солей. В таких условиях живые существа обычно страдают интоксикациями в виду избытка различных минеральных элементов и их соединений [86,88].

Возникновение биогеохимических провинций во многом определяется особенностями почвообразующих пород, течения процесса образования почвы и наличия на территории рудных аномалий. Деятельность человека на карте биогеохимических провинций отражается в виде появления локальных техногенных геохимических аномалий [58,100,130,143], располагающихся вблизи предприятий по переработке сырья, в состав которого входят металлы в качестве примесей.

Количественное содержание микроэлементов в почвах имеет прямую зависимость от многих факторов, к наиболее значимым из них можно отнести содержание в почве органического вещества и ее гранулометрический состав, неоднородность видового состава растительности, процессы биологического круговорота микроэлементов [1,2,16,24,83,97,123,124,125,157,176].

В современной научной отечественной и в иностранной литературе [34,36–46,52,59,92,162,165,169,174] имеется большое количество данных о содержании микроэлементов во внешней среде. В рамках нашего исследования особое внимание уделялось работам, посвященным биогенной миграции меди и кобальта.

Медь, встречающаяся в природе, представляет собой смесь, состоящую из двух стабильных изотопов [5,13,52]. Изотопная распространенность первого составляет 69,1%, массовое число 63, у второго – 30,9% и 65 соответственно. Это металл, поверхность которого имеет красный цвет, а излом – розовый.

Меди, как железу и кобальту, свойственно образовывать с другими химическими элементами комплексы [5,53,54,55], имеющие вид окрашенных соединений, нерастворимых в воде сульфидов и так далее. Чаще всего в химическим веществам меди присуща двухвалентность, но также существуют соединения, в составе которых металл присутствует в трехвалентном состоянии.

Медь известна человечеству с незапамятных времен, а своим названием обязана острову Кипр, где в III веке до нашей эры велись разработки медных рудников. В живых организмах этот элемент был обнаружен в 1816 году, а в 1930 году было установлено его значение для жизнедеятельности растений [1,21,24,56].

Относительно других химических элементов медь не имеет большого распространения в окружающей природе, в земной коре ее содержание составляет в среднем 0,01% [1,2,6,46,108]. Тем не менее, основная добыча металла приходится на руду и минералы, а количество рудников самородной меди не превышает 5% от общей мировой добычи в год.

Под литосферой расположена более глубоко лежащая земная оболочка, именуемая мантией Земли. Она представлена двумя частями: верхняя уходит к ядру планеты от коры до глубины 900 км и состоит из кремнекислых соединений, а нижняя часть простирается до уровня 2900 км и носит название халькосферы. Эта часть мантии богата сульфидами металлов, среди которых распространена и медь.

Результатом различных гидротермальных и магматических процессов, происходящих в средней оболочке Земли, является выход в нижние уровни литосферы халькофилов – элементов мантии. Вследствие этого большая часть меди в земной коре находится в виде различных соединений с серой, что составляет примерно 80% [61,75]. Оставшиеся 15% меди представлены окислами, силикатами, карбонатами и другими кислородсодержащими веществами, возникающими в результате выветривания первичных сульфидных медных руд.

На сегодняшний день известно до 240 различных минералов, в состав которых входит медь, но лишь около 40 из них применяются в промышленности [49,147]. Это медный колчедан, или халькопирит, медный блеск – халькозин, малахит, азурит и др.

Наиболее часто встречаются первичные минералы меди в виде простых и сложных сульфидов. Процессы, вызванные природными явлениями, в частности выветриванием, воздействуют на нестабильные соединения минеральных веществ, вызывая высвобождение ионов [6,46,108]. Медь и сера относятся к нестабильным элементам, чем и объясняется данный факт.

Также медь характеризуется низкой подвижностью относительно других минеральных соединений вследствие реактивной способности ее катионов вступать

в химические реакции с сульфидами, карбонатом и гидроксидом, из-за чего образуются стойкие, осажденные соединения.

Согласно отечественным и зарубежным источникам [1,5,6,21,29,36–45,138,159,170,181,186], высокая концентрация содержания меди отмечается в почвах горных пород, а наименьшее содержание данного микроэлемента – в карбонатных почвенных массивах.

Накопление меди в почве происходит благодаря высокой концентрации в ней глинистых минералов, органических и карбонатных соединений, а также щелочной реакции среды. На подвижность меди и ее доступность для растений оказывают влияние процессы комплексообразования и адсорбции [25]. Наибольшей доступностью для растений обладают водорастворимые и обменносорбированные соединения.

Способностью адсорбировать ионы меди обладают практически все минеральные вещества, входящие в состав почвы. Уровень адсорбции находится в зависимости от заряда поверхности адсорбента, который обуславливается величиной кислотности среды. Так, при значении рН почвы 7–8 растворимость анионов меди снижается.

Уровень содержания меди в различных типах почв колеблется в широких пределах [5,6,25,38,52]. Единицей измерения среднего содержания химического элемента является кларк.

По данным Виноградова [1,91,98,99], кларк меди в земной коре равен 47 мг/кг, а в почвах этот показатель составляет 20 мг/кг. Минимальными значениями фоновых концентраций металла характеризуются легкие песчаные почвы, а максимальными – ферраллитные почвы [6, 46, 108]. В среднем фоновое содержание меди варьирует от 6 до 10 мг/кг. Зарубежные источники [188,189,190] подтверждают его сведения, так подзолистые и легкие песчаные почвы Австралии содержат от 19 до 56 мг/кг меди.

Наибольшей концентрацией меди обладают красно- и желтоземельные почвы [75], они также богаты содержанием подвижных форм меди. Несколько меньше этого элемента в черноземах и засоленных почвах. Низкое содержание меди зарегистрировано в почвах тундры, торфяниках и дерново-карбонатных почвах.

Неоднозначно распределение этого металла в региональном аспекте. Самые низкие значения были зафиксированы на каштановых почвах, а максимальные концентрации – на черноземельных [100,109,112,151].

Исследования пахотного слоя в Рязанской области показали [120,143,144], что для серых лесных почв свойственно содержание общей меди в количестве 36,7 мг/кг, для черноземельных – 28,6 мг/кг, а для дерново-подзолистых – 14,5 мг/кг. В работе Н.А. Протасовой и А.П. Щербакова [112] рассматривалось содержание меди в различных видах чернозема области. В результате их исследования было установлено, что концентрации металла в оподзоленных черноземельных почвах составляют 16 мг/кг, в выщелоченных – 19 мг/кг, в обыкновенных и типичных – 23 мг/кг, а в южных – 25 мг/кг.

Растения и животные, населяющие таежные ландшафты с влажным климатом, зачастую испытывают дефицит меди, так как она легко выщелачивается из кислых почв, что особенно заметно на песках и торфяниках. В степных зонах и пустынях медь малоподвижна, от того трудно доступна для растительных организмов [24,25,112,151]. Избыток меди в почвах наблюдается на территориях ее месторождений, а также вблизи промышленных предприятий переработки медьсодержащего сырья.

Кроме общего содержания меди большое значение имеют формы ее нахождения в почве. В почве она может пребывать в четырех формах [6,112,143,144]:

Доступная для растений форма минерализованного соединения, когда медь входит в реакцию с органическим, биодоступным слоем почвы, что позволяет ей легче усваиваться и фиксироваться растительными организмами. Медь доступна

также в растворимом в воде виде, тем самым оказывая более полноценное влияние на концентрационную способность растений захватывать и удерживать в себе данный минеральный элемент.

Медь способна оставаться в первоначальном состоянии, т.е. входить в состав сложной кристаллической решетки минеральных ископаемых первого и второго поколения. В таком виде она, как важнейший микроэлемент, не биодоступна для растений и животного мира.

В окружающей среде медь встречается в условно доступной форме для растений и живых организмов. Такие виды минерального соединения получили названия обменные. Таким образом, медь находится на поверхности почвенных слоев в неизменном виде, но связанная с минеральными веществами, которые располагаются в этих слоях. Может происходить стойкая адсорбция меди, но при этом она все равно может быть поглощена и удержана растительными организмами.

Таблица 1 – Биодоступность меди в почвах разных типов, мг/кг

Тип почвы	Средняя общая концентрация меди	Содержание подвижных форм	Границы колебания общего среднего значения
Дерново-подзолистые	15	1–5,4	0,1–47,9
Серые лесные	15	6,6–7,8	5–39
Черноземы	30	4,1– 6,5	7–118
Каштановые	10	–	0,6–20
Сероземы	11	–	5–20
Красно- и желтоземы	76	7,4	27–140
Болотные	11	–	2–37
Торфяник верховой	3	–	1–5

Концентрационный градиент биодоступной (подвижной формы) меди для растений в зависимости от зонирования типа почвы может быть различным, но в среднем его концентрация варьируется от 1 до 7,8 мг/кг (таблица 1).

Химический состав растений регулируется двумя основными факторами: внешним – экологическим, связанным с количеством микроэлементов в питательной среде, и внутренним – генетическим, определяющим потребность организма в том или ином химическом элементе и обуславливающим их избирательное поглощение [24, 25].

Растениям, как и животным, характерна особенность выборочного поглощения питательных веществ, необходимых для процессов жизнедеятельности, из окружающей среды; поступление химических элементов и их соединений происходит посредством корневой системы и поверхности листьев [25].

Существует три вида факторов, определяющих поступление микроэлементов в растительный организм. Во-первых, это физиологические особенности самого растения, так как разные виды имеют различные потребности в каждом элементе. Во-вторых, немалую роль играют химические свойства металлов, их форма нахождения в почве и трансформация их соединений. В-третьих, к почвенным факторам относятся свойства почвы, динамичность и скорость протекания в ней почвенных процессов. На доступность химических элементов для растений влияют рН среда почвенного раствора, гранулометрический состав почвы и концентрация в ней органических соединений.

Концентрация химических элементов в разных частях растительного организма отличается по своей величине, так максимальные значения наблюдаются в органах основных процессов жизнедеятельности, то есть в листьях [16,24,25,112]. Перемещение микроэлементов в организме растений осуществляется двумя путями – апоплазматическим и симплазматическим, обуславливающими неравномерное распределение концентраций в отдельных органах.

Апоплазматический путь, осуществляющийся по принципу диффузии и проходящий по свободному пространству клеточных оболочек и межклеточного пространства, характерен для снабжения органов роста и питания. Так, к клеткам и тканям вегетативных органов растений поступают не только значимые для обмена веществ элементы, но и не нужные [112,120], причем с повышением их содержания в окружающей среде возрастает вероятность их поступления.

Симплазматический путь носит избирательный характер и проходит между клетками по плазмодесмам. По такому пути ионы металлов поступают в органы размножения растений. В данном случае симплазма играет роль биофильтра, предотвращающего накопление тяжелых металлов в репродуктивных органах.

В растениях медь входит в состав ферментов, комплексных белковых соединений и низкомолекулярных органических веществ, а также нескольких важнейших ферментов, к которым относятся пластоцианин, цитохлоромоксидаза, полифенолоксидаза, диаминооксидаза и др. [24,25,144]. Количество этого металла в растениях варьирует от 1,3 до 27 мг/кг, что зависит от концентрации микроэлемента во внешней среде и видовой принадлежности [143,153]. При выращивании одной культуры на разных типах почв содержание меди может отличаться до 8 раз. Наибольшей концентрацией микроэлемента отличаются листовые пластины и семена, меньше всего его содержится в корнях и стеблях [24,25,37,52,112].

Растения не способны повторно использовать поглощенную медь, что является характерным свойством металла, потому необходимо его постоянное поступление [21,24,25].

В растениях большая часть меди присутствует в составе стабильных соединений (до 99 %), и свободных ионов, концентрация которых сводится к минимальным значениям. Ей свойственна способность изменять свою валентность, причем стабильностью отличается только двухвалентная медь [5,24].

В высоких концентрациях медь проявляет фитотоксичные свойства, пагубно воздействуя на растительные организмы. Её избыток вызывает медь

индуцированный хлороз и поражения корневой системы, проявляющиеся снижением активности ряда ферментов [1,5,6,25].

Среднее значение концентрации хелатов кобальта в растительных организмах составляет 0,2 мг/кг, а пределы колебаний от 0,01 до 0,85 мг/кг [5,12,24,25,65]. На этот показатель также влияют условия выращивания культуры и ее вид. Кроме того, довольно значимым фактом является установленное антагонистическое и синергетическое взаимодействие между отдельными элементами. Усиление или подавление поглощения и усвоения кобальта и других микроэлементов начинается еще в почве и продолжается внутри клеток растений и на мембранных поверхностях [84,105].

Высокое содержание белка и железа в органической составляющей почвы снижает интенсивность усвоения кобальта корневой системой. Обогащенность грунта цинком и медью, напротив, усиливает процесс поглощения металла. Кроме того, кобальт составляет конкуренцию йоду, и избыток первого приводит к дефициту последнего [1,5,6,112,120].

Количественное содержание подвижных форм кобальта отражается на его концентрации в растениях, что получило широкое применение в сфере экологического мониторинга уровня токсикогенного влияния соединений токсических металлов на биосферное сообщество [58,143]. В качестве биологического индикатора для обследования территории используют листья, поскольку они улавливают и отражают даже мельчайшие изменения концентраций микроэлементов.

Клубни и корни растения представляют собой депо для отложения запасов кобальта. Установлена связь между количеством кобальта в организме растений и их физиологическим периодом. Отмечаются более высокие концентрации кобальта во время интенсивного роста растения, которые снижаются в период цветения [24,25,143]. Люцерновое сено также обладает высокими концентрациями этого химического элемента – до 0,85 мг/кг [5, 24, 75].

Мхи и лишайники активно поглощают этот микроэлемент из окружающей среды и накапливают его, как и другие тяжелые металлы. Большую потребность в кобальте испытывают деревья и кустарники, например, дуб, ива, тополь и другие, чем травы [24, 25]. На полях близ кобальтовых месторождений произрастают кобальтофильные виды растений, являющиеся его концентраторами. Исследования золы таких растительных организмов показали содержания металла в количестве 0,5 %.

В зарубежной литературе [154,155,178,185] имеются данные об оптимальных и патологических значениях содержания кобальта в растительных организмах. Наличие кобальта от 0,03 до 1 мг/кг в расчете на сухое вещество обуславливает нормальное течение процессов жизнедеятельности растений.

Снижение данной величины до 0,02 мг/кг вызывает заболевания, связанные с недостатком микроэлемента, а возрастание до 15–50 мг/кг влечет за собой развитие фитоинтоксикаций, проявляющихся хлорозом молодых листьев. Излишки кобальта в растительном организме поступают в транспирационный поток воды, берущий начало в корневой системе и заканчивающийся на поверхности листьев и других наружных органах, где происходит ее испарение.

Поступление большого количества элемента [5, 24, 25] приводит к его накоплению на кончиках и краях листьев. В начале процесса они бледнеют, а затем отмирают.

Фиксация азота из атмосферного воздуха, как сложного соединения, необходимого для нормального физиологического роста растений, довольно многоступенчатый процесс. Концентрирование и последующая фиксация атмосферного азота происходят непосредственно в корневых клубеньках растительных организмов. Там же был выделен коэнзим кобаламин [21, 25].

Кобальт как жизненно важный минеральный элемент необходим для физиологических процессов бактериальным организмам, основная функция которых связывание и фиксация атмосферного азота.

Содержание кобальта в литосфере составляет 18 мг/кг, а в почвах мира величина его довольно незначительна – 8–9 мг/кг [12, 65, 84].

В биосфере присутствует в виде комплексного аниона гидроксида кобальта, а также двух- и трехвалентных ионов [6, 46, 108].

Большую распространенность в природе получил Co^{2+} , который обладает катионогенными свойствами, Co^{3+} встречается гораздо реже и представляет собой сильный окислитель [68,140].

В водной среде на миграцию этого микроэлемента влияют водородный показатель и окислительно-восстановительный потенциал, но в гораздо меньшей степени, чем у других металлов. Данный факт обусловлен его стойкостью к гидролизу, так до уровня рН воды равного 9 может пребывать в виде свободных ионов второй степени окисления.

Грунтовые воды гумидных зон в среднем содержат 0,64 мкг/л кобальта, а минерализованные воды континентальных областей – до 1,21 мкг/л [141,146].

В различных типах почв кобальт пребывает в рассеянном состоянии, входит в состав органического вещества и решеток минералов почвы, в водорастворимой и обменной формах. Его количество во многом зависит от состава материнской породы, а распределение определяется распределением в профилях почв конгломератов, обладающих способностью его фиксации [6,46,108,143,146].

Первопричиной загрязнения почв этим тяжелым металлом является антропогенный фактор.

В большей степени опасны для экологии отходы и выбросы промышленных заводов тяжелых металлов, а также загрязнения перерабатывающих заводов и станций [58,143]. Синтетические удобрения на основе минеральных комплексов, сжигание угля и других видов топлива дают меньшие значения загрязнения [100].

Наиболее богаты кобальтом почвы, стоящие на дунитах, пироксенах и серпентинитах, то есть ультраосновных горных породах, но самые высокие концентрации регистрируются на базальтовых породах (таблица 2).

Таблица 2 – Биодоступность кобальта в почвах разных типов, мг/кг

Тип почвы	Средняя общая концентрация кобальта	Содержание подвижных форм	Границы колебания общего среднего значения
Дерново-подзолистые	3,1	1,9–3,2	0,45–14
Болотные	2,9	3,2–5,4	0,8–5,2
Дерново-карбонатные	4,2	–	0,9–5,2
Серые лесные	3,9	–	2,5–8,0
Черноземельные	6,1	5,4	2,6–13
Каштановые	8,6	–	–
Засоленные	5,3	–	1,7–8,8
Сероземельные	1,6	–	–
Красноземельные	7	4–10	1,7

Черноземельные почвы считаются бедными из-за наличия водорастворимых форм кобальта [100, 109, 112, 120, 143,151], что обусловлено избыточным содержанием карбонатов в почвенном растворе. Вступая в реакцию с данным металлом, они осаждаются в виде углекислого кобальта и гидроксида кобальта.

Содержащийся в кислых почвах кобальт вытесняют атомы водорода, что способствует его вымыванию в глубже лежащие слои [151].

Доступность микроэлемента для растений возрастает при уменьшении водородного показателя среды.

В почвах, характеризующихся щелочным раствором среды, этот элемент образует труднорастворимые вещества, в том числе и гидраты, препятствующие его вымыванию из профиля. В черноземельных почвах концентрация кобальта и

границы ее колебаний незначительно снижаются в направлении от поверхности к материнской породе [141,151].

Распределение и поведение кобальта в почве во многом определяется имеющимся количеством глинистых соединений и органического вещества, а также составом последнего.

Органические хелатные кобальтсодержащие вещества обладают высокой подвижностью, потому активно перемещаются. Некоторыми авторами отмечено, что при высоком содержании органических соединений почвы, но при небольшом кобальта, его органические соединения наиболее доступны для растений. Данный факт наиболее четко проявляется на дренированных почвах при высоком значении водородного показателя [24, 25, 38, 46, 112].

Почвообразующие процессы, происходящие в профиле, оказывают большое влияние на концентрации кобальта и его распределение, отсюда можно сделать вывод, что существует зависимость и от климатических зон [112,141,151].

Кобальт относительно подвижен в ландшафтах гумидной зоны [6,112,120], поскольку уровень его накопления растениями довольно низок и не препятствует выносу из верхних слоев подзолистых и дерново-подзолистых почв. Итогом кислого выщелачивания в лесных почвах является накопление этого микроэлемента в иллювиальных горизонтах.

Недостаток кобальта, вследствие чего у домашнего скота нередко развивается акабальтоз, отмечается на песчаных почвах нечерноземных регионов России [6,12,21,39,40,43,44,76,78, 150].

Акабальтоз наносит огромный экономический ущерб сельскому хозяйству вследствие выбраковки племенного поголовья, снижения мясной и молочной продуктивности, а также развития вторичных заболеваний, которые приводят к гибели животного.

В ландшафтах лесной зоны миграция металла в водной среде весьма ограничена по причине его сорбции глинистыми минералами, гидроксидами железа и марганца.

Для лесостепной зоны со слабокислой и нейтральной средой серых лесных почв характерна слабая миграция кобальта, при усиленной аккумуляции травами, и незначительное накопление в гумусовых горизонтах [6,29,112].

В степной и полупустынной зонах отмечается более низкая интенсивность миграции микроэлемента. Небольшое его количество аккумулируют корни трав и надземные части произрастающих здесь полыни и камфоросмы.

1.2 Биологическое значение меди и кобальта

Каждый многоклеточный животный организм представляет собой открытую живую систему, состоящую из отдельных клеток анатомически и функционально взаимосвязанных и обладающих уникальным составом. Примерно до середины XIX века биологи считали [1, 2, 19, 21, 30], что в этот состав входит только строго определенное число химических элементов, которых называли «истинно биогенными». К таковым относятся водород, углерод, кислород, азот, сера, натрий и другие. Прочие же элементы периодической таблицы, обнаруженные в тканях живых организмов, полагали случайными примесями, не принимающими участие в жизнедеятельности клеток и организма в целом.

Совершенствование технологий и появление чувствительных методик определения малых количеств элементов позволили не только установить их значимость и физиологическое назначение, но и стремительно накопить данные о содержании микроэлементов в биообъектах.

Наибольшее распространение термин «микроэлемент» получил в XX столетии. Под ним подразумевается химический элемент, которого в живых организмах содержится очень мало – $n \cdot 10^{-3} - 10^{-12}\%$ [1, 21,79]. Несмотря на малую потребность в

этих минералах, их дефицит приводит к развитию заболеваний, называемых гипомикроэлементозами, или эндемическими болезнями.

Специфические клинические признаки зависят от недостатка в организме того или элемента, вызвавшего появление патологии. В целом, при гипомикроэлементозах у животных снижаются продуктивность, общая резистентность, повышается уровень яловости среди маточного поголовья, также возрастает восприимчивость к различным инфекциям и инвазиям [1,2,5,16,19,21,23,36,37,40,41,43,45,51,59,60,78,88,90,98,102,149,194]. Тяжелее всего эндемические заболевания переносит растущий организм [64,74,76,81,83]. Микроэлементы в данном случае представляются в качестве материалов, необходимых для построения новых клеток и тканей. Молодняк отстает в росте и развитии, иногда дефицит микроэлементов может привести и к его гибели [11,88,90,104,110,111].

Гипомикроэлементозы не всегда протекают остро с ярко выраженной клинической картиной. Довольно часто у животных, в районах с недостатком микроэлементов, болезнь характеризуется хроническим течением, проявляющимся незначительным общим недомоганием, вялостью и снижением продуктивности [16,19,21,43,60,78,88,90,111,194]. Недостаточное получение продукции от животного влечет за собой экономические потери, что наносит урон животноводству.

До открытия роли минеральных веществ в физиологии животных на протяжении многих лет животноводы степных, полупустынных и пустынных районов не могли установить причину возникновения у овец так называемой «белянги». Сейчас данная патология носит название энзоотическая атаксия или параплегия [1,5]. Пастухи заметили, что при выпасе отар вблизи колодцев, где есть сочная зеленая трава, у поголовья развивается недуг. Шерсть овец теряет блеск, буреет, становится сухой и ломкой, ягнята сильно слабеют, еле переставляют ноги, шатаются. Однако, если в качестве пастбища для скота были выбраны засушливые

места, где произрастает полынь и верблюжья колючка, то у поголовья не наблюдается патологических отклонений [59,60,78,79,148].

Установить причину возникновения недуга удалось только несколько десятков лет назад. Оказалось, что в сочной траве медь содержится в незначительном количестве. Животные болеют, если на пастбищах отсутствуют полынь и верблюжья колючка, в которых этот микроэлемент имеется в достаточном количестве.

Содержание меди в организме животных незначительно [5,39,52]. Однако она как в чистом виде, так и в соединениях имеет огромное значение для живых организмов. В настоящее время установлено [5,74], что она входит в состав свыше 30 видов белков и ферментов и содержится практически во всех типах тканей. Самые высокие концентрации меди обнаружены в крови, печени, почках и мозговом веществе животных [1,2,5,57]. В литературе [1,2,5,14,18,20,21,34,41,56] имеются сведения о том, что на количество этого элемента влияет упитанность: чем она выше, тем больше уровень меди в органах и тканях животного. Некоторые авторы [5,40,41,42,85] также отмечают, что запасы меди в печени с возрастом сокращаются. У молодняка ее больше в 6–10 раз, чем у взрослого поголовья. У самок во время беременности значительно возрастает концентрация меди в крови, откуда она поступает к плоду и накапливается в его печени. После рождения запас постепенно расходуется, что объясняет различный уровень содержания металла в разных возрастных группах [182,184].

В процессе жизнедеятельности медь интенсивно выводится из организма, главным образом через желудочно-кишечный тракт, нежели через кожу с потом или посредством мочевыделительной системы. В основном всасывание происходит в желудке и тонком отделе кишечника благодаря присутствию в слизистой оболочке их стенок особого низкомолекулярного белка – металлотионеина, отличающегося высоким содержанием цистеина и способностью связывать тяжелые металлы [5,15,97]. При поступлении в общий кровоток она связывается с транскупреином – высокоаффинным переносчиком меди, находящимся в плазме и участвующим в ее

первоначальном распределении по всему организму. Кроме того, медь может вступать в соединения с альбумином и некоторыми аминокислотами [48,97], например, гистидином, глутамином и треонином, и в таком виде поглощается печенью. В гепатоцитах медь образует соединения с церулоплазмином и компонентами желчи и в комплексе с ними возвращается в кровь.

Первостепенная функция меди в животном организме заключается в участии в процессах кроветворения, поскольку в этом она не может быть заменена другим микроэлементом [2,13,18,21,65]. Благодаря ей железо, поступающее в организм животных, переходит в органически связанную форму, в которой возможен синтез гемоглобина. Кроме того, она служит переносчиком железа в кроветворный красный мозг и стимулирует созревание ретикулоцитов, то есть незрелых эритроцитов. Таким образом, при недостатке меди железо не может полноценно усваиваться животным организмом и выполнять предназначенную физиологическую функцию [1,2,20,21,23,30,37,38,39,60,62,68,128,129,187].

Данный микроэлемент способен пребывать в двух степенях окисления, поэтому входит в состав электронпереносящих белковых молекул, тем самым принимая участие в процессе окисления органических веществ молекулярным кислородом. Большинство медьсодержащих окислительных ферментов стимулируют энергию дыхания, а также белковые и углеводные обменные процессы. Одним из таких ферментов является цитохромоксидаза, которая вступает в процесс тканевого дыхания на его финальном этапе, осуществляя перенос электронов цитохрома на кислород [68,113]. В соединении с церулоплазмином этот микроэлемент принимает участие в окислении полиаминов в сыворотке крови животных.

В составе фермента лизилоксидазы медь участвует в образовании поперечных связей в молекулах коллагена, тем самым придавая белку стабильность. Коллаген является основой соединительной ткани, из которой состоят сухожилия и хрящи. В комплексе с эластином белок-коллаген формирует объемную сеть волокон,

придающих соединительнотканым структурам прочность. Эластин входит в состав волокон, выстилающих внутренний слой кровеносных сосудов, то есть образует их каркас [1,2,21,23,35,37,38,39,40,41,42,43,44,45,52,53,59,60,78,113,136].

Медь обладает противовоспалительным свойством, взаимодействуя с аскорбиновой кислотой, она препятствует внедрению в организм патогенных микроорганизмов. Установлено, что при инфекционных заболеваниях концентрация веществ, в состав которых входит этот микроэлемент, резко возрастает [78,123,125,126,136].

Роль меди в нормализации деятельности эндокринной системы заключается в усилении выработки гормонов гипофиза. Нормальная пигментация волосяного покрова также невозможна без участия этого металла, поскольку он имеет большое значение в процессе синтеза пигмента миелина [1,2,59,60,78,126,128,133,136]. Кроме того, медь способствует полноценному метаболизму сердечной мышцы, важна для физиологически нормальной работы механизма сокращения мышечных тканей и принимает участие в передаче нервных импульсов.

Дефицит меди в организме сопровождается снижением уровня фосфорного и железного обмена, развитием анемии, что объясняется неполноценным усвоением железа, даже при его нормальном поступлении с кормом [40,41,42,59,60,136,138]. В результате нарушается синтез гемоглобина и эритроцитов. Поскольку этот металл входит в состав миелина, его недостаток приводит к обесцвечиванию и грубости волосяного покрова. Также поражается кожа, нарушаются обменные процессы в костной ткани, вследствие чего они становятся хрупкими и ломкими, возможно и искривление конечностей [1,16,20,21,23,36,37,51,53,59,60,64,69,70,78,79,123,124,136].

У беременных животных нарушаются процессы формирования плода, повышается число мертворожденных и нежизнеспособных особей [81,136]. Распространены случаи возникновения пороков сердца и атрофии сердечной мышцы. Нарушения со стороны нервной системы проявляются шаткостью походки,

судорожными подергиваниями головы и ног, а также потерей координации движений, иногда возникают параличи конечностей.

У сельскохозяйственных животных снижаются уровень продуктивности, живая масса тела и репродуктивная функция [20,45,51,64,164].

Кобальт, как и медь, разносторонне воздействует на организм животных и выполняет множество функций [1,2,5,12,21,65,83]. Он относится к числу облигатных микроэлементов, и его дефицит в кормах влечет за собой появление серьезных метаболических отклонений.

Основные запасы кобальта сосредоточены в селезенке, печени и почках. Также он входит в состав тканей поджелудочной, щитовидной и зубной желез. Около 80 % этого металла выделяется из организма через желудочно-кишечный тракт с каловыми массами, меньшая часть выводится с мочой [5,30,44,52,102,150,178].

Биологическое значение кобальта для гемопозза очень велико, его влияние проявляется увеличением количества красной крови [35,128,197,198,199]. Этот микроэлемент выступает в качестве биокатализатора, благодаря которому ускоряется превращение депонированного железа в составную часть гемоглобина. Он регулирует образование гема из протопорфирина и железа, другими словами, способствует включению иона железа в состав молекулы гемоглобина [5,35,59,128]. Кобальт оказывает стимулирующее действие на выработку ретикулоцитов и процесс созревания нормобластов до зрелых форм эритроцитов с последующим их включением в циркулирующую кровь, что снижает риск развития малокровия.

Кобальт в животном организме может находиться в различных состояниях. В одиночной концентрации, в составе жизненно необходимого витамина В₁₂, или же в составе сложных органических биоконплексов (БАВ). Кобальт связывается в организме с различными фракциями белков и входит в их состав (альбумины, глобулины, фибрин), а также с белками крови, плаценты, молока, с различными типами тканей и межтканевого вещества [1,2,40,41,42,51].

Основное депо кумулятивных процессов и биотрансформации (сложные превращения кобальта под действием ферментов среды организма и связывание с последующей фиксацией с белками крови, затем превращаясь в аминокислоты) для данного минерального элемента – это печень. Здесь фиксируется около 40% от общей концентрации кобальта, поступившего в животный организм.

Кобальт, как было сказано выше, входит в состав важного для организма витамина В₁₂ – цианкобаламина. В данном биологическом соединении кобальт выполняет ряд важных функций [5,21,59,140,178]. Основная из них – кровеносная. Кобальт способствует усилению эритропоэза кровяных клеток, повышению градиента концентрации гемоглобина в эритроцитах. Также функции печени и тонус скелетной мускулатуры. Кобальт в составе данного витамина участвует в биосинтезе различных гормонов и ферментов, которые необходимы для функционирования щитовидной железы. Кроме того, повышает усвоение железа, что также способствует усилению кроветворной способности органов.

Достаточное поступление с пищей витамина В₁₂ благоприятно отражается на функциональном состоянии печени и регенерационных процессах нервных волокон [12,16, 21,37,65,140,163]. Этот витамин считается биологическим активатором свертывающей системы крови, белкового и углеводного обменов, благодаря чему при атеросклерозе сокращает уровень содержания холестерина в крови и повышает лецитинхолестериновый индекс.

Существенный вклад соли кобальта вносят в деятельность пищеварительной системы и имеют особую значимость для развития микрофлоры преджелудков жвачных животных [74,77,78,85,140,150]. В физиологии пищеварения полигастричных животных важны симбиотические микроорганизмы, населяющие рубец и синтезирующие в нем ряд витаминов группы В, фолиевую кислоту и другие соединения. Кроме того, этот металл оказывает угнетающее действие на жизнеспособность ряда патогенных микробов, локализирующихся в желудочно-

кишечном тракте. Достаточное поступление кобальта способствует полноценному усвоению ретинола, токоферола и аскорбиновой кислоты.

Исследованиями [8,12,21,77,78,85] установлена эффективность одновременного применения биотина и кобальта при терапии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Такой витаминно-минеральный комплекс при внутримышечной инъекции улучшает общее состояние больных, устраняет кислую отрыжку, болевые ощущения в области желудка и рвоту.

В литературных источниках [1,2,35,128] имеются данные влияния кобальта на сердечнососудистую систему посредством изменения показателей гемодинамики. В ходе проведения опытов исследователи [35,76, 99] получили различные результаты, поскольку одни наблюдали сосудосуживающий эффект, а другие описывали вазодилатационный. Кобальт, обладая свойством снижения количества холестерина в крови и удаления его из просвета сосудов, тем самым препятствуя его отложению на их стенках в виде бляшек, оказывает антиатеросклеротическое воздействие.

Проводились исследования [14, 30, 49,53] по определению влияния кобальта на показатели кровяного давления. Учеными [57, 63,72]отмечается, что инъекция препаратов, содержащих соли кобальта, животным разных видов в ходе острых опытов вызывает у них гипотензивное состояние, которое ослабляется или полностью устраняется с помощью предварительного введения цистеина. Опытным путем была установлена эффективность применения хлористого кобальта для снижения кровяного давления при почечной гипертензии [71,72]. Подопытным кроликам ежедневно к основному рациону добавляли 0,11 мг препарата, что показывало положительные результаты.

Известно, что почки представляют собой депо для поступающего в организм кобальта, хотя только 20 % этого микроэлемента выделяется с мочой.

Кобальт регулирует обменные процессы, происходящие в организме животных. Многими исследователями [5, 40,41, 132, 200] обнаружено его действие на липидный и углеводный обмен, так как он участвует в синтезе инсулина.

Животным, участвующим в эксперименте, натошак подкожно вводили небольшие дозы кобальта, затем отбирали пробы крови и проводили биохимическое исследование. Результаты проведенных анализов [132] показывали снижение количества сахара в крови. Однако инъекционное введение больших доз солей кобальта, напротив, демонстрирует его гипергликемическое влияние.

Роль кобальта, как минерального элемента, в организме живых клеток очень велика. Он участвует в синтезе белковых молекул, как мономерного, так и полимерного ряда, также в образовании сложных и простых сахаров и жиров, которые вступают в биотрансформацию с различными органическими и неорганическими кислотами. Также участвует в процессах образования гормонов и гормоноподобных веществ с дальнейшим их трансметилированием.

Кобальт является важнейшим природным антиоксидантом, активатором ферментативных процессов и катализатором биохимических реакций в организме [5,12,65,72], а также регулятором образования и деятельности адреналина как важнейшего гормона организма.

Данный минеральный элемент и кобаламин способствуют обновлению клеток живого организма. Данные процессы протекают в сложной последовательности взаимодействия биологических систем. Вследствие этого начинается синтез нуклеиновых кислот, которые, в свою очередь, являются базисным основанием, содержащим в себе всю наследственную информацию организма (ДНК и РНК). Все это положительно влияет на рост и развитие живой клетки в целом.

Дефицит кобальта в организме отрицательно влияет на процесс метилирования транспортной РНК, угнетается синтез метионина и нуклеиновых кислот [1,2,5,83,84,136]. Замедление образования ДНК и РНК в клетках кроветворных органов приводит к задержке их роста, тогда в кровь поступают незрелые формы – мегалоциты и мегалобласты, легко поддающиеся разрушению.

Немаловажная роль отводится кобальту в регуляции функций нервной системы [83,84]. Благодаря участию цианокобаламина в синтезе белковых и

жировых структур защитного миелинового слоя нейронов снижается риск возникновения неврологических патологий. При недостатке кобальта и витамина В₁₂ в организме у животных наблюдаются агрессивное состояние, возбудимость, обострение неврологических заболеваний [105].

Нельзя не отметить иммуностимулирующее действие металла, заключающееся в том, что его органические соединения положительно влияют на иммунную систему через усиление фагоцитарной активности лейкоцитов. Кроме вышперечисленного кобальт стимулирует рост костной ткани, что имеет большое значение для молодых животных в момент их интенсивного роста [1, 5, 12, 16, 37, 59, 112]. Достаточное поступление микроэлемента улучшает состояние волосяного покрова и обеспечивает нормальную пигментацию волос.

Анализ биологических функций кобальта показал, что его роль в физиологии животных очень велика. Недостаток этого металла влечет за собой нарушение нормальной деятельности практически всех систем органов [1, 2, 5, 12, 16, 20, 21, 23, 36–45, 51, 52, 53, 59, 78, 136].

Эндемическое заболевание, возникающее в результате дефицита кобальта, называется аacobальтоз. У представителей жвачных видов животных наблюдается качественное изменение состава микрофлоры преджелудка, заключающееся в снижении численности симбионтов и увеличении количества патогенных микроорганизмов [78,136,150]. В итоге нарушается эндогенный синтез цианокобаламина, усвоение витаминов А, С, Е, что приводит к снижению их концентрации в органах и тканях. У животных замедляется процесс кроовообразования, нарушаются обменные процессы.

На начальном этапе болезнь проявляется извращением аппетита, животные начинают есть землю, проглатывать инородные предметы, что в большинстве случаев порождает воспаление желудка и двенадцатиперстной кишки [78,136,150]. Изменяется положение больных особей: при аacobальтозе животные стоят, сторбив спину и опустив голову, отмечают признаки общего угнетения, высокая

потливость, анемия и слезотечение. Слизистые оболочки рта, носа и конъюнктивы бледнеют.

Многие авторы [40, 41,150] в своих работах отмечают снижение реакции животных на внешнее раздражение, а также периодическое появление зубного скрежета.

В результате нарушения деятельности желудочно-кишечного тракта у больных регистрируется диарея, перемежающаяся с запорами, что приводит к стремительному истощению. Отмечается сухость и шелушение кожи, она теряет свою эластичность, появляются трещины. Волосяной покров взъерошен, волосы обесцвечиваются, становятся сухими и ломкими, легко выдергиваются из луковиц. Молодняк при дефиците кобальта отстает в росте и развитии.

Наиболее тяжелое течение болезни наблюдается у животных во второй половине беременности и после родов. В литературе [81,136,150,161] имеется много сведений о задержании последа при родах, появлении недоразвитого потомства у беременных животных, а также возрастание числа абортос среди самок. В период лактации сокращается количество выделяемого молочной железой молока вплоть до полного прекращения [78,136,150].

Острое течение при усугублении болезни может вызвать гибель больного организма через 2–3 месяца после появления первых симптомов.

1.3. Токсичность меди и кобальта

Значительная биологическая роль меди и кобальта объясняет их незаменимость для физиологически нормального течения многих процессов жизнедеятельности. Тем не менее, избыточное поступление в организм этих металлов, как и их дефицит, приводят к негативным последствиям [136]. Отравление происходит вследствие их участия в метаболических процессах в составе определенных органических и биоактивных соединений [12, 30, 37]. Оставшиеся излишки меди и кобальта, не связанные в комплекс с другими веществами,

становятся токсичными и оседают в различных тканях живого организма [80,87]. Кроме того, каждый из них является антагонистом для других элементов. Таким образом, медь составляет конкуренцию цинку за всасывание в кишечнике, и ее избыток подавляюще действует на усвоение цинка.

Кобальт и медь относятся к числу «тяжелых металлов», поскольку имеют атомную массу более 20 и плотность свыше 8000 кг/м³ [103,130]. Все соединения тяжелых металлов и их солей в той или иной степени ядовиты для живых организмов, поэтому высокие концентрации микроэлементов вызывают у животных интоксикации [78,150].

В соответствии с ГОСТ 17.4.1.02-83 все микроэлементы распределяются на классы опасности для живых организмов. В основе данной классификации лежит степень токсического воздействия, согласно ей медь и кобальт относятся к микроэлементам второго класса опасности, то есть являются умеренно опасными веществами [11,21,93].

Пагубное влияние на жизнедеятельность растений и животных оказывают лишь высокие концентрации тяжелых металлов, при их физиологически нормальном поступлении они благоприятствуют естественному течению жизненно важных процессов [1, 5, 12, 21,136].

В последнее время в литературных источниках [11, 93] наблюдается тенденция к рассмотрению микроэлементов как веществ, вызывающих интоксикацию живых организмов. Весьма вероятно, что подобное смещение вектора исследований связано с неблагоприятной экологической ситуацией в современном мире.

Организм животных обладает эффективными механизмами регулирования химических элементов в рационе. Во время питания они отдают предпочтение кормам, содержащим вещества, в которых имеется потребность [45, 59]. Именно этим обусловлено извращение аппетита при алиментарных гипомикроэлементозах: животное, поедая несвойственную для своего вида пищу, пытается найти требуемый организму элемент.

Повышенное содержание в организме животных меди и кобальта встречается очень редко и в большинстве случаев обосновано неблагоприятной экологической обстановкой региона, а также погрешностями в дозировании содержащих минерал препаратов, кормовых добавок и комплексов [97, 99].

Острое отравление медью характеризуется общей слабостью, тахикардией, нарушением дыхания, шаткостью походки, появлением рвоты, иногда с примесями крови, поскольку резкое увеличение концентрации металла приводит к кровотечениям. Цвет кала становится черным, наблюдаются расстройства пищеварения в виде диареи. Изменяется пигментация кожного покрова и видимых слизистых оболочек, при переизбытке меди они приобретают желтоватый оттенок. Кроме того, регистрируют усиление жажды и повышение общей температуры тела [60,78,136,150].

При чрезмерном поступлении в организм меди в основном поражаются органы, в которых произошло ее наибольшее накопление [1, 67, 88, 98]. В результате этого возможно развитие токсической гепатопатии с печеночной недостаточностью и анемией. При чрезмерном накоплении в мозге отмечают появление судорог, животные могут впадать в коллапс.

Избыток меди в организме оказывает также нефротоксическое действие, проявляющееся острой почечной недостаточностью, сопровождающейся анурией, уремией и значительным снижением уровня кровяного давления [35,78,136,150].

Патологически высокий уровень содержания меди в организме благоприятствует прилипанию холестерина к эндотелию кровеносных сосудов, что способствует развитию атеросклероза и тромбоза сосудов, тогда как физиологически нормальное ее содержание дает противоположный эффект.

В ходе исследований [30, 62, 102] ученые обнаружили, что у людей с высоким уровнем меди в организме чаще бывает повышенная концентрация окисленного ЛНП-холестерина. Позднее другие исследователи [42, 43, 44, 52, 112] подтвердили,

что большое количество меди в организме, особенно при дефиците цинка, связано с повышением риска развития коронарной болезни сердца.

Хроническое отравление медью и ее различными соединениями сопровождается функциональными расстройствами деятельности нервной системы, почек и печени, поскольку в этих органах происходит кумуляция микроэлемента. При переизбытке этого металла у животных наблюдается появление эрозий и язв на носовой перегородке, а также повреждение кожного покрова из-за аллергической реакции организма [5,112,136,150].

Токсическое воздействие меди на организм, главным образом, обусловлено тем, что при изменении степени окисления она способна отдавать и принимать одиночные электроны, тем самым ускоряя синтез реакционно-способных ионов-радикалов, например гидроксильного радикала, имеющего очень короткий период полураспада, равный 9–10 секундам [63,74,88,115]. Данный вид ионов представляет большую опасность для организма, поскольку они могут нарушать структуру практически всех органических макромолекул. Воздействуя на нуклеиновые кислоты, они провоцируют появление мутаций. При взаимодействии с липидами происходит перекисное окисление жиров [122]. Данное патологическое состояние, при котором происходит увеличение содержания свободных реакционно-способных радикалов, в зарубежных литературных источниках называется окислительным стрессом [156, 158, 160]. Вступая в соединение с медью, ферменты используют эту ее каталитическую активность, поэтому отравляющее действие на организм оказывают только несвязанные ионы.

В большом количестве медь представляет угрозу и для растительных организмов. Интоксикация медными хелатами при избыточном их поступлении или удержании в растительном организме проявляется симптомами отравления (хлороз). Оно проявляется образованием и появлением на пристебельных и нижних листьях темно-коричневых пятен, но при этом у молодых листьев симптоматически не

проявляется отравление. В дальнейшем хлороз прогрессирует, и листья опадают [24,25].

Кобальт, как и медь, фитотоксичен. Избыток соединений данного минерального элемента блокирует передачу в зоне окончаний эндоплазматического ретикулума корневых клеток и хромов, что приводит к подавлению процесса вегетации [24, 25, 120].

В растительном организме при чрезмерном поступлении этого микроэлемента нарушения могут проявляться угнетением витамина В₁₂, что приводит к появлению недоразвитых цветов. Это может стать причиной ухудшения плодоношения вплоть до полного его отсутствия. Семена растений, испытывающих избыток кобальта, как правило, не дают всходов [56].

Высокий уровень содержания этого тяжелого металла в растениях может привести к интоксикации у животных [25, 59]. Имеются сведения [100,112,120,143,144], что предельно допустимая концентрация микроэлемента в пастбищных травах и других видах корма не должна превышать 60 мг/ кг сухой массы.

Кобальт при ненормально высоком уровне поступления в животный организм также оказывает на него токсическое действие. Отрицательное влияние кобальта и его соединений имеет прямую зависимость от химических и физических свойств этих веществ. К таковым можно отнести электронную структуру, соотношение заряда и размера молекулы и кинетику, а также способ проникновения в организм [113,114]. Основное поступление кобальта происходит алиментарным путем, в меньшей степени он поступает через кожу, дыхательные пути или как составная часть различных биоматериалов [1,2,60].

По литературным данным [129,143], степень выраженности токсического эффекта этого микроэлемента зависит от состояния белкового обмена. Результаты исследований [35,128] показали, что белки плазмы крови связывают ионы

свободного кобальта, а это при их недостатке провоцирует развитие нейротоксических эффектов.

Российскими учеными [42, 62] доказано, что применение антиоксидантов снижает негативное воздействие кобальта на организм. Отсюда можно сделать вывод, что токсические эффекты этого металла обусловлены увеличением количества активных форм кислорода. В итоге происходит переокисление белков и жиров, разрушаются нуклеиновые кислоты, и подавляется система восстановления дезоксирибонуклеиновой кислоты.

В медицине первые данные о проявлении кобальтом токсических эффектов появились в 1883 году, однако небольшие его концентрации зачастую применяют во время лечения интоксикаций, вызываемых цианидами.

Патофизиологическое воздействие кобальта на живые организмы, как и физиологические эффекты, весьма разносторонне. В современной литературе [1,2,4,8,19,20,36,60] имеется большое количество сведений об отрицательном влиянии чрезмерного количества микроэлемента на состояние миокарда и обменные процессы липидов и углеводов, кроме того, его избыток угнетающе воздействует на функциональное состояние щитовидной железы.

В прошлом столетии медицинскими работниками была выявлена зависимость между развитием преимущественно у мужчин кардиомиопатии и высокими концентрациями кобальта в организме [129]. Была установлена и причина возникновения токсичных доз этого элемента. В 1960-е годы в отдельных странах производители пивных напитков добавляли в продукт кобальт в количестве 1,2–1,5 мг/л с целью улучшения пенообразования [129]. Это послужило началом для появления у людей патологий сердца и других тяжелых заболеваний вплоть до летальных исходов.

Данные современной медицины [135] свидетельствуют о способности высоких доз кобальта провоцировать образования опухолей различного характера. Агентство по исследованию рака Международной Организации Здравоохранения

(IARC) внесло этот микроэлемент в список канцерогенных агентов, тем не менее, его комплексные соединения с другими химическими элементами применяются в качестве противоопухолевых средств [105,135].

В дополнение к вышеперечисленным данным некоторые авторы [35,128] сообщают о проявлении кобальтом эпилептогенного действия и способности изменять основные параметры системной гемодинамики. Большие дозы вводимых кобальтсодержащих препаратов демонстрировали вазоконстрикционный эффект, однако в незначительной дозировке микроэлемент снижает гипертензивное действие адреналина.

Кобальт обладает и нефротоксическими свойствами. Этот факт был доказан путем экспериментальных работ. В живой организм вводили разовую дозу вещества – хлорида кобальта – в повышенной концентрации и наблюдали за его биотрансформацией и кумулятивными процессами в организме. Было доказано, что наивысшая концентрация данного минерального соединения сохраняется в организме на протяжении четырех суток в тканях почек, тем самым подчеркивая исключительную способность почек к кумуляции кобальта в организме [179]. Кроме того, в силу особенностей анатомического строения и выполняемых физиологических функций почки обладают высоким уровнем кровоснабжения, что обуславливает постоянный контакт почечного эндотелия и клеток интерстициального слоя с токсическими соединениями и их метаболитами.

Избыточное поступление в организм животных кобальта приводит к патологии щитовидной железы в результате нарушения процесса всасывания йода. У больных развивается гиперплазия железы, эндемический зоб и гипотиреоз, характеризующийся недостаточной выработкой гормонов тироксина и трийодтиронина. При этом снижаются температура тела и интенсивность обменных процессов, появляется отечность, замедляется пульс.

Высокие концентрации кобальта способствуют активному продуцированию кроветворными органами эритроцитов и гемоглобина с последующим их выходом в

общий кровоток [128,135]. В результате увеличения численности кровяных клеток происходит повышение плотности крови, что может послужить причиной тромбозов сосудов.

Кобальтовая интоксикация может спровоцировать появление на кожном покрове аллергических реакций в виде покраснения, а также дерматитов. Высокий уровень кобальта в организме проявляется поражением органов дыхания, нервной системы и слухового нерва [191,192].

На основе обобщения данных, а также экспериментальных работ была установлена средняя летальная доза для живого организма. Она составляет 2530 мг/кг [191,193].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования по диссертации выполняли с 2020 по 2022 г. в лаборатории кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева», а также на базе совместной научно-исследовательской лаборатории фундаментальных и прикладных проблем биогеохимии и ветеринарной медицины Волго-Каспийского региона Астраханского государственного университета им. В.Н. Татищева и Института геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского.

Образцы экосистемы (почвы, растений, воды и кормов) были собраны на пастбищах Астраханской области. Средние пробы почвы, воды, растений, кормов и различных органов были взяты для микроэлементного анализа в соответствии с общепринятыми методиками [77, 80]. Образцы почвы с пастбищ отбирали с разной глубины с помощью пробоотборного шнека. Было собрано по шесть образцов с каждого из выбранных пастбищ и проведена репрезентативная выборка.

Пробы кормовых растений с целью исследования их на содержание минеральных элементов были отобраны нами с пастбищ во время выпаса крупного рогатого скота в трех различных повторностях [80].

Содержание микроэлементов в отобранных образцах определяли методом атомной абсорбционной спектрофотометрии на спектрофотометре СНИТАНИ 180-50 (Япония).

Объектом нашего исследования служили инъекционные формы нанопорошков меди и кобальта. Экспериментальные работы проводили на беспородных белых крысах и морских свинках с целью определения фармакологических и токсикологических характеристик препаратов в разных дозировках.

Производственный опыт проведен на крупном рогатом скоте черно-пестрой породы в личном подсобном хозяйстве «ТЛЕК» Приволжского района Астраханской области.

Для проведения серии опытов были сформированы 2 группы коров черно-пестрой породы, по 10 голов в каждой. Изучаемые соединения вводили в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела, однократно внутримышечно. Кровь брали на 5-е и 10-е сутки. Объем вводимого соединения составлял до 10 мл.

Токсикологическую характеристику инъекционных форм нанопорошков на основе меди и кобальта исследовали по показателям острой и хронической токсичности, по результатам кожно-резорбтивной пробы и аллергической реакции для лабораторных животных.

Острую токсичность определяли по методу Кербера. Этот метод включает в себя введение разных доз испытуемого вещества различным группам животных. Одной группе животных вводят носитель, в котором растворены наночастицы металлов. Другим группам животных вводят разные дозы испытуемого вещества. Животные в каждой группе получают определенные дозы, при этом увеличение дозы происходит от группы к группе. Ключевыми параметрами этого метода являются среднее значение интервала числа смертей, зарегистрированных в каждой группе, и разница доз между группами [3,9,10,78,80,94,95,96].

LD_{50} рассчитывается с использованием арифметического метода Кербера, который выглядит следующим образом:

$$LD_{50} = LD_{100} - \sum \left(\frac{a \times b}{n} \right),$$

где LD_{50} = средняя смертельная доза; LD_{100} = наименьшая доза, необходимая для 100%-го уничтожения; a = разница доз; b = средняя смертность; n = количество животных.

Клинический статус лабораторных животных при острой токсичности при подкожном и внутривенном введении данных препаратов оценивали путем визуального контроля клинических проявлений интоксикации. Они выражаются в интенсивности и характере двигательной и мышечной активности, частоте дыхательных движений, судорожных явлениях и параличе мышц,

скоординированности движений, реакции на звуковые и световые раздражители, состоянии шерстного покрова и слизистых оболочек, наличии или отсутствии аппетита у крыс.

При изучении хронической токсичности изучаемое соединение лабораторным животным вводили ежедневно, 1 раз в день в течение 14 суток в дозе 3 мг/кг подкожно и внутрижелудочно. Хроническую токсичность нанопрепаратов меди и кобальта исследовали путем регистрации отклонений в поведении белых крыс от нормы, а также по средствам кожно-резорбтивной пробы на введения минерального комплекса препаратов и оценки показателей аппликационных кожных тестов по Паттерсону [27, 94, 95, 96, 121].

Поведение белых крыс после введения им изучаемых препаратов мы исследовали по средствам проведения теста «Открытое поле» и «Возвышенный крестообразный лабиринт».

Для изучения изменений ПОЛ и АОС белых крыс под влиянием инъекционных форм нанопрепаратов меди и кобальта изучали динамику показателей свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты организма – диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, активность фермента каталазы.

Определение диеновых конъюгатов в сыворотке крови осуществляли спектрометрическим методом. Перекисное окисление липидов в организме животных сопровождается перегруппировкой двойных связей и возникновением системы сопряженных диеновых структур.

Диеновые конъюгаты исследовали с помощью спектрофотометра при уровне поглощения ультрафиолета в диапазоне длины волны 232–234 нм.

Содержание МДА определяли тиобарбитуровым методом в сыворотке крови и гомогенате тканей внутренних органов.

Определение содержания малонового диальдегида в исследуемых образцах крови проводили методом нагревания с тиобарбитуровой кислотой [26,131].

Сущность метода заключается в образовании триметинового комплекса (окрашивается в розовый цвет), имеющего максимальное поглощение при 530–532 нм (рисунок 1).

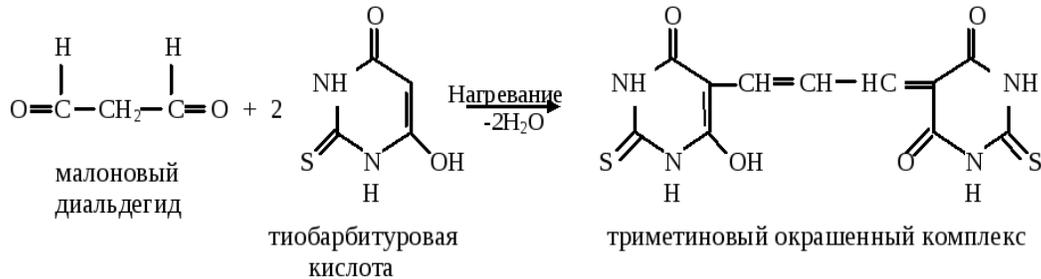


Рисунок 1 – Схема реакции между МДА и ТБК с образованием триметинового комплекса

Оксидантный стресс или образование активных форм кислорода может приводить к нарушению деятельности ферментов антиоксидантной защиты [28,33]. Одним из таких ключевых ферментов в организме животного является каталаза.

Антиоксидантную обеспеченность организма оценивали по активности фермента каталазы в сыворотке крови и гомогенатах тканей.

Активность каталазы исследовали с помощью спектрофотометрического способа при нагревании в водяной бане. Каталаза с высокой степенью эффективности разлагает пероксид водорода на воду и молекулярный кислород [82]. В результате реакции образовывается стойкий окрашенный комплекс с максимальным поглощением длины волны 410 нм.

Также нами было изучено влияние инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на биохимические и морфологические показатели белых крыс при однократном введении им соединений в дозах 2 и 3 мг/кг и от 10–50 мг/кг массы животного.

Определение гематологических показателей проводили на Mindray BC-2800 Vet (Китай), биохимических – на MNCHIP Pointcare V3 (Китай), рисунки 2, 3.



Рисунок 2 – Гематологический анализатор Mindray BC-2800 Vet



Рисунок 3 – Биохимический анализатор MNCHIP Pointcare V3

Гематологический анализатор Mindray BC-2800 Vet – современный лабораторный анализатор, предназначенный для автоматического подсчета форменных элементов крови животных. Данный прибор подходит для работы с цельной кровью или сывороткой крови более 13 видов животных (крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, собаки, кошки, обезьяны, крысы, мыши, лошади и др.).

Биохимический анализатор MNCHIP Pointcare V3 позволяет определить более 19 биохимических показателей крови животных.

Тушки крыс подвергали патологоанатомическому вскрытию и последующему патологоанатомическому исследованию органов и систем с экстирпацией и взвешиванием печени, почек и селезенки для определения их абсолютной и относительной массы. Проводили также гистологическое исследование печени индивидуально каждого животного.

Взвешивание осуществляли на электронных весах с точностью до 0,001 г. При этом придерживались правил работы с патологоанатомическим материалом, избегали пересыхания органов, парные органы взвешивали вместе.

Цифровой материал подвергали статистической обработке с вычислением критерия Стьюдента на персональном компьютере с использованием стандартной программы вариационной статистики Microsoft Excel. Для оценки значимости различий использовали коэффициент Стьюдента, при критическом уровне значимости 0,05.

Экономическую эффективность применения инъекционных форм наносоединений меди и кобальта в экспериментах определяли по И.Н. Никитину с соавторами(с учетом действующих цен).

Схема исследований представлена на рисунке 4.

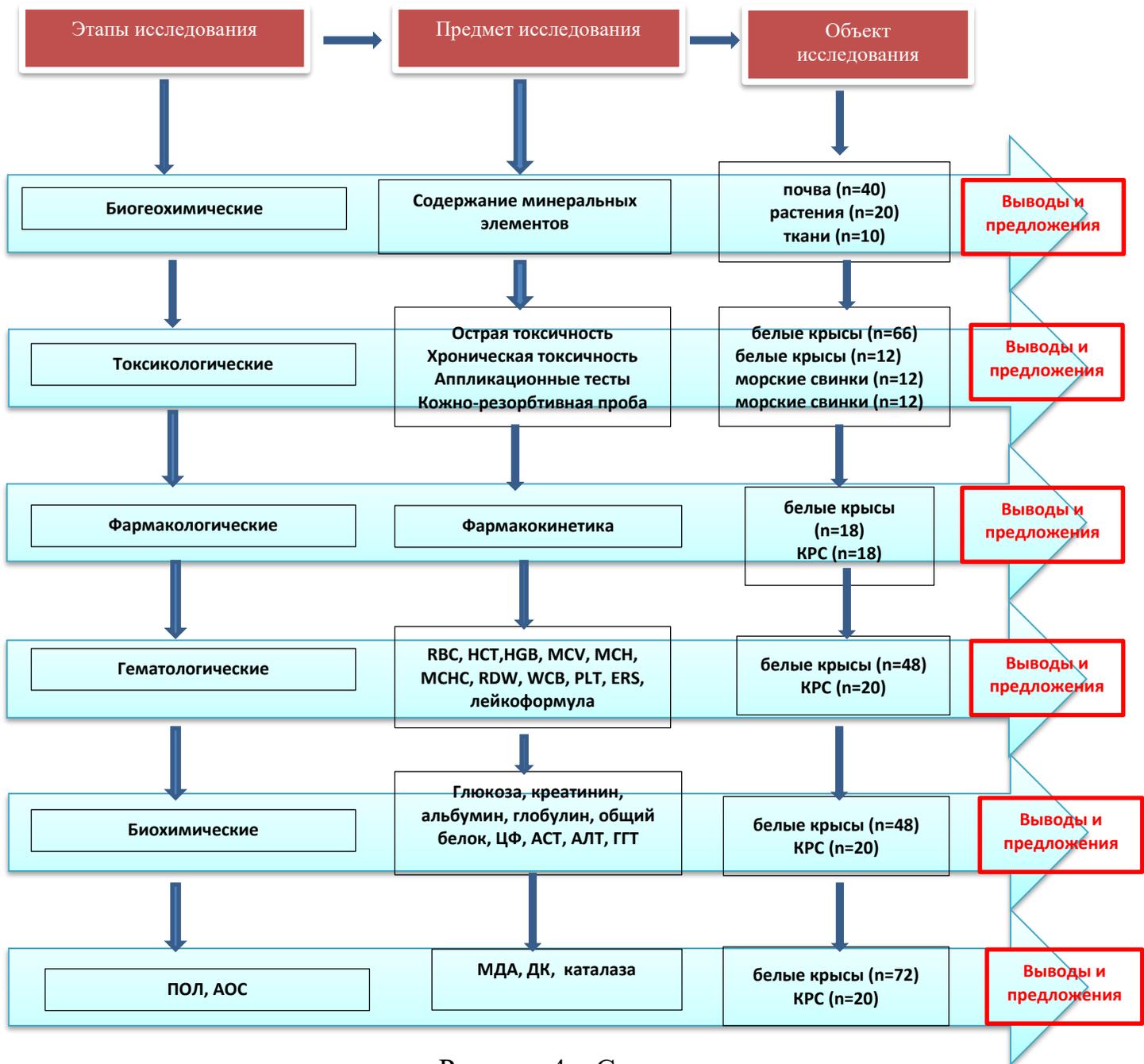


Рисунок 4 – Схема опыта

3 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Биогенная миграция микроэлементов в условиях Астраханской области

Для нормального течения физиологических процессов в организме животных, кроме питательных веществ, необходимо регулярное поступление витаминов, микро- и макроэлементов [1, 2,21, 44, 79]. Количественное содержание химических элементов, входящих в состав организмов, варьирует в широких пределах в зависимости от среды обитания, видовой принадлежности, возраста и ряда других причин [19, 21, 36, 37, 39, 40, 41]. Большинство минеральных элементов входит в состав белковых комплексов, ферментов, гормонов и ряда витаминов. Например, медь входит в состав многих окислительных ферментов, йод является составной частью гормонов щитовидной железы (тироксина), а кобальт – витамина В₁₂. Жизненно важные минеральные элементы (йод, кобальт, железо, цинк, селен, фтор и др.) участвуют в обмене веществ, влияют на основные функции организма – развитие, рост, размножение.

Важная роль микроэлементов проявляется в том случае, когда они поступают в биотических количествах, не превышающих предельную физиологическую концентрацию в организме [21,3 7]. В таких случаях они, поступая в организм животного в качестве питательных компонентов, не вызывают реакции сопротивления со стороны защитных барьеров, вступают в связь с соответствующими системами [68].

Недостаток единичных или комплекса минеральных элементов в почвах, воде, кормах считается главной причиной низкой продуктивности и болезней репродуктивной системы пастбищных животных [16, 37–45, 52, 60, 78, 136, 150]. Обязательным параметром ведения животноводства в современных интенсивных условиях является анализ микроэлементного профиля

определенной биогеохимической территории с целью сравнительной оценки микроэлементного статуса у различных пастбищных животных.

Доступность минеральных элементов находится в прямой зависимости от концентрации их в почве, а также характера почвы [100,112,120,144]. Например, таежно-лесная нечерноземная почва характеризуется повышенной кислотностью, недостатком в ней кальция, фосфора, калия, меди, бора, йода и достаточным или избыточным содержанием марганца, цинка, стронция. В почвах пойменных районов отмечается недостаток йода, меди, селена. Почвы сухостепной, пустынной и полупустынной зоны характеризуются нейтральной или щелочной реакцией и повышенным содержанием солей натрия, кальция, бора и сульфатов, недостатком меди, молибдена, цинка.

Рацион кормления напрямую связан с почвенным составом, растительным миром и сезоном года ареала обитания животных, что может также влиять на потребность в питательных веществах, в микроэлементах [21, 45, 59]. Однако корма не могут в полной мере обеспечить потребности организма животных в минеральных веществах [36, 41, 53, 85, 99, 119]. В результате этого развивается их дефицит, который сопровождается нарушениями функционирования всего организма, что наносит значительный экономический ущерб, складывающийся из снижения приростов живой массы, плодовитости. Следствием снижения резистентности и реактивности организма животных являются рост заболеваемости и падеж [40, 41, 42, 43, 44, 60, 64,78].

На практике дефицит железа, меди, селена, кобальта, цинка часто выявляется одновременно, что ведет к более тяжело протекающим процессам нарушения обмена веществ и недостаточной выраженности клинической картины [41]. Для ветеринарии весьма актуальной задачей является разработка комплексных высокоэффективных препаратов для одновременной профилактики состояний, вызванных дефицитом минералов, и лечения животных, больных гимикроэлементозами [137,139].

Предыдущие исследования [36, 37,38, 39,40, 41, 42, 43, 44, 52, 111,141,194] показали, что в почвах Астраханской области содержание минеральных элементов низкое. Это влияет на недостаток их в растениях и, в свою очередь, ведет к нарушению обменных процессов у животных, снижению продуктивности.

В ходе различных исследований нами было выявлено количественное содержание концентраций минеральных соединений селена, йода, кобальта, меди и других в почвах биогеохимических провинций Астраханской области (таблица 3).

Таблица 3 – Среднее содержание микроэлементов (Co, Se, I, Mn, Zn) в почвах и растениях Астраханской области, мг/кг

Минеральный элемент	Почва ($n = 40$)	Растение ($n = 20$)
Кобальт	$7,78 \pm 0,12$	$3,13 \pm 0,65$
Селен	$0,11 \pm 0,08$	$0,06 \pm 0,013$
Йод	$0,63 \pm 0,13$	$0,56 \pm 0,03$
Марганец	$157,74 \pm 5,98$	$41,76 \pm 6,03$
Цинк	$48,73 \pm 4,03$	$37,11 \pm 0,65$
Медь	$13,8 \pm 0,28$	$5,72 \pm 0,68$

Установлено, что содержание минеральных элементов в объектах окружающей среды колеблется. Среднее содержание кобальта в почве и растениях составило $7,78 \pm 0,12$ и $3,13 \pm 0,65$ мг/кг соответственно. Распространение кобальта в природе незначительно, однако роль его велика [5, 21, 65, 72].

Кобальт является одним из необходимых биодоступных минеральных элементов, значение которого как в растительном, так и в животном организме довольно велико. Кобальт входит в состав сложных соединений (белков,

нуклеиновых кислот, жиров, ферментов, гормонов), активизирует пластический и энергетический обмен, повышает уровень фотосинтезирующих веществ. Микроэлемент также входит в состав витамина В₁₂ [140], является сильнейшим природным антиоксидантом.

Содержание селена в почве находилось на уровне $0,11 \pm 0,08$ мг/кг. Среднее содержание селена в растениях составило $0,06 \pm 0,013$ мкг/г. Селен (Se) является важным питательным микроэлементом для людей и животных, но при приеме в чрезмерных количествах приводит к токсичности. Растения являются основным источником селена для животных, но его важность для растений все еще остается спорной [24, 25, 116, 117, 118, 172]. Тем не менее, Se в низких дозах защищает растения от различных абиотических стрессов, таких как холод, засуха, высыхание и металлический стресс [116, 117, 118]. У животных Se действует как антиоксидант и помогает в репродукции, иммунных реакциях и метаболизме гормонов щитовидной железы. Селен химически похож на серу, поэтому поглощается растениями через переносчиков серы, присутствующих внутри плазматической мембраны корня, метаболизируется путем ассимиляции серы и улетучивается в атмосферу [116, 117, 118, 168].

Содержание йода в почве и растениях составило $0,63 \pm 0,13$ и $0,56 \pm 0,03$ мг/кг соответственно. Распределение его между различными компонентами земных экосистем происходит при значительном участии микробиологических процессов [111]. С физиологической точки зрения предполагается, что поток йода между различными организмами является важным источником антиоксидантного потенциала, а также метаболической ценностью соединений, возникающих в результате реакции между аминокислотой и тирозином и йодом. С экологической точки зрения поток йода между различными слоями почвы, экологическими компартментами и организмами можно рассматривать как часть глобальной системы рассеивания энергии [40, 41, 42].

Содержание марганца в растениях было в 3,8 раза ниже, чем в почве. Установлено, что марганец (Mn) является важным элементом практически во всех живых организмах, где он может выполнять две разные функции: действовать как кофактор фермента или как металл с каталитической активностью в биологических системах [5,14,47]. У млекопитающих Mn действует как кофактор для различных ферментов, включая аргиназу, глутамин синтетазу, пируваткарбоксилазу и супероксиддисмутазу Mn (MnSOD). Однако в сухих, хорошо аэрированных и известковых почвах, а также в почвах, содержащих большое количество органических веществ, биодоступность Mn для растений снижается ниже уровня, необходимого для нормального роста растений.

Средняя концентрация цинка в компонентах наземной экосистемы (почве и растениях) была на уровне 37,11–48,73 мг/кг. Известно, что цинк – это микроэлемент, необходимый для всех живых организмов, играющий ключевую роль в росте, развитии и защите [167, 203]. В нашем исследовании установлено, что уровень цинка в почвах Астраханской области находится в пределах нормы [40, 52, 112].

Минеральные вещества непосредственно участвуют в защите растений и животных в качестве структурных компонентов и регуляторов метаболизма [24, 25]. Незаменимые микроэлементы влияют на физиологические функции растений и животных как напрямую, активируя ферменты, вырабатывающие защитные метаболиты, так и косвенно.

Нами также было изучено содержание некоторых микроэлементов в кормах, заготовленных на территории Астраханской области. В результате исследований установлен достаточно низкий уровень минеральных элементов в естественных кормах.

На количество микроэлементов в кормах могут влиять такие факторы, как их содержание в почве, физико-химические свойства почвы и виды

растительных организмов данного макрорегиона [24]. Ионы микроэлементов в основном абсорбируются на гидроксильных поверхностях оксидов или глинистых минералов. Повышенное содержание органических веществ почвы способствует снижению концентрации микроэлементов в почве за счет комплексообразования и адсорбции (таблица 4).

Таблица 4 – Концентрация микроэлементов (Co, Se и Cu) в кормах крупного рогатого скота в Астраханской области, мг/кг ($n = 10$; $M \pm m$)

Кормовой продукт	Микроэлемент		
	Co	Cu	Se
Сено люцерновое	0,49±0,007	9,8±1,08	0,10±0,006
Сено луговое	0,23±0,009	5,3±0,34	0,16±0,011
Житняк	0,47±0,011	4,6±0,28	0,09±0,006
Живокость полевая	0,10±0,007	4,7±0,29	0,12±0,023
Суданская трава	0,15±0,009	4,8±0,28	0,11±0,002
Овес песчаный	0,43±0,013	5,1±0,24	0,08±0,001
Ячмень – зерно	0,86±0,130	5,1±0,16	0,13±0,021
Отруби	0,23±0,008	10,8±0,99	0,11±0,032
Комбикорм	1,33±0,210	7,9±0,79	1,13±0,100

Повышенное содержание органических веществ почвы способствует снижению концентрации микроэлементов в почве за счет комплексообразования и адсорбции.

Ингредиенты комбикормов для животных, которые составляют полноценные кормовые продукты, получают из множества сырьевых материалов растительного и животного происхождения, а также при добавлении фармацевтических соединений.

Многие соединения металлов, соединения кальция, меди, марганца, магния и цинка, а также комплексы металлов с аминокислотами, вводятся в корма, чтобы покрыть потребности в питании сельскохозяйственных и домашних животных [45, 59]. Также широко используются различные побочные продукты промышленного производства металлов.

Установлено, что наибольшая концентрация селена, определена в тканях почек и печени ($0,74 \pm 0,018$ и $0,72 \pm 0,113$ мг/кг соответственно), а наименьшая – в мышцах и легких. В остальных изучаемых тканях концентрация микроэлемента была на уровне от $0,37 \pm 0,012$ до $0,53 \pm 0,028$ мг/кг (таблица 5).

Таблица 5 – Уровни некоторых микроэлементов в органах и тканях чернопестрой породы крупного рогатого скота в биогеохимических условиях Астраханской области, мг/ кг ($n = 10$; $M \pm m$)

Ткани организма	Se	Co	Cu	Zn	I
Кровь	$0,53 \pm 0,025$	$1,73 \pm 0,009$	$12,7 \pm 1,95$	$48,84 \pm 2,00$	$0,58 \pm 0,008$
Печень	$0,72 \pm 0,113$	$3,66 \pm 0,090$	$16,1 \pm 0,22$	$140,50 \pm 7,34$	$0,39 \pm 0,012$
Легкие	$0,10 \pm 0,066$	$1,14 \pm 0,053$	$24,3 \pm 0,19$	$137,85 \pm 4,03$	$0,47 \pm 0,009$
Почки	$0,74 \pm 0,018$	$1,98 \pm 0,013$	$13,9 \pm 0,05$	$100,95 \pm 11,94$	$0,49 \pm 0,020$
Стенка сычуга	$0,53 \pm 0,028$	$1,99 \pm 0,031$	$14,5 \pm 0,06$	$165,50 \pm 9,99$	$0,53 \pm 0,012$
Стенка тонкого кишечника	$0,37 \pm 0,012$	$1,47 \pm 0,054$	$20,1 \pm 0,05$	$81,98 \pm 6,33$	$0,54 \pm 0,019$
Мышцы	$0,09 \pm 0,006$	$0,08 \pm 0,003$	$5,9 \pm 0,32$	$101,45 \pm 3,96$	$0,09 \pm 0,002$
Селезенка	$0,41 \pm 0,016$	$2,03 \pm 0,186$	$14,8 \pm 1,06$	$48,98 \pm 2,16$	$0,16 \pm 0,037$

Установлено, что максимальное количество селена у крупного рогатого скота находится в почках, тогда как в мышцах он присутствует в наибольших суммарных количествах. Почки – это органы, в которых хранится наибольшее количество селена, за ними следует печень. Во время всасывания и распределения селена в организме большая его часть направляется в печень, которая считается депо микроэлемента, а в случае его избытка выводится с желчью [117,118,172].

По содержанию кобальта, все изучаемые ткани можно расположить в следующей последовательности (по возрастанию): мышцы > легкие > стенка тонкого кишечника > кровь > почки > стенка сычуга > селезенка > печень. Кобальт в организме жвачных животных необходим для микробного метаболизма рубца, для синтеза метана, ацетата и метионина. Он также является структурным компонентом витамина В₁₂, который действует как кофермент в энергетическом обмене [178]. В наших исследованиях установлено, что наибольшее содержание кобальта содержится в органах кроветворения (селезенке и печени).

В наибольшем количестве в организме находится цинк. Все изучаемые органы и ткани можно расположить в следующей последовательности по содержанию цинка (по увеличению): кровь > селезенка > стенка тонкого отдела кишечника > почки > мышцы > легкие > печень > стенка сычуга. Установлено [100,112,120,151], что в мире существует множество почв с дефицитом цинка, в результате чего пастбища и сельскохозяйственные культуры имеют низкое его содержание. У животных дефицит цинка выражается в снижении роста, поражении кожи, волос, шерсти и перьев, а также в нарушении процессов воспроизводства. Цинк в организме распространен повсеместно [6,100,112, 203]. Он служит компонентом многих ферментов, которые участвуют в транскрипции внутри- и межклеточных сигналов к аппарату транскрипции

клеток, переносчиков белков и др. Цинк играет важную роль в транспорте витамина А.

Наибольшая концентрация йода зафиксирована в крови ($0,58 \pm 0,008$ мг/кг), а наименьшая – в мышечной ткани ($0,09 \pm 0,002$ мг/кг). В остальных изучаемых органах содержание йода составляло от $0,16 \pm 0,037$ до $0,54 \pm 0,012$ мг/кг. Йод – это важный минерал, получаемый с кормом и необходимый для синтеза гормонов щитовидной железы. Известно, что от 70 до 90% поступающего с кормом йода всасывается непосредственно из рубца крупного рогатого скота [111]. В сычуге скорость секреции йодида примерно в 18 раз выше скорости абсорбции. Циркулирующий тироксин попадает в тонкий кишечник с желчью. Большая часть йодида, выделяемого сычугом, реабсорбируется в тонком и толстом кишечнике.

Таким образом, результаты исследования указывают на низкий уровень некоторых микроэлементов в экосистеме Астраханской области. В наибольшем количестве в почве и растениях содержится марганец и цинк, в наименьшем – селен. В кормах наибольшее содержание микроэлементов установлено в астрагале. Кроме того, низкий уровень микроэлементов был выявлен в органах и тканях крупного рогатого скота черно-пестрой породы.

3.2. Разработка инъекционной формы нанопорошков меди и кобальта

Соединения на основе наночастиц меди и кобальта были разработаны на кафедре ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева».

Для приготовления инъекционной формы лекарственного соединения ультрадисперсные порошки металлов в плоскодонной колбе смешивались с органическим растворителем (пропиленгликолем) с добавлением ПАВ – Tween80, в последующем раствор доводили дистиллированной водой до метки 100 мл.

Количество микроэлементов в 1 мл раствора: кобальт – 0,5 мг, медь – 1,0 мг. Во избежание появления агломератов наночастиц, после смешивания всех компонентов инъекционной формы, колбу с раствором помещали в ультразвуковую ванну на 20–30 мин.

Соединение на основе наночастиц меди представляет собой суспензию красно-оранжевого цвета, без запаха (рисунок 5).

Соединения на основе наночастиц кобальта представляет собой суспензию черного цвета, без запаха (рисунок 6).

Комплексное соединение на основе наночастиц кобальта и меди представляет собой суспензию черного цвета, без запаха (рисунок 7).

Лекарственная форма – стерильный раствор для внутримышечного введения.



Рисунок 5 – Соединение на основе наночастиц меди (опытный образец)

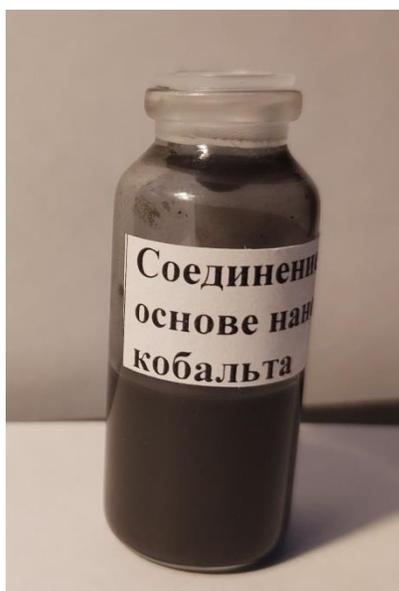


Рисунок 6 – Соединение на основе наночастиц кобальта (опытный образец)



Рисунок 7 – Соединение на основе наночастиц меди и кобальта (опытный образец)

3.3. Токсикологическая характеристика нанопорошков металлов

Территория Астраханской области является неблагоприятной биогеохимической провинцией по многим минеральным элементам [36–44, 52, 141, 147, 194], что является одной из главных причин широкого распространения гипомикроэлементозов [45, 59, 60, 136, 148]. Поэтому применение наноразмерных частиц минеральных элементов является перспективной и актуальной задачей ветеринарной медицины. Однако их токсикологическая характеристика до конца не изучена [4, 8, 18, 32, 66, 106, 166, 175].

Токсикологические исследования проводили на беспородных белых крысах массой 180–200 г.

Исследуемое соединение меди вводили в дозах 5 мг/кг (2-я группа животных), 10 мг/кг (3-я группа), 20 мг/кг (4-я группа), 40 мг/кг (5-я группа) и 50 мг/кг (6-я группа). Введение более высоких доз не представлялось возможным из-за достижения максимально вводимого объема соединения.

Исследуемое соединение кобальта вводили в дозах 5 мг/кг (2-я группа животных), 10 мг/кг (3-я группа), 25 мг/кг (4-я группа), 45 мг/кг (5-я группа) и 50 мг/кг (6-я группа). Введение более высоких доз не представлялось возможным из-за достижения максимально вводимого объема соединения.

Животным контрольной группы (1-я группа) вводили соответствующее количество растворителя (пропиленгликоль). Объем вводимого соединения не превышал 5 мл.

В таблице 6 представлены результаты клинических опытов по определению острой токсичности инъекционной формы минерального соединения на основе нанопорошка меди.

Нами было установлено, что введение минерального комплекса в инъекционной форме в дозе от 5 до 50 мг/кг не вызывало гибели животных. В

интервале вводимых доз 20–40 мг/кг наблюдались клинические признаки интоксикации, которые проходили самостоятельно в течение 2–3 ч.

После введения изучаемого соединения в дозах 5 и 10 мг/кг у белых крыс клинические проявления интоксикации отсутствовали. При увеличении доз до 20–50 мг/кг массы тела наблюдались беспокойство, затрудненное дыхание, тремор.

Таблица 6 – Острая токсичность инъекционной формы минерального комплекса на основе нанопорошка меди для белых крыс при подкожном и внутрижелудочном введениях

Доза, мг/кг	Общее количество животных, участвующих в опыте	Общее количество павших животных	Клинические проявления интоксикации
5	6	0	Отсутствуют
10	6	0	Отсутствуют
20	6	0	Беспокойство, возбуждение, снижение реакции на внешние раздражители
40	6	0	Заторможенная реакция, затрудненное дыхание
50	6	0	Заторможенная реакция, дыхательная активность снижена, мелкая дрожь в теле

Однако, по итогам проведенного эксперимента, нами не была установлена летальная доза соединения.

Введение раствора в максимально допустимом объеме не приводило к гибели животных. Кроме того, мы предполагаем, что наибольший

терапевтический эффект от исследуемого соединения будет наблюдаться при введении его в небольших дозах.

Результаты исследований токсикологических особенностей нанопорошка кобальта представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Острая токсичность инъекционной формы минерального комплекса на основе нанопорошка кобальта для белых крыс при подкожном и внутрижелудочном введениях

Доза, мг/кг	Общее количество животных, участвующих в опыте	Общее количество павших животных	Клинические проявления интоксикации
5	6	0	Отсутствуют
10	6	0	Беспокойство, возбуждение, снижение реакции на внешние раздражители
25	6	0	Беспокойство, возбуждение, снижение реакции на внешние раздражители
45	6	0	Заторможенная реакция, затрудненное дыхание
50	6	0	Заторможенная реакция, дыхательная активность снижена, мелкая дрожь в теле

Анализируя результаты исследований, представленные в таблице 7, было установлено, что при введении изучаемого соединения в дозе 5 мг/кг ответные реакции организма отсутствуют. При увеличении дозировки от 25 до 50 мг/кг

массы тела наблюдались беспокойство, возбуждение, снижение реакции на внешние раздражители.

Поведенческие реакции белых крыс мы изучали методом «Открытое поле» (рисунок 8).

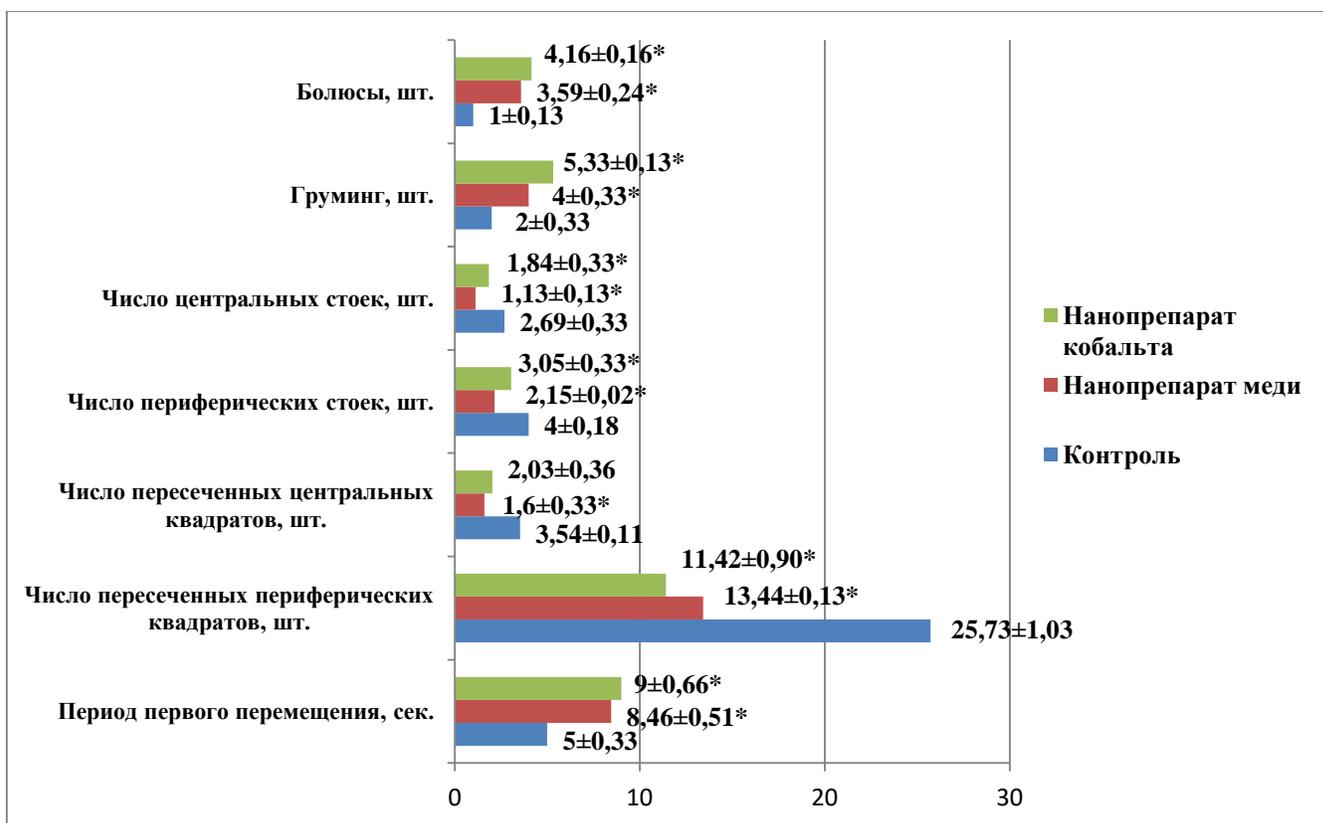


Рисунок 8– Белая крыса в установке «Открытое поле»

Каждую отдельную особь подвергали проверке, касающейся влияния испытуемых соединений на поведенческую активность. Данные исследования осуществляли в контрольное время по 10 раз не менее десяти минут за одну серию опытов. Количественный учет реализуемой поведенческой функции осуществляли каждые 15 см [80,121].

Нами было отмечено, что латентный период первого перемещения испытуемых крыс был недолгим – в среднем $5,0 \pm 0,33$ секунд (рисунок 9). После воздействия инъекционных форм наносоединений на основе хелатных соединений меди и кобальта в дозах 50 мг/кг изучаемый показатель повысился на 69,2 и 80% соответственно относительно контроля. Увеличение периода

первого перемещения животных говорит о торможении ответных реакций белых крыс после воздействия изучаемых соединений.



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 9 – Показатели ориентировочно-исследовательского поведения белых крыс в тесте «Открытое поле» после введения минерального комплекса на основе нанопорошка меди и кобальта в дозах 50 мг/кг ($n = 6$)

Установлено снижение числа пересеченных периферических и центральных квадратов после введения инъекционных форм наносоединений на основе меди и кобальта примерно в 2 раза. Исходное число периферических и центральных стоек составило $4,00 \pm 0,18$ и $2,69 \pm 0,33$ шт. соответственно.

После введения инъекционных форм наносоединений меди и кобальта искомые показатели понизились на 86% и 31% (число периферических стоек) и в 1,4 раза и 42,6 % (число центральных стоек).

Также возросло количество груминга животных в 2–2,5 раза относительно контроля. Ухаживающее поведение грызунов, помимо других биологических функций (например, очистки и терморегуляции), может быть вызвано пробуждающими переживаниями, что дает полезную информацию об эмоциональном состоянии животных. Количество болюсов возросло в 3–4 раза по сравнению с контролем.

Таким образом, анализируя полученные результаты по изменению поведения белых крыс в тесте «Открытое поле», можно констатировать нарушение работы центральной нервной системы и поведенческой активности животных после введения инъекционных форм наносоединений на основе меди и кобальта.

Также нами было рассмотрена и изучена исследовательская активность белых крыс до и после введения инъекционных форм наносоединений на основе меди и кобальта.

Исследовательскую активность в данном случае исследовали по способу тест-системы «Возвышенный крестообразный лабиринт».

Сущность данной методики заключается в визуальном оценивании проявления стрессовых и тревожных актов изменения поведения белых крыс. Для этого особь помещают в центр лабиринта и оставляют на 5 мин (рисунок 10).

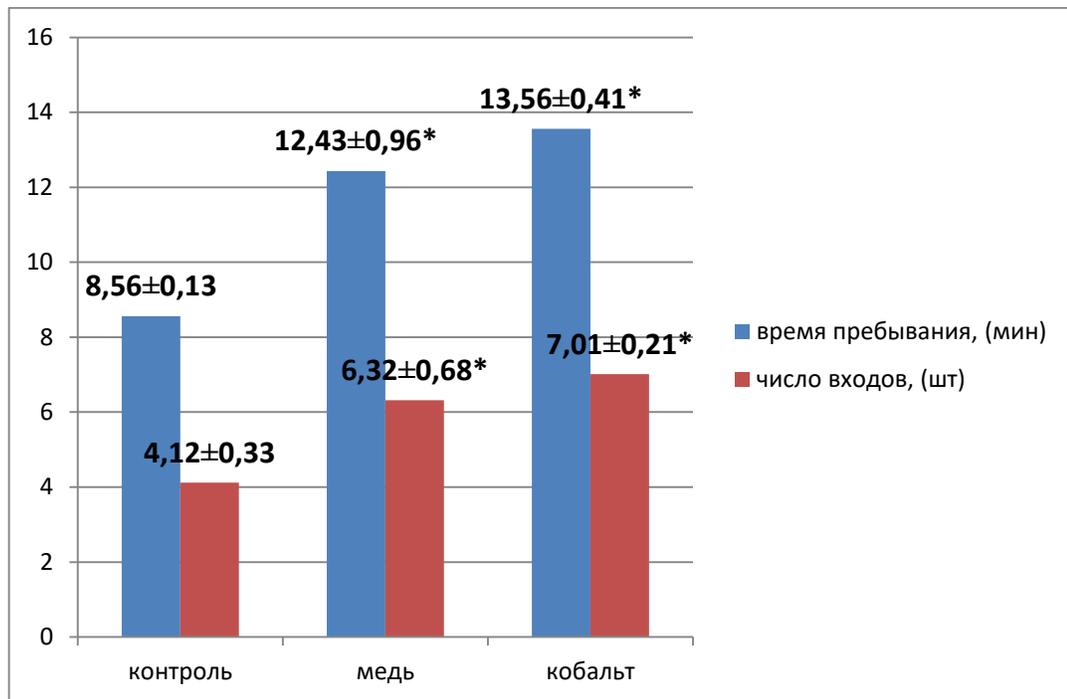
Чем меньше интенсивность проявления критериев данного тестирования, тем сильнее развивается состояние тревожности у исследуемых животных.



Рисунок 10 – Белая крыса в возвышенном крестообразном лабиринте

Рассматривая данные серии опытов, представленных на рисунке 11, установлено, что после введения инъекционных форм наносоединений меди и кобальта животные пребывали больше времени в затемненном месте возвышенного крестообразного лабиринта на 3,87 мин (+45,2 %) и 5 мин (+58,4 %) соответственно. Также повысилось число входов: на 2,2 (+53,3 %) и 2,9 входа (+70,1 %) соответственно относительно контроля.

После введения инъекционных форм наносоединений меди и кобальта у крыс произошла оптимизация стратегий поведенческих актов в исследуемом лабиринте за 5 мин наблюдения. Данные изменения отчетливо проявлялись следующим образом: более редкие забеги в аллеи лабиринтов и вертикальных стоек, повышение количества актов дефекации (таблица 8).



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 11 – Влияние введения минерального комплекса на основе нанопорошка меди и кобальта на исследовательское поведение самцов белых крыс (возвышенный крестообразный лабиринт)

Таким образом, введение инъекционных форм наносоединений меди и кобальта вызывает повышение количества актов дефекации, что свидетельствует о возбуждении центральной нервной системы животных, также снижается двигательная активность, что косвенно свидетельствует о пассивной обороне животных (реакция затаивания) (см. таблицу 8) [9,10,11,121].

Таблица 8 – Поведение самцов белых крыс в Т-образном лабиринте после введения инъекционных форм наносоединений меди и кобальта, шт.

Поведенческие акты	Контроль	После введения инъекционной формы нанопорошка меди	После введения инъекционной формы нанопорошка кобальта
Вертикальные стойки	13,5±1,0	10,65±0,41*	11,02±0,86*
Входы в аллеи	7,0±0,66	5,13±0,23*	5,34±0,69*
Дефекации	3,3±0,13	5,80±0,66*	6,15±0,33*
Груминг	2,3±0,35	5,1±0,36*	6,06±0,53*

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

При изучении хронической токсичности соединений в течение 14 суток не наблюдались негативные изменения в поведении животных. В ходе серии наших исследований отмечались согласованные, скоординированные движения, отсутствие параличей.

Слизистые оболочки были розового цвета без патологических изменений. На протяжении всего периода исследований животные реагировали на внешние (звуковые) раздражители. Снижение или отсутствие аппетита наблюдалось спустя час после введения соединения и продолжалось в течение 6 суток, затем вернулось в норму.

Результаты исследований и наблюдений за подопытными животными в течение 14 дней позволяют нам отнести разработанную инъекционную форму минерального соединения на основе нанопорошка меди и форму минерального соединения на основе нанопорошка кобальта к IV классу опасности и к группе малотоксичных веществ в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 [9,27,56].

Полученные результаты сочетаются с опубликованными данными [9,10,13,14,18,27,67,73,89,93,106,115,118,119,121,166,171,173,175,177,201].

Установлено, что токсичность меди довольно редко встречается у животных, так как млекопитающие развили точный гомеостатический контроль этого элемента из-за высокой связанности свободного металла в соединения. Свободной меди в клетках и в тканях крайне мало; она почти всегда встречается в биологических объектах, связанных с белковым состоянием и ее взаимосвязью с гомеостазом железа в организме.

Далее мы провели изучение кожно-резорбтивного действия минеральных соединений на основе меди и кобальта. Реакцию кожи морских свинок при накожном применении оценивали по Шкале оценки аппликационных кожных тестов по Паттерсону (таблица 9). Результаты исследований представлены в таблице 10.

Таблица 9 – Шкала оценки аппликационных кожных тестов по Паттерсону

Результат реакции	Условное обозначение	Описание реакции
Отрицательный	–	Видимые кожные реакции отсутствуют
Сомнительный	±	Небольшое ограниченное покраснение, отек отсутствует
Слабо положительный	+	Наличие эритемы без отека
Положительный	++	Наличие сильного покраснения в месте введения препарата с развитием отека
Резко положительный	+++	На месте введения препарата проявляются отечность и покраснение, а также папулы, изолированные везикулы
Очень резко положительный	++++	В месте аппликации гиперемия, отек, папулы, слившиеся везикулы

Таблица 10 – Кожно-резорбтивная проба на введение минерального соединения на основе нанопорошка меди и кобальта

Соединение	Группа	Исследуемое соединение	Результат реакции	
			на 7-е сутки	на 14-е сутки
Соединение меди	Опытная 1	Минеральное соединение на основе нанопорошка меди, 5 мг	Отрицат.	Отрицат.
	Опытная 2	Минеральное соединение на основе нанопорошка меди, 50 мг	Отрицат.	Отрицат.
Соединение кобальта	Опытная 1	Минеральное соединение на основе нанопорошка кобальта, 5 мг	Отрицат.	Отрицат.
	Опытная 2	Минеральное соединение на основе нанопорошка кобальта, 50 мг	Отрицат.	Отрицат.
Соединение меди и кобальта	Опытная 1	Минеральное соединение на основе нанопорошка меди и кобальта, 5 мг	Отрицат.	Отрицат.
	Опытная 2	Минеральное соединение на основе нанопорошка меди и кобальта, 50 мг	Отрицат.	Отрицат.

Установлено, что после нанесения на кожу животных изучаемых соединений в дозах 5 и 50 мг негативных изменений не выявлено на протяжении 14 суток.

При постановке конъюнктивной пробы у морских свинок наблюдалось слезотечение и гиперемия слизистых оболочек века, которое проходило в течение суток (рисунки 12, 13).



Рисунок 12 – Конъюнктивная проба через сутки после введения наносоединений меди и кобальта

Таким образом, результаты опытов и 2-недельного наблюдения за подопытными животными показали отсутствие резко негативных изменений и последствий в организмах лабораторных животных, а также их гибели при введении соединения в максимальной дозе, что явно указывает на его принадлежность к группе малотоксичных веществ. Этот факт гарантировано расширяет область применения медь- и кобальтсодержащего нанопорошка в ветеринарной медицине.



Рисунок 13 – Конъюнктивная проба через двое суток после введения соединения меди и кобальта

3.4. Фармакокинетическая характеристика нанопорошков меди и кобальта для животных

Важным этапом в науке о наноматериалах является всестороннее исследование их фармакокинетического поведения в организме. Как правило, при изучении фармакокинетических параметров используют разные виды животных и дозы [9, 27, 121]. Эти данные используются для оценки системного воздействия наноматериалов на организм и установления основных детерминант их предполагаемой токсичности и терапевтической эффективности.

Мы провели изучение фармакокинетических параметров нанопорошков меди и кобальта для белых крыс и крупного рогатого скота. Результаты исследований представлены на рисунках 14–17.

Исследуемое соединение вводили подкожно белым крысам в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела. В группы животных подбирали по принципу аналогов, по 9 голов на одну дозу.

Также было проведено изучение фармакокинетических характеристик инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта для крупного рогатого скота. Исследуемое соединение вводили внутримышечно в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела, однократно. Объем вводимого соединения составлял до 10 мл.

Результаты исследования содержания меди в организме крыс представлены на рисунках 14,15.

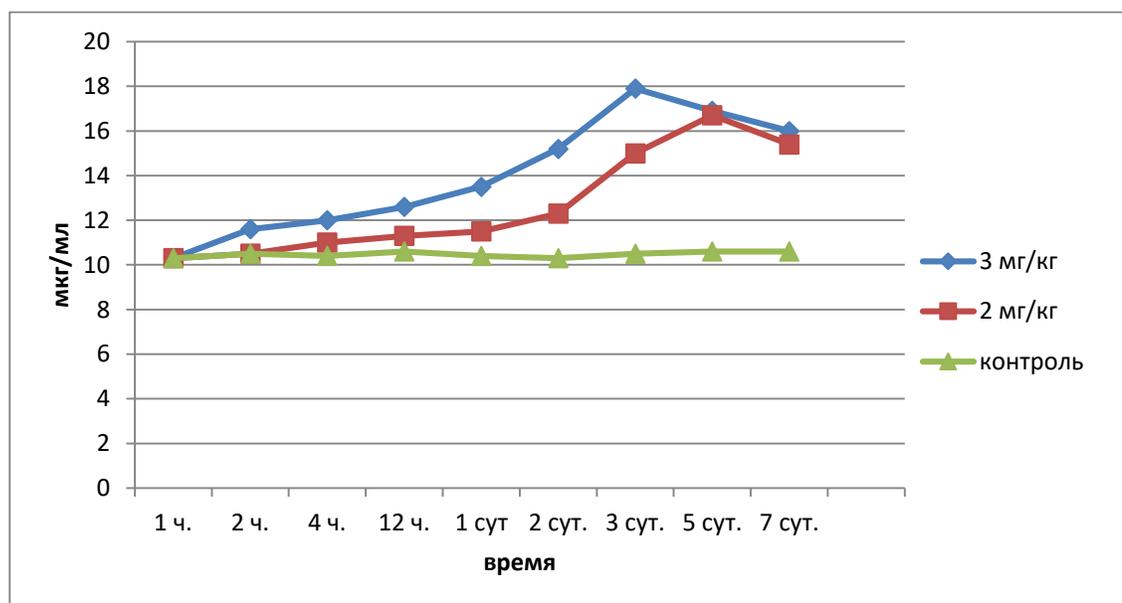


Рисунок 14 – Динамика концентрации меди в сыворотке крови белых крыс при подкожном введении минерального комплекса на основе меди

Установлено, что концентрация меди в организме белых крыс после введения соединения на основе меди повышается с 1-го часа (см. рисунок 14). Максимальная концентрация меди при введении в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела установлена на 3–5-е сутки, от $15,0 \pm 0,31^*$ мкг/г до $16,7 \pm 0,51^*$ мкг/г и от $17,9 \pm 0,21^*$ до $16,9 \pm 0,61^*$ мкг/г (при $p \leq 0,05$) соответственно, относительно

первоначального уровня $10,3 \pm 0,42$ мкг/г. Далее происходило снижение до $15,4 \pm 0,58$ мкг/г (доза 2 мг/кг) и $16,0 \pm 0,20$ мкг/г (доза 3 мг/кг).

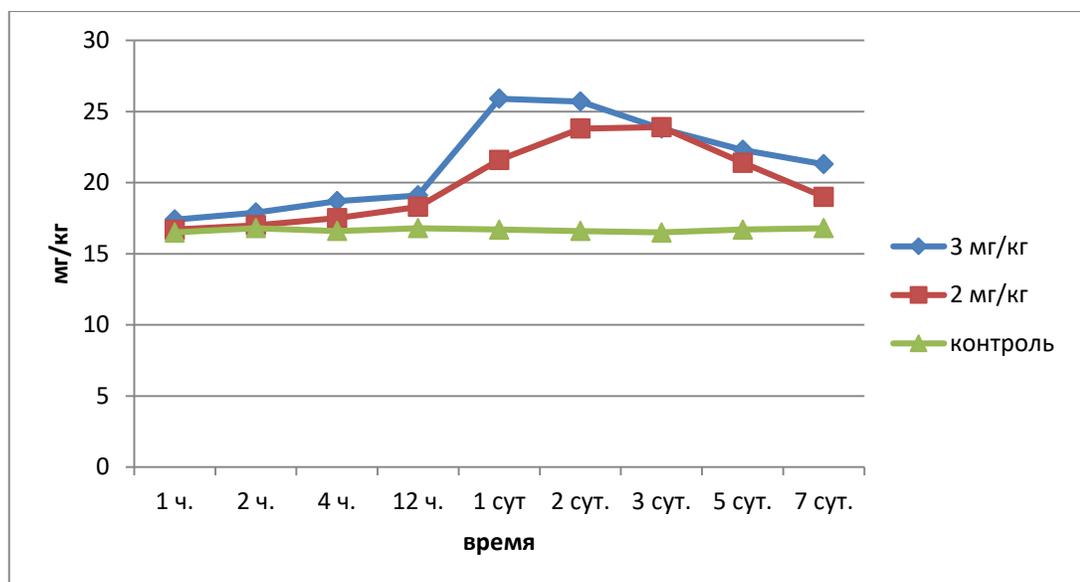


Рисунок 15 – Динамика концентрации меди в сыворотке крови крупного рогатого скота при внутримышечном введении минерального комплекса на основе меди

Анализируя рисунок 15, можно констатировать следующее. Исходная концентрация меди в организме крупного рогатого скота колебалась в интервале от $23,8 \pm 0,33$ до $25,7 \pm 0,16$ мкг/г. После внутримышечного введения минерального комплекса на основе меди максимальная концентрация меди в сыворотке крови установлена на 2–3-е сутки.

Так, при введении изучаемого соединения в дозе 2 мг/кг массы тела концентрация меди в сыворотке крови была выше на 43,3 и 44,8 % соответственно относительно контроля и составила $23,8 \pm 0,71^*$ и $23,9 \pm 0,51^*$ мкг/г соответственно ($p \leq 0,05$).

При введении изучаемого соединения в дозе 3 мг/кг максимальный уровень меди в сыворотке крови установлен в 1-е сутки – $25,9 \pm 0,96^*$ мкг/г

(+55,1 % относительно контроля). На 2-е сутки этот показатель составил $25,7 \pm 0,60^*$ мкг/г (+53,9 % относительно контроля), $p \leq 0,05$.

Просматривается классическая двухкамерная модель поведения минерального комплекса на основе меди [9,11, 93,104]. После введения соединения на основе наномеди кривые зависимости концентрации в сыворотке от времени снижаются таким образом, который лучше всего математически описывается множественными экспоненциальными членами. Это отражает различия в скорости, с которой лекарство поступает в определенные тканевые резервуары до достижения равновесия между тканями и его последующего распада вследствие элиминации.

При двухфазном распаде организм ведет себя так, как будто он состоит из двух компартментов: центрального, в который всасываются лекарственные соединения из места их введения, и периферического, в котором лекарственные вещества распределяются по мере того, как они покидают центральный отдел и переходят из центрального в периферический компартмент. Фаза распределения продолжается до тех пор, пока между двумя отсеками не будет достигнуто устойчивое состояние.

Часто центральные и периферические компартменты связаны с определенными объемами внутри организма. После введения лекарство немедленно занимает объем, представляющий собой центральное отделение, и начальное быстрое снижение уровня в плазме является результатом его распределения в тканях периферического отдела (фаза распределения). Как только лекарство достигает равновесного состояния в тканях обоих отделов, оно остается в пределах своего кажущегося объема распределения, и любое дальнейшее снижение уровня в плазме является следствием элиминации лекарственного средства (фаза элиминации).

Установлено, что полная площадь под кривой «концентрация – время», составила $35,69 \pm 0,65$ (мкг·ч)/мл (доза 2 мг/кг) и $52,15 \pm 1,16$ (3 мг/кг), (рисунок 16).

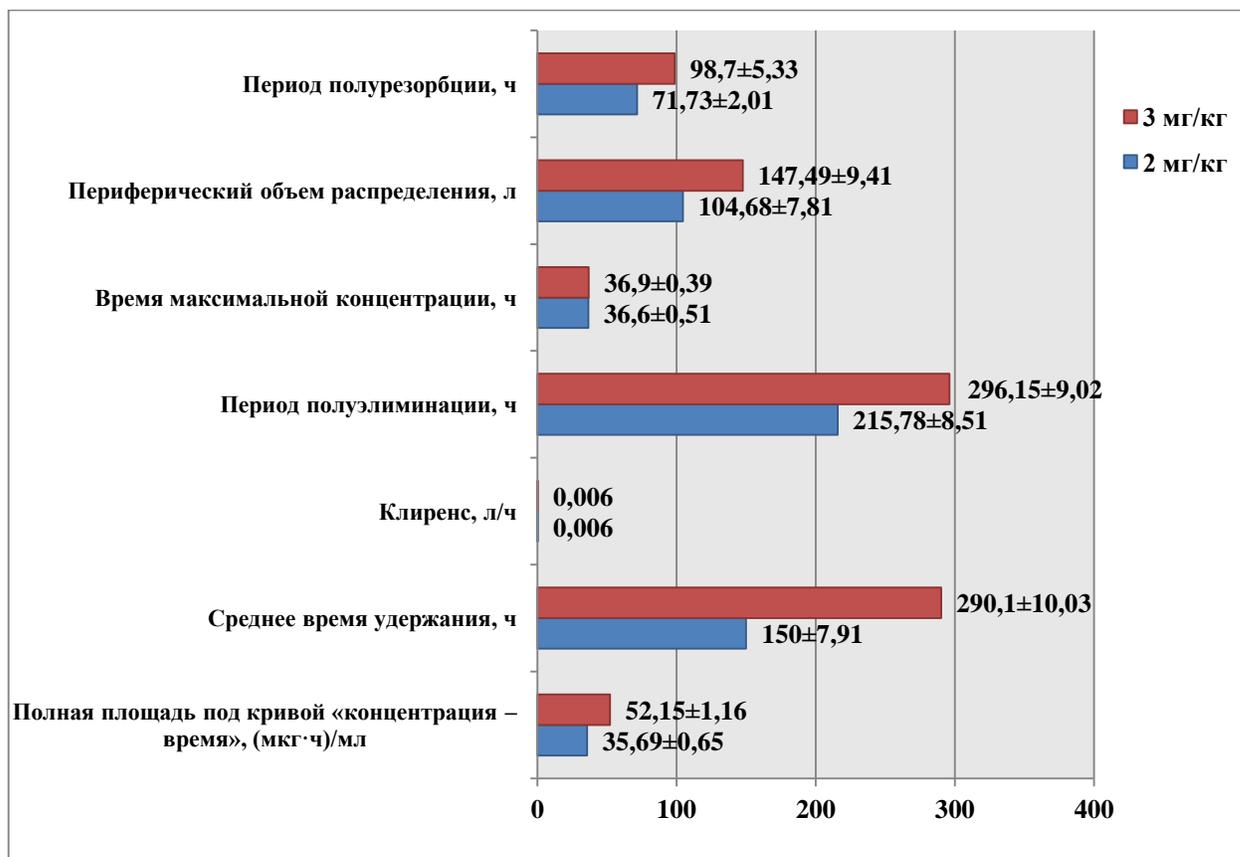


Рисунок 16 – Фармакокинетические (ФК) показатели в сыворотке крови белых крыс при подкожном введении минерального комплекса на основе меди

Воздействие лекарственных средств оценивают с использованием расчета полной площади под кривой «концентрация – время». Это измеренная площадь под графиком зависимости воздействия в сыворотке крови от времени. Определение этого параметра дает возможность выбирать соединения, которые повышают такие уровни воздействия, как самый низкий клиренс, или избирательную биодоступность.

Период полувыведения препарата – это время, за которое из организма выводится 50 % препарата [11]. В этом случае этот показатель составил $215,78 \pm 8,51$ ч (2 мг/кг) и $296,15 \pm 9,02$ ч (3 мг/кг). Среднее время удержания минерального соединения рассчитывается путем суммирования общего времени поступления в поток и деления на количество частиц [11], оно составило $150,0 \pm 7,91$ ч (доза 2 мг/кг) и $290,1 \pm 10,03$ ч (3 мг/кг).

Клиренс соединения меди составил 0,006 л/ч независимо от введенной дозы.

Максимальная концентрация меди в сыворотке крови установлена через 36,6–36,9 ч после введения изучаемого соединения.

Периферический объем распределения лекарственного вещества представляет собой кажущийся объем, в котором соединение распределяется в состоянии равновесия и до начала метаболического клиренса. После введения соединения меди в дозах 2 и 3 мг/кг периферический объем распределения составил $104,68 \pm 7,81$ л и $147,49 \pm 9,41$ л соответственно. В нашем случае установлен достаточно высокий периферический объем распределения, что характерно для веществ, которые активно связываются с тканями, имеют большое значение [9, 11].

Период полурезорбции составил $71,73 \pm 2,01$ ч (2 мг/кг) и $98,7 \pm 5,33$ ч (3 мг/кг).

У крупного рогатого скота полная площадь под кривой «концентрация – время» составила $82,65 \pm 2,33$ и $20,25 \pm 1,24$ (мкг·ч)/мл соответственно, при введении соединения меди в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела (рисунок 17).

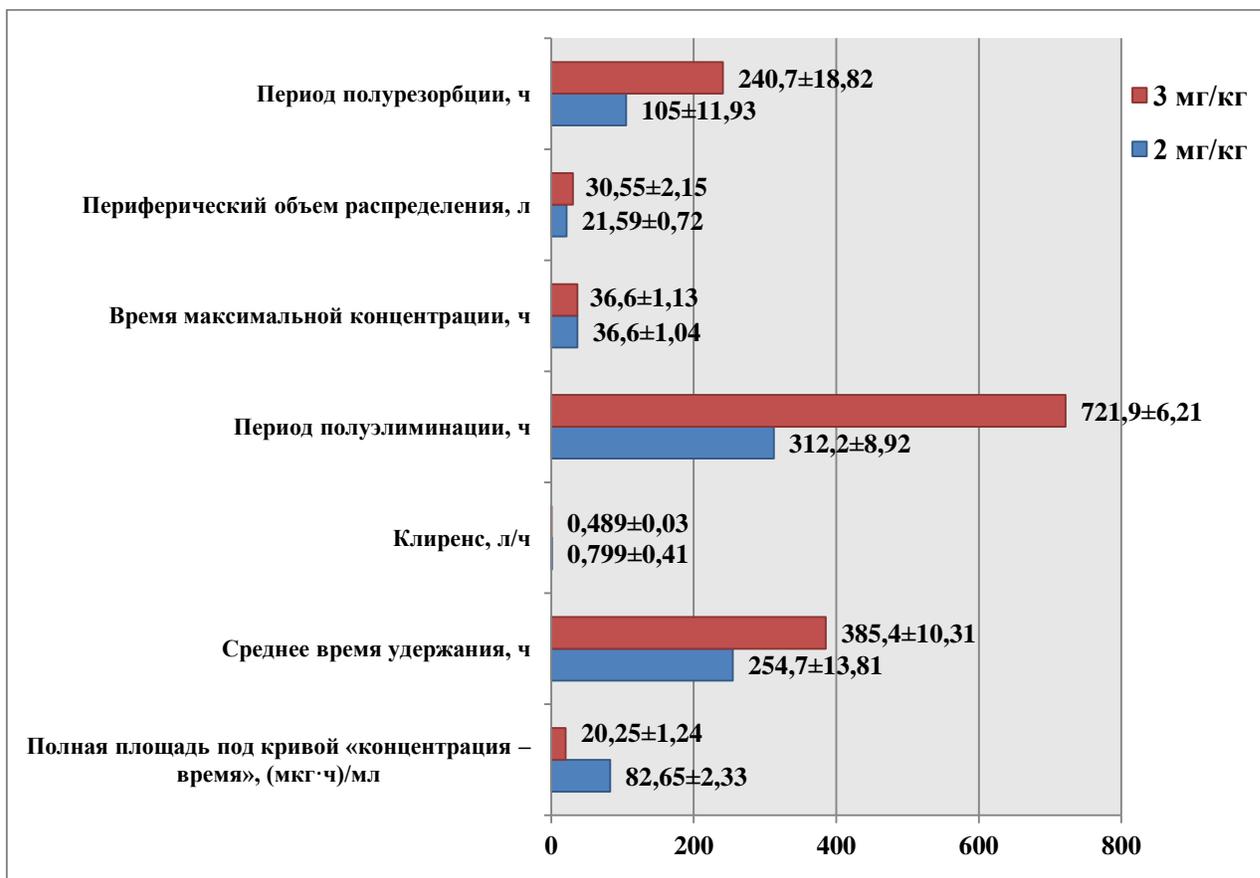


Рисунок 17 – Фармакокинетические (ФК) показатели в сыворотке крови крупного рогатого скота при внутримышечном введении минерального комплекса на основе меди

Среднее время удержания молекул изучаемого соединения в сыворотке крови крупного рогатого скота составило $254,7 \pm 13,81$ ч (2 мг/кг) и $385,4 \pm 10,31$ (3 мг/кг), что является достаточно большим временным периодом.

Клиренс представляет собой удаление лекарства из кровотока [11]. Он связан с постоянной скоростью выведения, в котором растворено лекарство. В нашем случае клиренс соединения меди составил $0,799 \pm 0,41$ л/ч (2 мг/кг) и $0,489 \pm 0,03$ (3 мг/кг).

Всасывание определяет, как лекарственное вещество принимается, и определяет его биодоступность в системном кровотоке и, следовательно, максимальная концентрация в плазме и время достижения максимальной

концентрации в плазме. Все эти параметры влияют на степень и сроки действия препарата. После введения соединения меди в дозах 2 мг/кг и 3 мг/кг время максимальной концентрации составило 36,6 ч.

В нашем случае периферический объем распределения составил 21,59 и 30,55 ч после введения соединения на основе наномеди в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела соответственно.

После введения изучаемого соединения в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела период полурезорбции для крупного рогатого скота составил $105,0 \pm 11,93$ и $240,7 \pm 18,82$ ч соответственно.

Таким образом, обобщая полученные результаты по фармакокинетике соединения на основе наномеди, установлено, что профиль концентрации меди в сыворотке крови животных в зависимости от времени приспособлен к двухкомпонентной модели с входными данными нулевого порядка.

Фармакокинетический анализ поведения меди в организме, после введения изучаемого соединения, выявил общие особенности распределения и элиминации этого вещества.

Полученные результаты фармакокинетических исследований доказывают, что наиболее эффективной для животных является доза 3 мг/кг массы тела.

Далее мы провели изучение фармакокинетических характеристик соединений на основе кобальта. Нами было установлено, что концентрация кобальта в организме белых крыс после подкожного введения наносоединения на основе кобальта начинает повышаться через 2 ч после введения (рисунок 18).

Наивысшая концентрация кобальта при введении в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг массы тела испытуемых животных установлена на 2-е–3-и сутки, от $2,0 \pm 0,14^*$ до $2,2 \pm 0,23^*$ мкг/г и от $1,85 \pm 0,18^*$ до $2,0 \pm 0,34^*$ мкг/г ($p \leq 0,05$) соответственно относительно контрольного значения первоначального уровня $1,02 \pm 0,28$ мкг/г.

Далее происходит постепенное снижение кривой концентрации до $2,0 \pm 0,14^*$ и $1,7 \pm 0,19^*$ мг/кг при введении соединения кобальта в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг ($p \leq 0,05$) соответственно (рисунок 18).

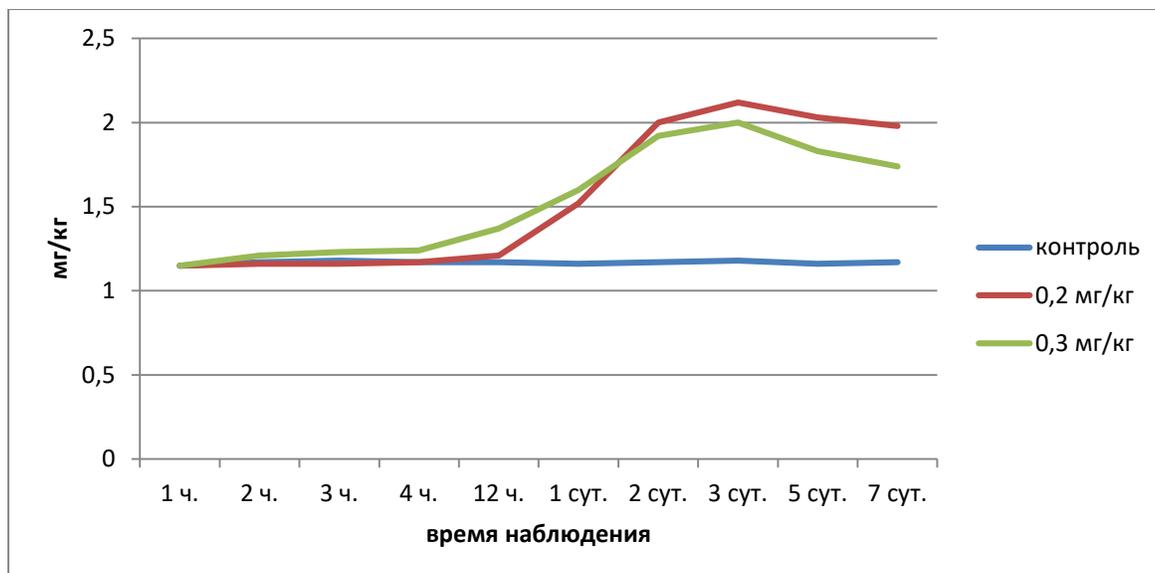


Рисунок 18 – Динамика концентрации кобальта в сыворотке белых крыс при подкожном введении минерального комплекса на основе кобальта

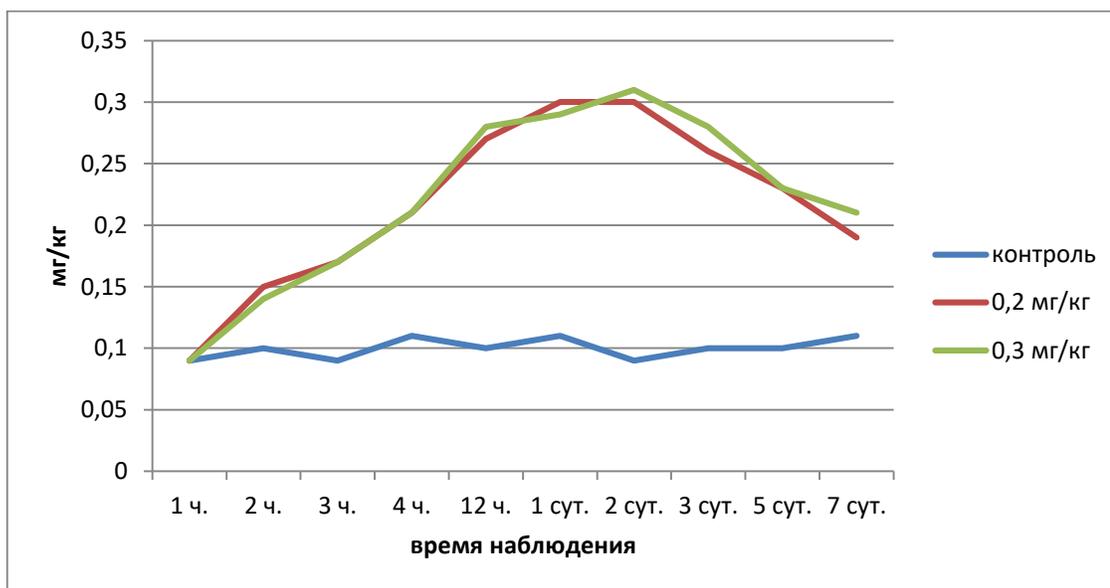


Рисунок 19 – Динамика концентрации кобальта в сыворотке крови крупного рогатого скота при внутримышечном введении минерального комплекса на основе кобальта

Анализируя данные рисунка 19, которые были получены нами при внутримышечном введении минерального комплекса на основе кобальта крупному рогатому скоту, можно сделать следующие выводы.

Исходное значение концентрации кобальта в организме животных было равно $0,09 \pm 0,34$ мг/кг. При внутримышечном введении исследуемого соединения в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг достоверное повышение уровня содержания кобальта в сыворотке крови отмечалось с 2 часов до 3 суток. При этом наивысшая концентрация при введении соединения в дозе 0,2 мг/кг была зафиксирована на 1-е–3-и сутки, что достоверно выше исходного значения в 3,3 раза ($3,01 \pm 0,21^*$ мг/кг), $p \leq 0,05$). Нами также определено, что при введении минерального комплекса на основе кобальта в дозе 0,3 мг/кг концентрация его в сыворотке крови крупного рогатого скота также увеличивалась на 1-е–3-и сутки после введения.

В 1-е сутки содержание уровня кобальта составило $0,27 \pm 0,19^*$ мг/кг, что в 3 раза больше исходного значения, а на 3-и сутки концентрация элемента в сыворотке крови была уже в 3,4 раза больше первоначального показателя – $0,31 \pm 0,28^*$ мг/кг ($p \leq 0,05$).

Согласно данным нашего исследования, установлено, что полная площадь под кривой «концентрация – время» при введении исследуемого соединения в дозах 2 и 3 мг/кг составила $126,39 \pm 1,94$ и $123,29 \pm 8,33$ (мкг·ч)/мл соответственно (рисунок 20).

Среднее время удержания препарата – это показатель, характеризующий время нахождения лекарственного вещества в организме. После введения минерального комплекса на основе кобальта в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела данный показатель был равен $311,12 \pm 3,61$ ч и $310,83 \pm 1,73$ ч соответственно.

Клиренс данного соединения составил при дозах 2 и 3 мг/кг $0,010 \pm 0,01$ и $0,024 \pm 0,02$ л/ч соответственно. Клиренс является количественным показателем

скорости выведения молекул препарата в процессе его биотрансформации в организме (рисунок 20).

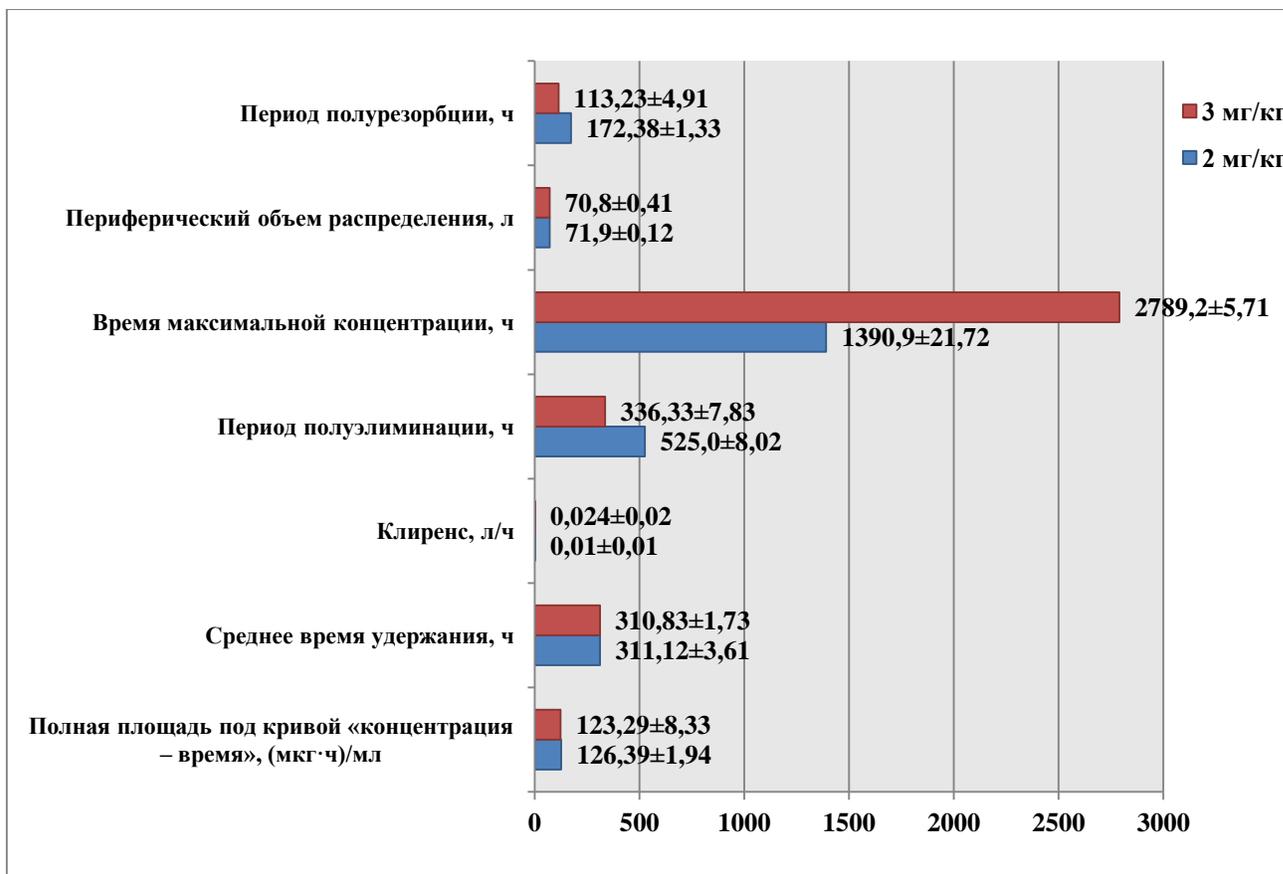


Рисунок 20 – Фармакокинетические (ФК) показатели в сыворотке крови белых крыс при введении минерального комплекса на основе кобальта

Период полувыведения данного соединения составил при дозе 2 мг/кг 525,0±8,02 ч, а при дозе 3 мг/кг – 336,

Время максимальной концентрации изучаемого соединения в сыворотке крови при введении в дозах 2 и 3 мг/кг составило 1390,9±21,72 ч и 2789,2±5,71 ч соответственно, а период полурезорбции – 172,38±1,33 и 113,23±4,91 ч.

При изучении фармакокинетических параметров инъекционного минерального соединения на основе кобальта установлено, что периферический

объем распределения данного соединения в дозах 2 и 3 мг/кг составляет $9,61 \pm 0,33$ и $30,55 \pm 2,15$ л.

Полная площадь под кривой зависимости «концентрация – время» в тех же дозах введения соединения была равна $120,21 \pm 1,73$ и $20,25 \pm 1,24$ (мкг·ч)/мл соответственно, а показатели среднего времени удержания молекул лекарственного вещества в организме составили $405,2 \pm 3,33$ и $385,4 \pm 10,31$ ч (рисунок 21).

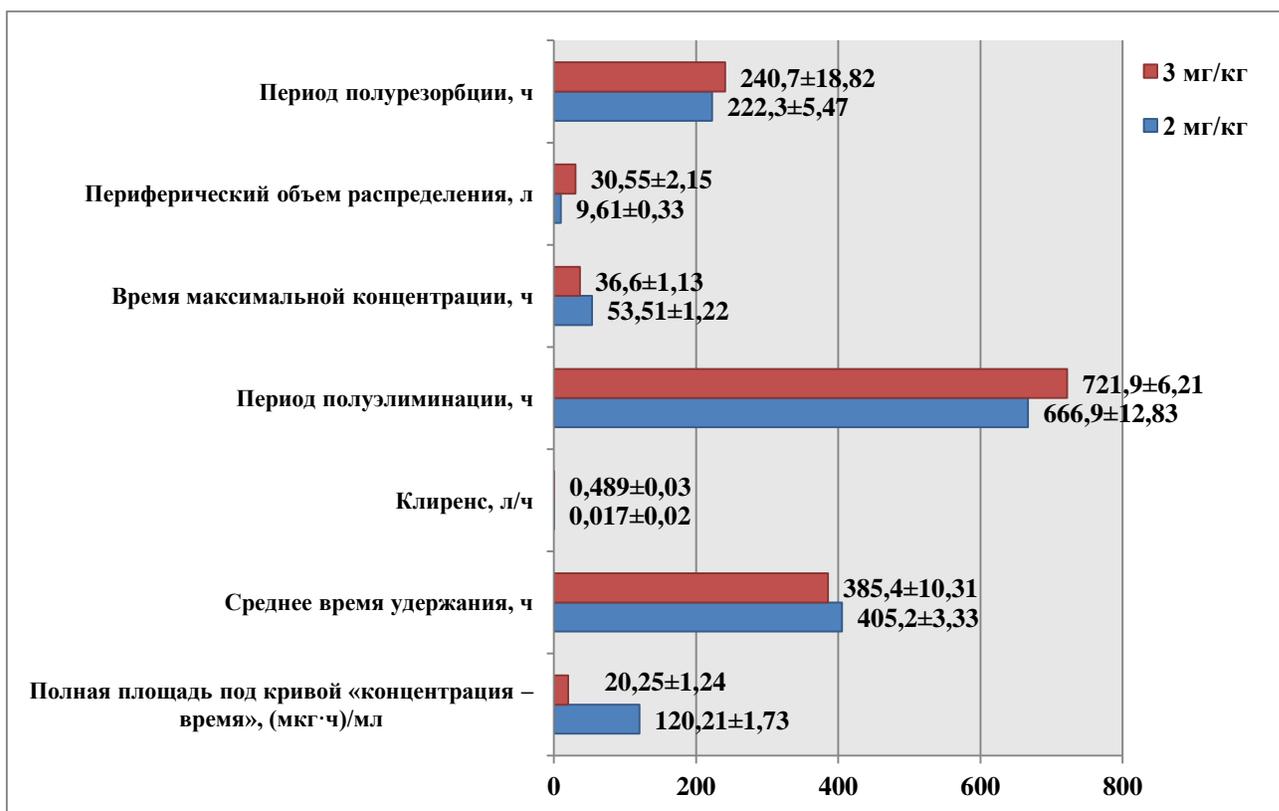


Рисунок 21 – Фармакокинетические (ФК) показатели в сыворотке крови крупного рогатого скота при внутримышечном введении минерального комплекса на основе кобальта

Период полувыведения и полурезорбции исследуемого нами соединения в дозах 2 и 3 мг/кг – $666,9 \pm 12,83$ ч, $721,9 \pm 6,21$ ч и $222,30 \pm 5,47$ ч, $240,7 \pm 18,82$ ч соответственно.

Таким образом, после введения соединений минерального комплекса на основе кобальта и меди отчетливо просматриваются три периода накопления действующего вещества в сыворотке крови: всасывания, максимальной концентрации и элиминации. Все это согласуется с теорией классической фармакокинетики [9,11, 93,104].

3.5 Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на морфологические показатели крови белых крыс

Нами изучено влияние нанопорошков меди и кобальта на морфологические показатели крови белых крыс и крупного рогатого скота. Их вводили подкожно белым крысам в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела, а также в дозах 10, 20, 30, 40 и 50 мг/кг для уточнения влияния изучаемого соединения в высоких дозах на параметры животных. В группы животных подбирали по принципу аналогов (6 животных на одну дозу).

Исследования крови являются одним из главных лабораторных методов определения функционального состояния организма [121,128]. Любой патологический процесс сопровождается сдвигом показателей периферической крови, сигнализируя о декомпенсаторных реакциях в живых клетках. При повреждениях систем и органов меняется не только морфологический, но и биохимический состав крови живого организма [35,128].

Учеными давно доказана важная роль соединений кобальта и меди в процессах кроветворения и клеточного дыхания [21,35,48,68,72].

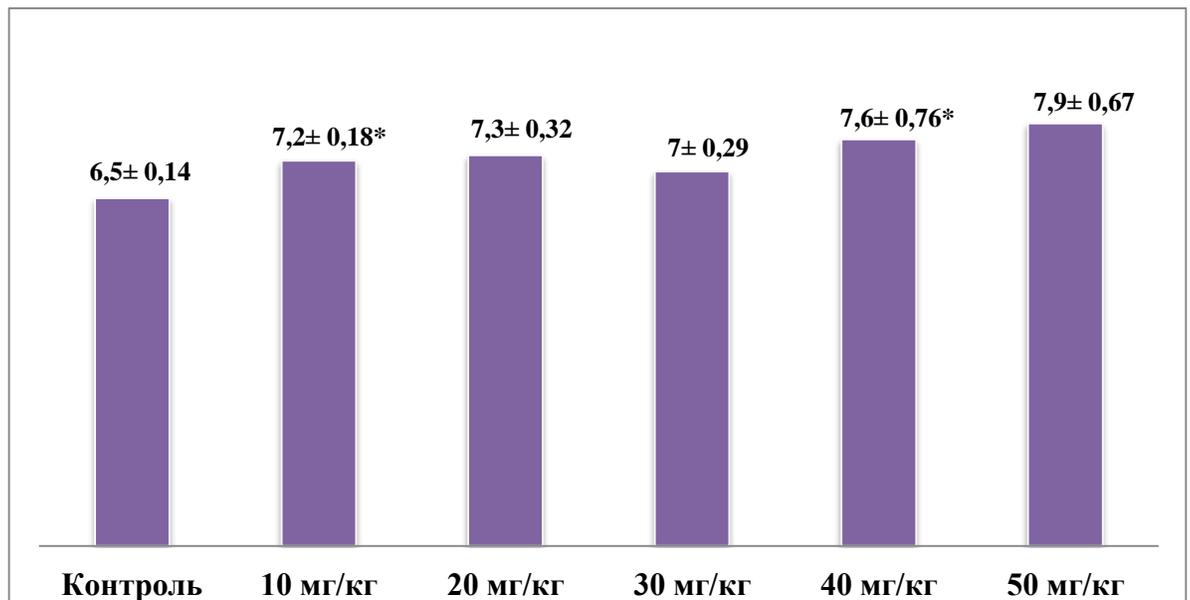
Медь является основным активизатором гемоглобина, участвует в мобилизации, транспортировке, а также связывании метаболитов железа в организме. Хелаты меди способствуют созреванию и стимуляции гемопоэтических клеток, повышению эритропоэза [35,128,142,152].

Кобальт входит в состав цианкобаламина (витамин В₁₂), являясь его коферментом. Активные соединения кобальта оказывают индуцирующее действие на процессы кроветворения в печени и костном мозге [5,72,128].

Результаты исследований гемограммы белых крыс представлены на рисунках 22–27.

Анализ полученных результатов показал увеличение общего количества эритроцитов по сравнению с контрольным значением (рисунок 22).

После введения изучаемого соединения в дозах 10, 20, 30 и 40 мг/кг количество эритроцитов повысилось на 10,7; 12,3; 7,6 и 16,9 % соответственно относительно контроля. Максимальное их увеличение было зафиксировано при введении исследуемых наносоединений в дозе 50 мг/кг, оно составило $7,9 \pm 0,3 \times 10^{12}/л$, что на 21,5 % больше контрольного значения.

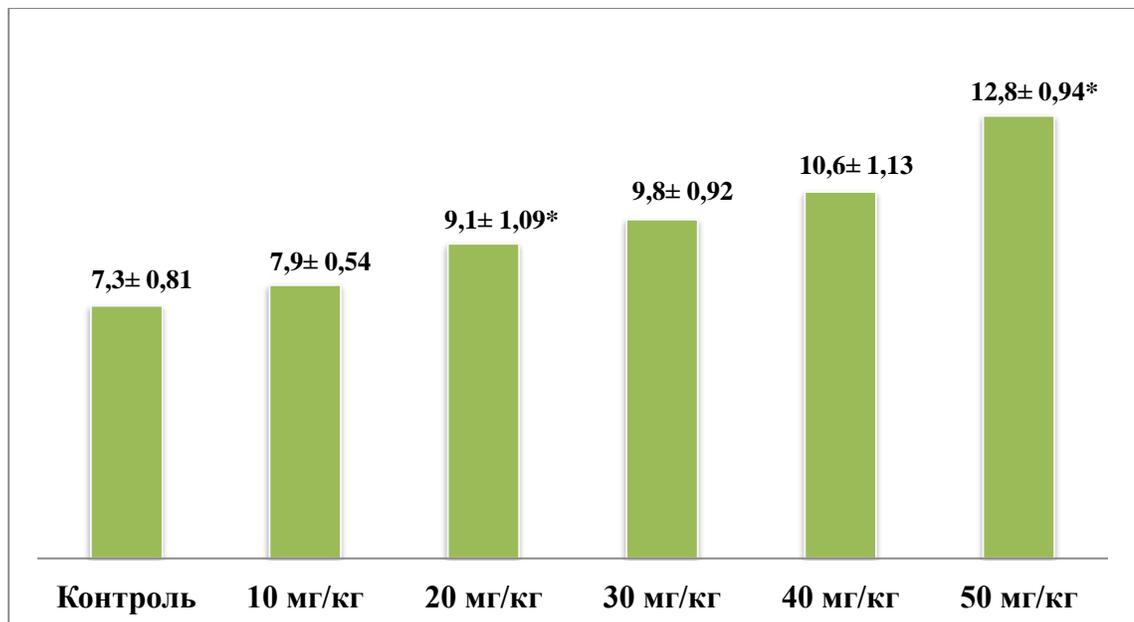


* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 22 – Динамика содержания эритроцитов белых крыс после подкожного введения минерального комплекса меди и кобальта

На основании полученных результатов была установлена корреляционная взаимосвязь между дозой соединения и количеством эритроцитов. Коэффициент корреляции составил 0,87.

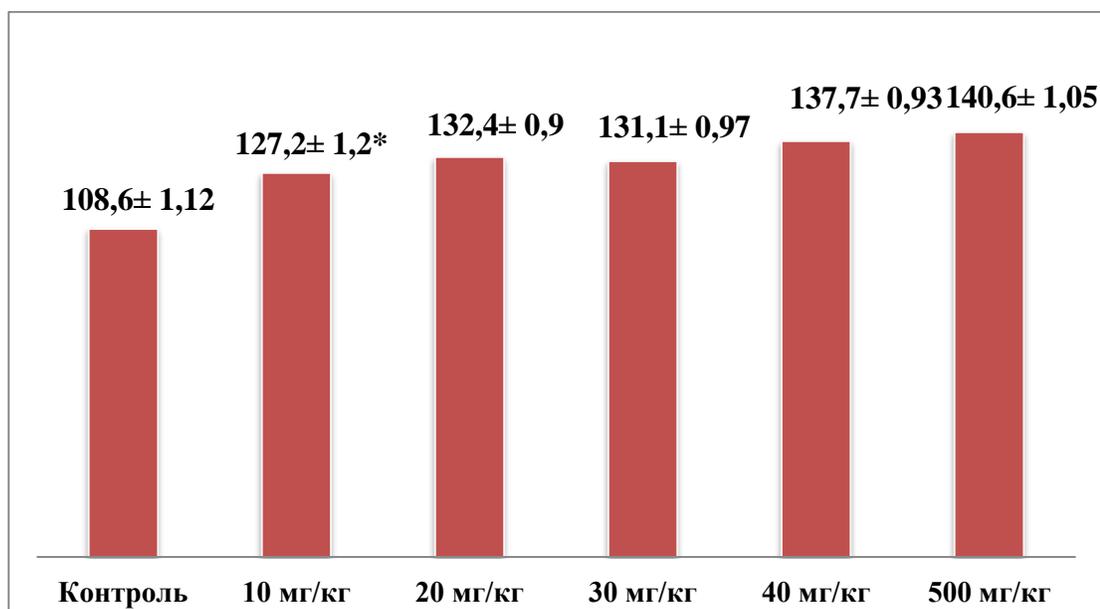
С увеличением дозы от 10 до 50 мг/кг было отмечено наличие лейкоцитоза (рисунок 23).



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 23 – Динамика содержания лейкоцитов белых крыс после подкожного введения минерального комплекса меди и кобальта

После введения изучаемого соединения в дозах 10, 20, 30 и 40 мг/кг количество лейкоцитов повысилось на 8,2; 24,6; 34,2 и 45,2 % соответственно относительно контроля. При дозе 50 мг/кг отмечали максимальное увеличение содержание лейкоцитов в крови белых крыс под влиянием минеральных соединений наноконплексов меди и кобальта – $12,8 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$, что на 75,3% выше контрольного значения данного параметра. Коэффициент корреляции между вводимой дозой и количеством лейкоцитов составил 0,98.



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 24 – Изменения кинетики гемоглобина белых крыс после подкожного введения минерального комплекса меди и кобальта

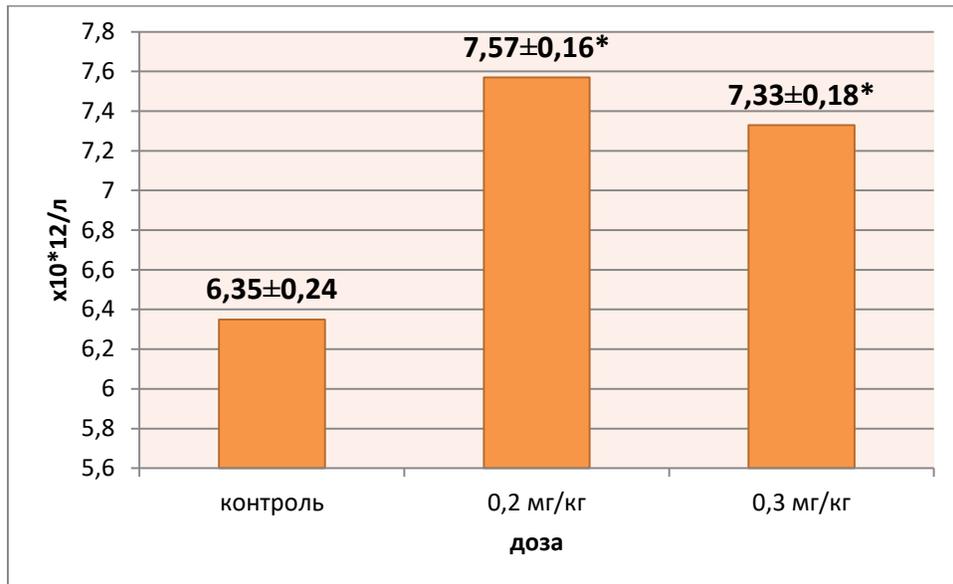
После введения изучаемого соединения в дозах 10, 20, 30 и 40 мг/кг уровень гемоглобина повысился на 17,1; 21,9; 20,7 и 26,7 % соответственно относительно контроля (рисунок 24).

При введении изучаемого соединения в дозе 50 мг/кг общее содержание гемоглобина в крови белых крыс было достоверно выше контрольного значения, оно составило $140,6 \pm 0,7$ г/л, что на 29,4 % больше первоначальных замеров. Коэффициент корреляции между вводимой дозой и уровнем гемоглобина в крови составил 0,98.

Анализируя результаты, полученные при введении белым крысам испытуемых соединений в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг, можно отметить стимулирующее действие на гематопоз.

При введении соединения в дозе 0,2 мг/кг увеличивалось содержание количества эритроцитов ($7,57 \pm 0,16 \times 10^{12}/л$), что на 19,21 % больше контрольных замеров ($6,35 \pm 0,24 \times 10^{12}/л$). При введении соединения в дозе 0,3 мг/кг также

происходило усиление продуцирования эритроцитов ($7,33 \pm 0,18 \times 10^{12}/л$), что больше значения у контрольных особей на 15,4 % (рисунок 25).



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 25 – Динамика содержания эритроцитов белых крыс после подкожного введения минерального комплекса меди и кобальта в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг

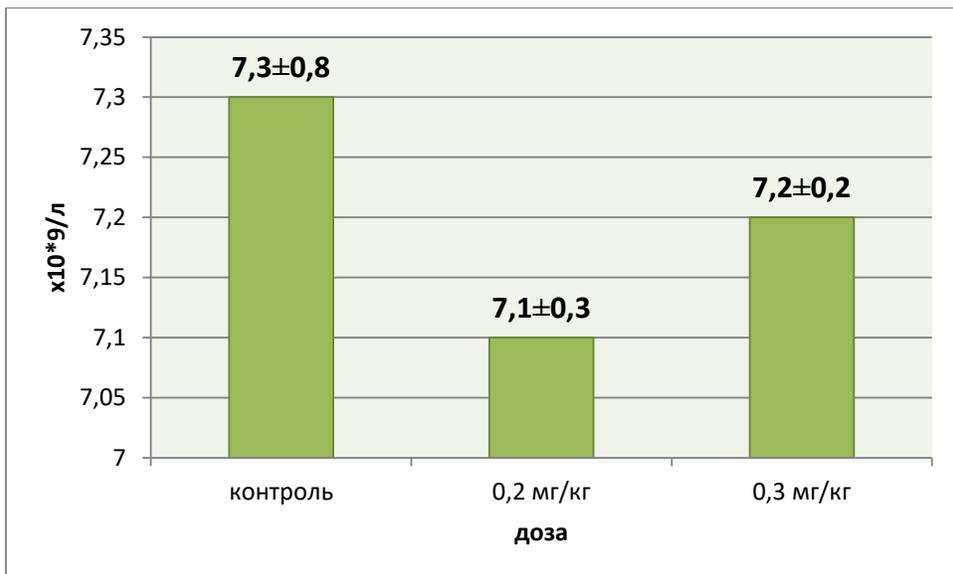
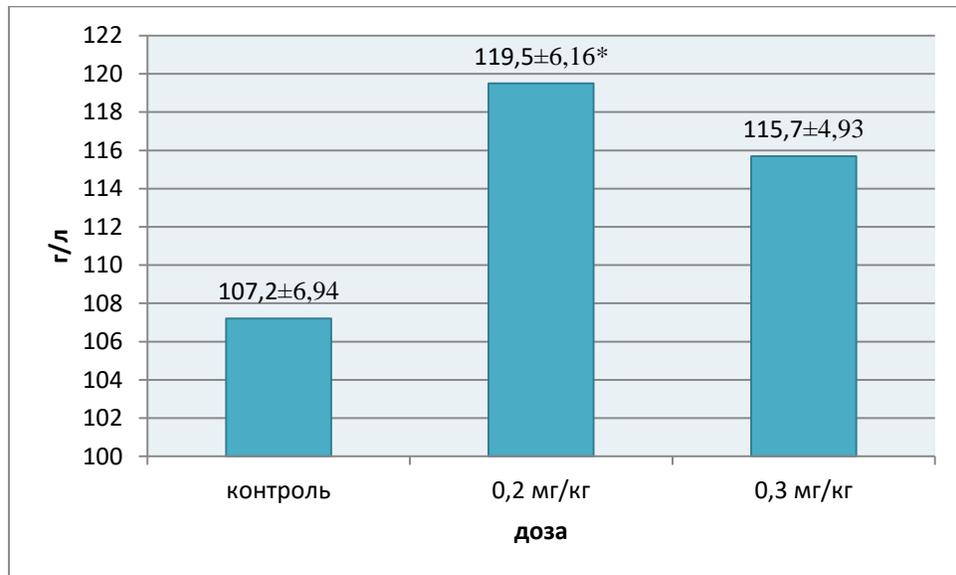


Рисунок 26 – Динамика содержания лейкоцитов белых крыс после подкожного введения минерального комплекса меди и кобальта в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг

Согласно данным, представленным на рисунке 26, при подкожном введении белым крысам минерального комплекса меди и кобальта в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг наблюдали достоверное уменьшение количества лейкоцитов.

Изменения в лейкоцитарной формуле крыс опытной группы могут быть связаны с угнетением процессов клеточного дыхания в митохондриях активно делящихся клеток костного мозга либо с системным действием инъекционных форм нанопорошков металлов, влияющих на регуляторные процессы [9,11,137,175].

Показатели гемоглобина у белых крыс при введении им соединений в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг оставались в пределах физиологической нормы (рисунок 27).



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 27 – Изменения кинетики гемоглобина белых крыс после подкожного введения минерального комплекса меди и кобальта в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг

При подкожной инъекции наноконплекса в дозе 0,2 мг/кг содержание гемоглобина увеличилось на 11,5 % (119,5 ± 6,16 г/л) по сравнению с

контрольным значением ($107,2 \pm 6,94$ г/л). Соединение в дозе 0,3 мг/кг также повышало количественное значение гемоглобина в крови на 8 % ($115,7 \pm 4,93$ г/л) относительно контрольного замера (см. рисунок 27). Данные результаты указывают на стимулирование пролиферации эритроидных клеток, повышенное их созревание, что, в свою очередь, влияет на скорость синтеза гемоглобина.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии исследуемого соединения на процессы кроветворения и поддержание системы гомеостаза организма в норме. В опыте доказано, что инъекционные формы нанопорошков на основе меди и кобальта оказывают выраженное стимулирующее действие на процессы кроветворения в организме, повышая концентрации основных гематологических показателей.

3.6 Фармакологическое влияние инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на биохимические показатели крови белых крыс

Для установления изменений в биохимических анализах крови крысам вводили соединения в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг массы тела. При данном диапазоне прослеживаются наиболее четкое изменение обменных процессов и терапевтический эффект, а также дозировкой в пределах от 10 до 50 мг/кг.

В группы животных подбирали по принципу аналогов (по 6 животных на одну дозу). Кровь для анализа брали на 10-е сутки после введения животным исследуемых соединений.

В таблицах 11,12 представлены результаты анализа динамики показателей белково-азотистого обмена лабораторных белых крыс. Нами было отмечено достоверное увеличение активности печеночного фермента АСТ после введения изучаемого соединения в дозах 30, 40 и 50 мг/кг на 16,2; 26,4 и 35,1% соответственно относительно контроля (см. таблицу 11). Это говорит об активации процессов углеводного обмена. В остальных случаях достоверных различий не установлено.

Таблица 11 – Динамика показателей активности ферментов сыворотки крови лабораторных животных после введения наносоединений на основе меди и кобальта

Доза, мг/кг	Показатели активности ферментов, Е/л			
	АСТ	АЛТ	ЛДГ	щелочная фосфатаза
Контроль	82,3±4,7	61,2±1,1	224,6±16,8	178,3±12,9
0,2	80,63±3,15	55,92±1,83*	200,72±8,92*	177,93±8,72
0,3	79,66±0,24	55,93±2,03*	223,53±7,31	174,52±0,62
10	79,4±6,4	54,5±8,7*	187,5±9,8*	171,9±10,7
20	87,8±9,8	56,1±7,3	208,0±22,1	189,3±9,2
30	95,6±6,7*	56,9±6,8	239,3±13,1	210,7±4,9*
40	104,1±6,3*	64,5±4,8	252,4±8,1*	234,4±5,2*
50	111,2±8,9*	71,3±5,3*	292,5±6,3*	257,1±4,9*

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Активность ключевого фермента углеводного обмена ЛГД находилась в пределах физиологической нормы, однако при введении изучаемого соединения в дозах 10 и 20 мг/кг снижалась на 19,7 и 7,9 % соответственно относительно контроля (см. таблицу 11). При увеличении доз до 30, 40 и 50 мг/кг происходило увеличение активности на 6,5; 12,4 и 30,2 % относительно контроля.

Значение щелочной фосфатазы при введении соединения было значительно выше по сравнению с контрольным значением, что говорит о нарушении трансмембранных процессов в печени и возможности выхода глюкозы в кровь [35,128]. При введении изучаемого соединения в интервале доз от 20 до 50 мг/кг активность щелочной фосфатазы повысилась на 6,1–44,2 % относительно контрольных данных. При введении инъекционной формы нанометаллов в дозе 10 мкг/кг достоверных различий в активности щелочной фосфатазы не установлено. После введения нанопорошков меди и кобальта в дозах от 10 до 30 мг/кг массы тела активность АЛТ снижалась от 12,3 до 7,5 % относительно контроля. При увеличении дозы до 50 мг/кг активность АЛТ повышалась на 16,5 % относительно контроля.

В ходе исследований установлено влияние нанопорошков меди и кобальта на активность ферментов и на концентрацию метаболитов, характеризующих состояние белкового, липидного и углеводного обменов в сыворотке крови лабораторных животных (таблица 12).

Сравнение полученных результатов опытных групп с контрольными значениями показало максимальное повышение концентрации общего белка в крови крыс на 14,8% относительно контроля, при введении изучаемого соединения в дозе 50 мг/кг массы тела. В остальных случаях достоверных различий не установлено (см. таблицу 12).

Таблица 12 – Динамика показателей концентрации метаболитов сыворотки крови лабораторных животных после введения испытуемых соединений

Доза, мг/кг	Показатели концентрации метаболитов ферментативных реакций				
	холестерин, ммоль/л	мочевина, ммоль/л	альбумин, г/л	общий белок, г/л	глюкоза, ммоль/л
Контроль	3,2±0,2	7,3±2,3	32,4±0,7	63,8±2,1	7,4±0,2
0,2	2,9±0,2*	7,4±0,8	34,9±1,0	55,1±3,0*	7,3±0,6
0,3	2,8±0,3*	7,3±0,5	34,0±0,9	53,6±1,6*	7,4±0,3
10	3,4±0,1*	7,4±0,7	30,6±0,3	54,5±1,4*	8,6±0,1*
20	2,7±0,3*	7,7±0,9	32,7±0,6	59,7±1,8	9,1±0,3*
30	2,9±0,2*	8,2±1,2*	34,4±0,2	63,0±2,1	9,5±0,2*
40	2,3±0,1*	8,6±1,1*	34,8±0,4	68,4±1,2	9,8±0,7*
50	2,1±0,1*	8,9±1,3*	35,0±0,7	73,3±1,1*	10,1±0,1*

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Уровень содержания мочевины у контрольных животных составил 6,9±2,3 ммоль/л. После введения инъекционной формы минерального комплекса в дозах 30, 40 и 50 мг/кг массы тела отмечали повышение концентрации мочевины на 12,3; 17,8 и 21% относительно контроля. При введении в дозах 10 и 20 мг/кг достоверных различий не установлено.

При применении нанопорошков меди и кобальта в дозах 10, 20, 30, 40 и 50 мг/кг повышалось содержание глюкозы в сыворотке крови на 16,2; 23,0; 28,3; 32,4 и 36,5 % соответственно относительно контроля.

Исходное содержание холестерина составило $3,2 \pm 0,2$ ммоль/л. После введения изучаемого соединения отмечали снижение этого показателя в сыворотке крови белых крыс на 10,6 % (10 мг/кг), 18,5 % (20 мг/кг), 10,3 % (30 мг/кг), 39,1 % (40 мг/кг) и 52,3 % (50 мг/кг) относительно контроля.

Несмотря на неоднозначность некоторых результатов проведенного исследования, можно сделать вывод о благотворном влиянии инъекционной формы нанопорошков на основе меди и кобальта на процесс кровообразования и различные виды обмена веществ.

Вместе с тем, сравнивая показатели сыворотки крови до и после подкожного введения наносоединений, мы регистрировали усиление окислительно-восстановительных процессов, что плодотворно отражается на обмене веществ и в частности на ферментативной активности. Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии нанопорошка меди и кобальта на организм животных.

3.7. Особенности свободнорадикальных процессов у белых крыс под воздействием инъекционных форм нанопорошка меди и кобальта

Центральное место и при катаболических, и при анаболических превращениях в живых организмах занимают окислительно-восстановительные реакции [28,68,115,122]. Перекисное окисление липидов является метаболическим процессом, представленным практически во всех органах и тканях млекопитающих [28,160]. Несомненно, свободные радикалы в организме выполняют определенную физиологическую функцию, но при воздействии экстремальных факторов, вызывающих развитие различного рода стрессорных, гипоксических, гипербарических и патологических процессов, активизируются

окислительно-восстановительные процессы, приводящие к излишней ассимиляции и кумуляции активных форм кислорода и свободных радикалов [68,115,122,162]. Накопление меди и кобальта может приводить к ряду негативных изменений: нарушению целостности цитоплазматических мембран, структурно-функциональным изменениям ферментативных систем, развитию воспалительных процессов, дистрофическим и функциональным изменениям.

Процесс перекисного окисления липидов, несомненно, – один из сложнейших механизмов дезорганизации структурной и функциональной целостности различных биологических систем [160,162,170,203]. Показатели антиоксидантной защиты организма и перекисного окисления липидов играют ключевую роль в исследованиях оксидативного стресса.

Малоновый диальдегид – главный биомаркер оксидативного стресса в организме животного. Он образуется в результате биометаболизма полиненасыщенных жирных кислот [26,131].

Диеновые конъюгаты также являются важнейшими показателями свободнорадикальных процессов окисления липидов в клетках организмах, но имеют значительное преимущество по сравнению с малоновым диальдегидом, так как отражают процесс окисления на ранних этапах его развития [28,63].

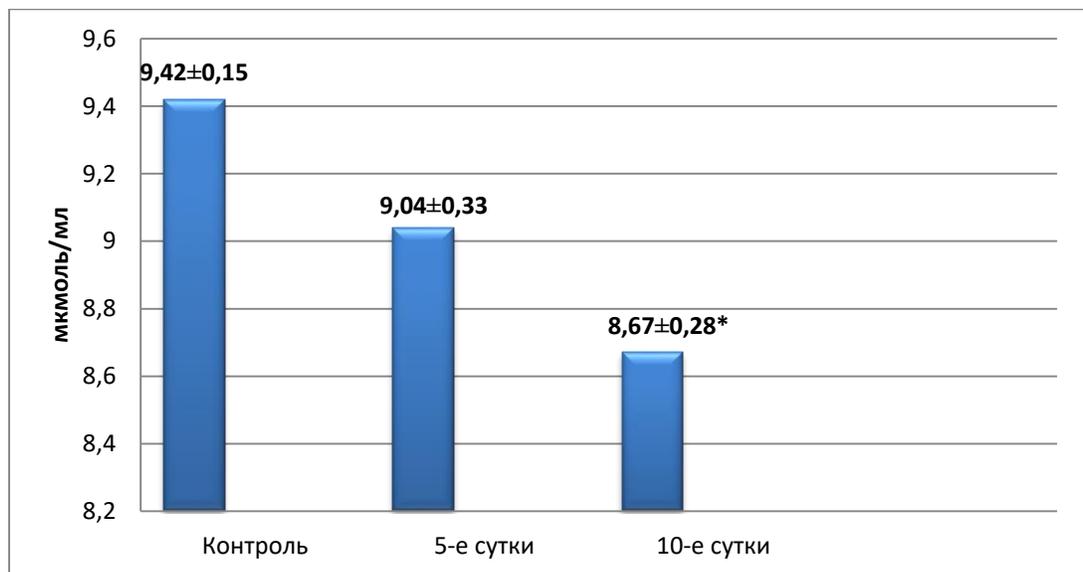
Медь – один из основных микроэлементов, участвующих в регуляции антиоксидантной и прооксидантной систем в организме животного. Медь является прооксидантным катализатором, который активирует реакции образования гидроксильных радикалов из перекиси водорода или супероксидного радикала [5, 21, 63].

Для установления изменений в состоянии процессов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной системы крови крыс мы вводили соединения в дозах 0,2 и 0,3 мг/кг массы тела. Группы животных формировали по принципу аналогов (по 6 животных на одну дозу). Кровь у

животных для анализа брали на 5-е и 10-е сутки после введения исследуемых соединений.

Накопление первичных (диеновые конъюгаты – ДК) и вторичных (МДА) продуктов ПОЛ может быть свидетельством развития патологических изменений.

Концентрация начальных продуктов перекисного окисления липидов (ДК) снижается относительно контроля на 5-е сутки на 4,03% ($9,04 \pm 0,33$ мкмоль/мл), а на 10-е сутки – на 7,96 % ($8,67 \pm 0,28$ мкмоль/мл), рисунок 28.



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 28 – Содержание диеновых конъюгатов, мкмоль/мл, в сыворотке крови белых крыс после подкожного введения соединения нанопорошка меди в дозе 2 и 3 мг/кг

Снижение концентрации диеновых конъюгатов в организме указывает на повышение показателей антиоксидантной защиты и прекращение патогенного воздействия на клетки организма [28,63,115,122].

Нами было установлено, что концентрация малонового диальдегида в сыворотке крови животных опытной группы снизилась на 30,27% (таблица 13).

Таблица 13 – Содержание малонового диальдегида в тканях и органах белых крыс при подкожном введении наносоединения меди

Ткань организма	МДА, ммоль/г	
	контрольная группа	опытная группа
Сыворотка крови	11,99±0,8	8,36±0,79*
Печень	15,85±1,01	13,76±0,94*
Почки	16,61±1,25	12,84±1,40*
Скелетные мышцы	8,96±0,77	7,12±0,85*
Легкие	14,51±0,79	12,79±0,74*
Головной мозг	11,36±0,97	9,6±1,13*
Желудок	9,22±0,65	8,74±0,47
Тонкий отдел кишечника	6,25±0,41	6,55±0,43
Толстый отдел кишечника	9,38±0,63	8,72±0,43
Сердце (миокард)	8,61±0,63	7,44±1,26

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Содержание МДА в тканях печени снизилось на 13,1%. В почках у данного показателя также наблюдалась тенденция к снижению на 22,6%. Снижение альдегидов в клетках печени может свидетельствовать о повышенном действии антиоксидантов в организме, а также об усилении обменных процессов в тканях.

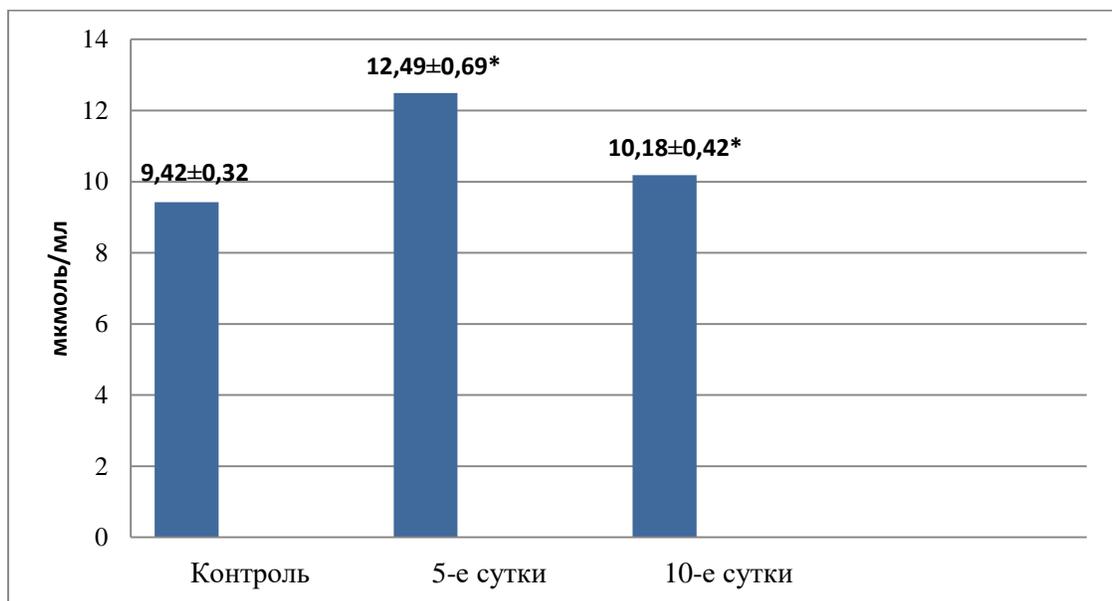
В тканях головного мозга под воздействием инъекционной формы нанопорошка меди произошло снижение показателя МДА на 15,5 %. Содержание МДА в тканях легких достоверно снижалось на 11,8 %.

Таким образом, содержание малонового диальдегида в среднем снижалось на 4,8–30,27 % относительно контрольных значений. Наименьшее повышение активности каталазы произошло в скелетных мышцах, а наибольшее в сыворотке крови и тканях сердца.

Рациональное поступление кобальта в организм животного оказывает положительный эффект на состояние всех живых систем и их функционирование. Однако при избыточном его поступлении происходит кумуляция соединений данного металла в органах и тканях, что способствует возникновению оксидативного стресса в организме [160,172].

Кобальт генотоксичен, индуцирует окислительный стресс, апоптоз, имитирует в клетке состояние гипоксии, что затем приводит к активации апоптоза, гликолиза [1, 2, 60, 150].

При изучении влияния инъекционной формы нанопорошка на основе кобальта на свободнорадикальные процессы в организме белых крыс, мы также исследовали содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в сыворотке крови, аналогично исследованиям с нанопорошком меди.



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 29 – Содержание диеновых конъюгатов (мкмоль/мл) в сыворотке крови белых крыс после подкожного введения соединения нанопорошка кобальта 2 и 3 мг/кг

По данным исследований установлено, что концентрация диеновых конъюгатов в сыворотке крови крыс на 5-е сутки после введения им

инъекционной формы нанопорошка кобальта увеличивалась относительно контрольного значения на 32,59 % ($12,49 \pm 0,69$ мкмоль/мл), что свидетельствует о развитии патологического процесса в клетках организма (рисунок 29).

На 10-е сутки наблюдали частичное возвращение изучаемого показателя к контрольным значениям ($10,18 \pm 0,42$ мкмоль/мл), что говорит о завершении индукции окислительного стресса в организме белых крыс.

Изучение содержания малонового диальдегида в тканях и органах белых крыс после введения им минерального комплекса кобальта показало неоднозначные результаты (таблица 14).

Таблица 14 – Содержание малонового диальдегида в тканях и органах белых крыс при подкожном введении наносоединения кобальта

Ткань организма	МДА, ммоль/г	
	контрольная группа	опытная группа
Сыворотка крови	$11,99 \pm 0,8$	$11,37 \pm 0,23^*$
Печень	$15,85 \pm 1,01$	$16,54 \pm 0,87$
Почки	$16,61 \pm 1,25$	$15,72 \pm 0,21$
Скелетные мышцы	$8,96 \pm 0,77$	$8,54 \pm 0,73^*$
Легкие	$14,51 \pm 0,79$	$16,07 \pm 0,88$
Головной мозг	$11,36 \pm 0,97$	$11,24 \pm 1,01$
Желудок	$9,22 \pm 0,65$	$9,37 \pm 0,51$
Тонкий отдел кишечника	$6,25 \pm 0,41$	$6,09 \pm 0,26$
Толстый отдел кишечника	$9,38 \pm 0,63$	$10,58 \pm 0,29$
Сердце (миокард)	$8,61 \pm 0,63$	$8,13 \pm 0,91$

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Наибольшее снижение концентрации МДА по сравнению с контрольным значением произошло в тканях сердца и почек на 5,57 % ($8,13 \pm 0,91$) и 5,35 % ($15,72 \pm 0,21$) соответственно.

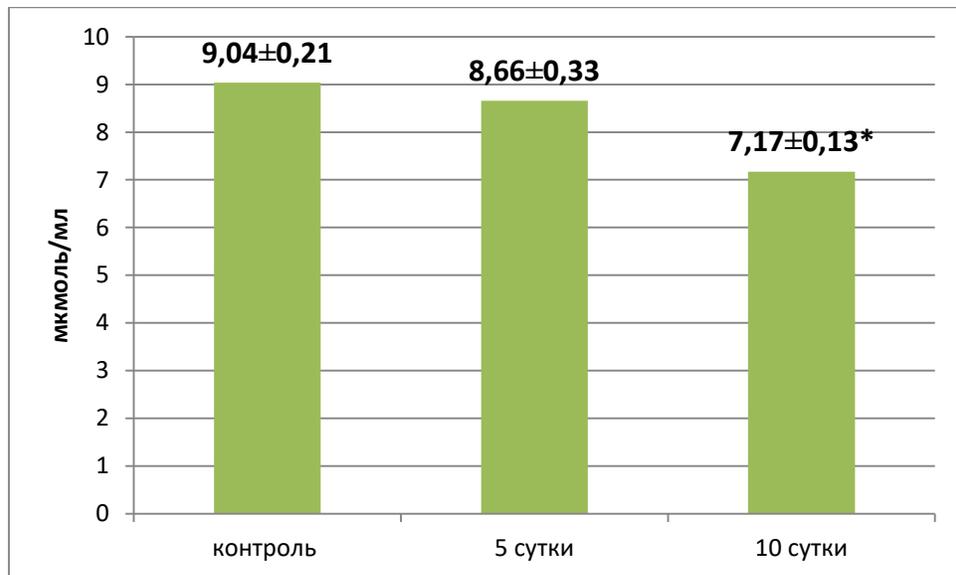
В сыворотке крови опытной группы крыс также произошло снижение содержания данного показателя на 5,17 % ($11,37 \pm 0,23$). Это может

свидетельствовать об усилении обменных процессов в организме животных, а также о повышении фактора окислительной защиты [63,68,122].

Также в некоторых органах и тканях наблюдали обратную тенденцию – повышение содержания малонового диальдегида. Наибольшее увеличение концентрации МДА произошло в толстом отделе кишечника – на 12,84 % ($10,58 \pm 0,29$ ммоль/г), в тканях легких – на 10,7% ($16,07 \pm 0,88$ ммоль/г), в тканях печени – на 4,35 % ($16,54 \pm 0,87$ ммоль/г).

Полученные результаты указывают на структурно-функциональные изменения ферментативных систем, развитие воспалительных процессов, дистрофические и функциональные изменения в данных органах.

Также мы провели исследование совместного действия нанопорошков меди и кобальта на состояние процессов перекисного окисления липидов. Результаты по содержанию диеновых конъюгатов в сыворотке крови представлены на рисунке 30.



* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Рисунок 30 – Содержание диеновых конъюгатов, мкмоль/мл, в сыворотке крови белых крыс после подкожного введения соединения нанопорошка меди и кобальта 2 и 3 мг/кг

Установлено, что после совместного введения изучаемых форм концентрация диеновых конъюгатов на 5-е и 10-е сутки понизилась на 4,4 и 26,1% относительно контроля ($9,04 \pm 0,21$ мкмоль/мл).

Результаты исследований по содержанию малонового диальдегида в тканях и органах белых крыс представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Содержание малонового диальдегида, ммоль/г, в тканях и органах белых крыс при подкожном введении наносоединения меди и кобальта

Ткань организма	МДА, ммоль/г	
	контрольная группа	опытная группа
Сыворотка крови	$11,99 \pm 0,80$	$9,54 \pm 0,33^*$
Печень	$15,85 \pm 1,01$	$12,65 \pm 0,48^*$
Почки	$16,61 \pm 1,25$	$14,73 \pm 0,66^*$
Скелетные мышцы	$8,96 \pm 0,77$	$6,53 \pm 0,12^*$
Легкие	$14,51 \pm 0,79$	$12,73 \pm 0,41^*$
Головной мозг	$11,36 \pm 0,97$	$10,05 \pm 0,38^*$
Желудок	$9,22 \pm 0,65$	$7,23 \pm 0,23^*$
Тонкий отдел кишечника	$6,25 \pm 0,41$	$4,13 \pm 0,19^*$
Толстый отдел кишечника	$9,38 \pm 0,63$	$7,41 \pm 0,05^*$
Сердце (миокард)	$8,61 \pm 0,63$	$7,77 \pm 0,82^*$

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Установлено, что концентрация МДА в сыворотке крови снизилась на 25,7 %, в печени – на 25,3%, в почках – на 12,8 %, в скелетных мышцах – на 37,2 %, в легких – на 14,0%, в головном мозге – на 13,0 %, в желудке – на 27,5 %, в тонком отделе кишечника – на 51,3 %, в толстом отделе кишечника – на 26,2 % и в сердце – на 10,8 % относительно контроля.

Оксидантный стресс или образование активных форм кислорода может приводить к нарушению деятельности ферментов антиоксидантной защиты [160, 171, 203]. Одним из таких ключевых ферментов в организме животного

является каталаза. Нами была изучена активность каталазы в органах и тканях белых крыс после подкожного введения изучаемых соединений.

Каталаза – очень распространенный фермент, присутствующий почти во всех организмах, подвергающихся воздействию кислорода [28, 82]. Целью каталазы в живых клетках является защита их от окислительного повреждения, которое может произойти, когда клетки или другие молекулы в организме вступают в контакт с окислительными соединениями [28, 63, 82, 172]. Повреждение клеток – естественный результат реакций, происходящих внутри клеток, в результате которых образуются побочные продукты, вызывающие структурные повреждения клеток организма. Чтобы предотвратить такое повреждение, фермент каталаза помогает избавиться от этих соединений, расщепляя перекись водорода (H_2O_2) в безвредную воду и кислород [28, 63, 170].

Результаты исследований активности каталазы представлены в таблицах 16–18.

Таблица 16 – Динамика активности каталазы в тканях и органах белых крыс при подкожном введении наносоединения меди

Ткань организма	Каталаза, ммоль/л	
	контрольная группа	опытная группа
Сыворотка крови	18,06±0,4	16,16±0,26*
Печень	59,19±0,54	61,27±0,6
Почки	57,13±0,61	58,51±1,08
Скелетные мышцы	30,51±0,43	30,94±0,32
Легкие	30,5±0,59	27,73±0,37*
Головной мозг	9,1±0,35	8,45±0,93
Желудок	17,73±0,21	16,76±0,54
Тонкий отдел кишечника	16,08±0,17	15,41± 0,43
Толстый отдел кишечника	15,53±0,51	14,79±0,28
Сердце (миокард)	22,2±0,14	18,16±1,07*

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Ферментативная реакция каталазы в сыворотке крови снижалась после введения наносоединения меди на 11,75 %. В тканях кишечника, желудка, скелетных мышц статически достоверные изменения были незначительными.

Наибольшие изменения активности каталазы наблюдались в тканях легких и сердца. Там концентрации данного фермента увеличивалась на 9,9 и 22,2% соответственно (см. таблицу 16).

В ходе исследования нами было установлено недостоверное повышение активности ферментов каталазы в клетках печени на 3,5 %, а в тканях почек на 2,4 %. Каталаза принадлежит к числу тех ферментов, активность которых увеличивается только в присутствии высоких концентраций перекиси водорода [82].

Соединения кобальта и его производные необходимы для синтеза ключевого витамина организма – кобаламина. Витамин В₁₂ продуцирует коферменты, которые активируют, а также контролируют процессы синтеза протеинов, аминокислот и их производных оснований [140,178].

Исследование антиоксидантной защиты белых крыс под влиянием нанопорошка кобальта свидетельствует о его благоприятном воздействии на показатели данной системы (см. таблицу 17).

В сыворотке крови исследуемых животных активность фермента каталазы понизилась на 7,8 % ($16,65 \pm 0,75$), в тканях легких – на 16,29 % ($25,53 \pm 0,51$), в тканях сердца – на 19,59 % ($17,85 \pm 0,91$). Установлено, что активность каталазы в печени повысилась – на 8,2 %, в почках – на 11,9 %, в скелетных мышцах – на 8,2 %, в тонком отделе кишечника – на 13,8 % и в сердце – на 10,5 %, относительно контроля (см. таблицу 18).

Таблица 17 – Динамика активности каталазы (ммоль/л) в тканях и органах белых крыс при подкожном введении наносоединения кобальта

Ткань организма	Каталаза, ммоль/л	
	контрольная группа	опытная группа
Сыворотка крови	18,06±0,4	16,65 ± 0,75*
Печень	59,19±0,54	53,41 ± 0,09
Почки	57,13±0,61	53,41 ± 0,65
Скелетные мышцы	30,51±0,43	26,68 ± 0,44
Легкие	30,5±0,59	25,53 ± 0,51*
Головной мозг	9,1±0,35	6,71± 0,82
Желудок	17,73±0,21	14,86± 0,13
Тонкий отдел кишечника	16,08±0,17	12,93±0,19
Толстый отдел кишечника	15,53±0,51	12,24±0,25
Сердце (миокард)	22,2±0,14	17,85±0,91*

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Таблица 18 – Динамика активности каталазы (ммоль/л) в тканях и органах белых крыс при подкожном введении наносоединения меди и кобальта

Ткань организма	Каталаза, ммоль/л	
	контрольная группа	опытная группа
Сыворотка крови	18,06±0,4	18,91±0,53
Печень	59,19±0,54	64,03±1,66*
Почки	57,13±0,61	63,92±2,00*
Скелетные мышцы	30,51±0,43	33,01±0,42*
Легкие	30,50±0,59	32,04±0,76*
Головной мозг	9,10±0,35	9,03±0,36
Желудок	17,73±0,21	19,02±0,89*
Тонкий отдел кишечника	16,08±0,17	14,13±0,52*
Толстый отдел кишечника	15,53±0,51	16,04±0,86
Сердце (миокард)	22,20±0,14	24,52±0,32*

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

В сыворотке крови, легких, головном мозге, желудке и толстом отделе кишечника достоверных различий с контролем не обнаружено.

Обобщая результаты исследований, можно констатировать следующее: подкожное введение инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта вызывает снижение количество диеновых конъюгатов, что указывает на прекращение в клетках и органах патологических процессов на ранних этапах их развития.

Также нами было отмечено снижение количества малонового диальдегида и повышение ферментативной активности каталазы, что свидетельствует об усилении обменных процессов и подавлении оксидативного стресса в клетках организма [115, 122, 170, 172].

3.8 Анализ динамики накопления и распределения минеральных соединений в организме крыс при введении им терапевтических доз инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта

В ходе исследований уделяли большое внимание накоплению меди и кобальта в крови, тканях и внутренних органах белых крыс при подкожном введении им испытуемых соединений. Результаты исследований приведены на рисунках 31, 32.

Анализ данных, представленных на рисунках 31 и 32, показал, что наибольшее количество меди у контрольных животных содержится в крови, тканях головного мозга и печени.

Наименьшее содержание хелатов меди отмечали в тканях скелетной мускулатуры, легких и сердца. В остальных органах количество исследуемого микроэлемента находилось в пределах 0,09–0,17 мкг/г.

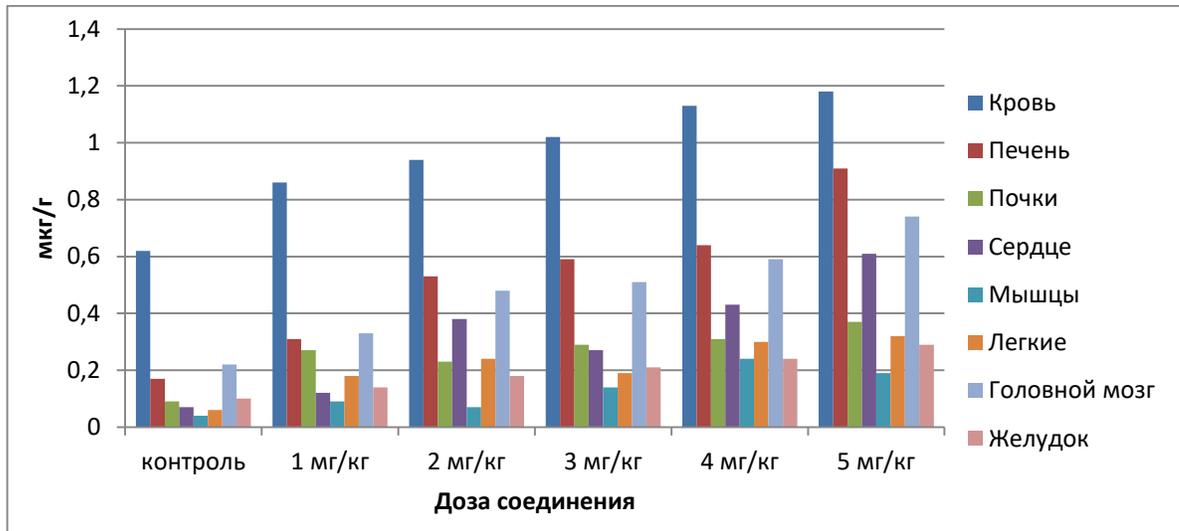


Рисунок 31– Кумуляция соединений меди, мкг/г, в тканях и органах белых крыс на 1-е сутки после подкожного введения инъекционной формы нанопорошка на основе меди

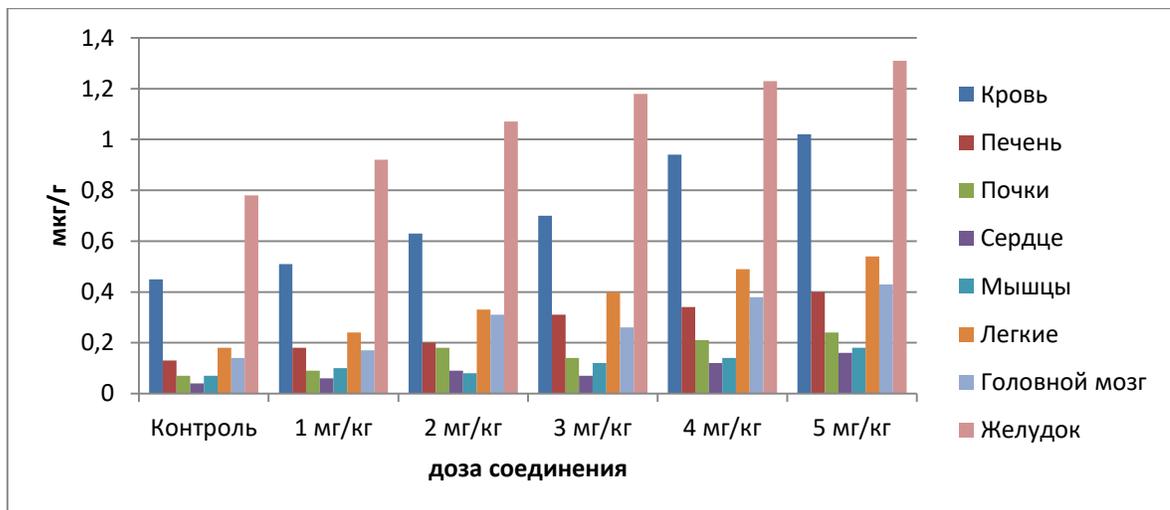


Рисунок 32 – Кумуляция соединений кобальта, мкг/г, в тканях и органах белых крыс на 1-е сутки после подкожного введения инъекционной формы нанопорошка на основе кобальта

Кобальт в наибольшей концентрации у контрольных особей присутствовал в тканях желудка и сыворотке крови. Напротив, в тканях почек и сердца у исследуемых животных содержание кобальта было наименьшим.

После подкожного введения инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта концентрация данных микроэлементов на всех этапах наблюдения достоверно повышалась.

Так, высокую концентрацию меди отмечали в первые сутки наблюдений в тканях печени, где ее содержание увеличивалось в зависимости от дозы вводимого вещества.

При подкожном введении нанопорошка меди в дозах 0,1; 0,3 и 0,5 мг/кг содержание хелатных соединений меди повысилось в 1,8; 3,4 и 5,3 раза соответственно.

Также повышенное накопление меди и ее соединений при подкожном введении исследуемого соединения в тех же дозах отмечали в тканях головного мозга и почек, увеличение произошло в 1,5; 2,3; 3,36 и 3,0; 3,2; 4,1 раза соответственно.

Наибольшее увеличение содержания меди было выявлено в сыворотке крови животных – 1,18 мг/кг, что на 90,3 % больше контрольного значения (0,62 мкг/кг).

В скелетной мускулатуре белых крыс по окончании первого дня исследований было зафиксировано самое низкое содержание меди (0,19 мг/кг).

Концентрация кобальта в органах и тканях белых крыс после подкожного введения соединения также возросла.

Нами была отмечена тенденция увеличения содержания данного минерального соединения в легких, где в зависимости от вводимой дозировки (0,1; 0,3 и 0,5 мг/кг) происходила кумуляция в 1,3; 2,6 и 3,0 раза.

Такое явления мы можем объяснить процессами выведения избыточных количеств кобальта в виде его хелатных ионов.

В данных дозах при введении инъекционной формы нанопорошка кобальта было зафиксировано высокое содержание микроэлемента в сыворотке крови и печени, где его концентрация увеличилась в 3,6 и 3,1 раза соответственно по сравнению и контрольными значениями (0,45 и 0,13 мкг/г).

Наибольшее содержание кобальта в первые сутки после введения исследуемого соединения отмечали в тканях желудка – 1,31 мкг/г, что на 67,9 % больше исходного значения (0,78 мкг/г).

Наименьшее содержание кобальта было обнаружено в сердечной ткани павших животных.

Средняя концентрация меди и кобальта в организме белых крыс при введении инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта увеличивается.

Это увеличение носит дозированный характер.

На 14-е сутки после подкожного введения нанопорошка металлов по средней величине меди и кобальта органы и ткани можно расположить в следующей последовательности (по возрастанию): сердце (миокард) > скелетные мышцы > почки > толстый отдел кишечника > желудок > сыворотка крови > тонкий отдел кишечника > печень > легкие > головной мозг.

3.9 Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на организм крупного рогатого скота

3.9.1. Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на морфологические показатели крови крупного рогатого скота

В ходе исследований мы изучили фармакологическое воздействие нанопорошков меди и кобальта на организм крупного рогатого скота (коров).

Исследование проводили в личном подсобном хозяйстве «ТЛЕК» Астраханской области Приволжского района.

Для исследования сформировали 2 группы коров черно-пестрой породы, по 10 гол. в каждой. Изучаемые соединения вводили в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела, однократно внутримышечно. Кровь брали на 5-е и 10-е сутки. Объем вводимого соединения составлял до 10 мл.

Результаты исследований влияния нанопорошков меди и кобальта на гематологические показатели коров представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Изменения кинетики гематологических показателей коров после внутримышечного введения минерального комплекса меди и кобальта

Показатель	Контроль	5-е сутки	10-е сутки
Гемоглобин, г/л	66,21±2,33	72,83±3,51*	71,03±2,94
Эритроциты, 10 ¹² /л	3,92±0,21	4,21±0,17*	4,16±0,31
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,44±0,16	5,82±0,29	5,72±0,32
СОЭ, мм/ч	1,24±0,10	1,27±0,07	1,25±0,05

Установлено, что после введения изучаемого соединения уровень гемоглобина повысился на 10 % (5-е сутки) и 7,2 % (10-е сутки) относительно контроля.

Исходное количество эритроцитов составило $3,92 \pm 0,21 \times 10^{12}/л$, их уровень после введения соединения нанометаллов на 5-е и 10-е сутки повысился на 7,4 и 6,1 % соответственно относительно контрольного значения.

Количество лейкоцитов повысилось на 7,0 и 5,1 % соответственно на 5-е и 10-е сутки относительно контроля.

Скорость оседания эритроцитов достоверно не изменилась.

Также нами были изучены изменения в лейкоцитарной формуле после внутримышечного введения минерального комплекса меди и кобальта. Результаты исследований представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Изменения лейкоцитарных показателей коров после внутримышечного введения минерального комплекса меди и кобальта

Показатель, %	Контроль	5-е сутки	10-е сутки
Эозинофилы	1,7±0,06	1,9±0,07*	1,8±0,08
Базофилы	0,3±0,001	0,3±0,001	0,3±0,003
Нейтрофилы:			
палочкоядерные	2,9±0,03	3,2±0,03*	3,0±0,06
сегментоядерные	31,8±0,02	32,3±0,69	31,9±1,04
Лимфоциты	61,1±0,64	60,2±1,13	60,0±1,19
Моноциты	2,2±0,03	2,1±0,08	2,0±0,06

Установлено, что достоверные изменения в показателях лейкоцитарной формулы произошли в эозинофилах (+11,8 %) и палочкоядерных нейтрофилах (+10,3 %) на 5-е сутки относительно контроля.

В остальных изучаемых показателях достоверных различий не установлено.

3.9.2 Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на биохимические показатели крови коров

Нами было изучено воздействие нанопорошков меди и кобальта на биохимические показатели крови крупного рогатого скота (коров). Исследование проводили в личном подсобном хозяйстве «ТЛЕК» Астраханской области Приволжского района.

Для исследования были сформированы 2 группы коров черно-пестрой породы, по 10 гол. в каждой. Изучаемые соединения вводили в дозах 2 и 3 мг/кг

массы тела, однократно внутримышечно. Кровь брали на 5-е и 10-е сутки. Объем вводимого соединения составлял до 10 мл.

В таблице 21 показаны результаты изучения показателей активности ферментов сыворотки крови на 5-е и 10-е сутки после внутримышечного введения наносоединения на основе меди и кобальта.

Таблица 21 – Динамика показателей активности ферментов сыворотки крови коров после внутримышечного введения наносоединения на основе меди и кобальта

Показатель, ед. изм.	Контроль	5-е сутки	10-е сутки
АСТ, Ед/л	89,12±3,73	86,93±2,73	85,72±3,83
АЛТ, Ед/л	33,03±2,17	31,06±0,73	30,66±2,81
ЛДГ, Ед/л	963,52±23,04	1196,62±29,96*	1203,03±31,83*
Щелочная фосфатаза, Ед/л	39,13±3,85	44,84±4,05*	45,93±2,98*
Холестерин, Ммг/г	5,03±0,94	4,85±0,38	4,88±0,21
Мочевина, ммоль/л	4,66±0,51	5,03±0,42	5,16±0,73*
Альбумин, г/л	25,73±1,83	26,71±0,41	27,00±1,12
Общий белок, г/л	78,14±4,74	83,73±2,73	86,92±2,63*
Глюкоза, ммоль/л	2,53±0,04	2,84±0,41*	2,94±0,31*

Установлено, что после внутримышечного введения наносоединения на основе меди и кобальта произошло достоверное повышение ЛДГ на 24,2 % (5-е сутки) и 24,9 % (10-е сутки) относительно контроля.

Исходный уровень мочевины составил 4,66±0,51 ммоль/л, после внутримышечного введения наносоединения на основе меди и кобальта

концентрация ее повысилась на 7,9 и 10,7 % на 5-е и 10-е сутки относительно контроля.

Достоверное повышение уровня общего белка произошло на 10-е сутки (+11,3 %) относительно контроля. На 5-е сутки достоверных различий в концентрации общего белка в сыворотке крови не установлено (таблица 21).

На 5-е и 10-е сутки концентрация глюкозы в сыворотке крови коров после внутримышечного введения наносоединений на основе меди и кобальта повысилась на 12,3 и 16,2 % соответственно относительно контроля.

При изучении остальных биохимических показателей крови коров достоверных различий не установлено.

3.9.3 Фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на процессы перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной системы крови коров

В ходе исследований большое внимание уделяли изучению воздействия нанопорошков меди и кобальта на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантной системы крови крупного рогатого скота (коров). Работу проводили в личном подсобном хозяйстве «ТЛЕК» Астраханской области Приволжского района.

Для исследования было сформировано 2 группы коров черно-пестрой породы, по 10 гол. в каждой. Изучаемые соединения вводили в дозах 2 и 3 мг/кг массы тела, однократно внутримышечно. Кровь брали на 5-е и 10-е сутки. Объем вводимого соединения составлял до 10 мл.

Установлено, что концентрация диеновых конъюгатов после внутримышечного введения наносоединений на основе меди и кобальта в сыворотке крови коров на 5-е и 10-е сутки понизилась на 10,4 и 11,9 % соответственно относительно контроля ($9,53 \pm 0,31$ мкмоль/мл), рисунок 33.

Исходная концентрация малонового диальдегида в сыворотке крови коров составила $12,04 \pm 0,41$ ммоль/г. После введения искомый показатель понизился на 9,35 % ($11,01 \pm 0,31$ ммоль/г) на 5-е сутки и 15,2 % ($10,45 \pm 0,71$ ммоль/г) на 10-е сутки относительно контрольного значения (рисунок 34).

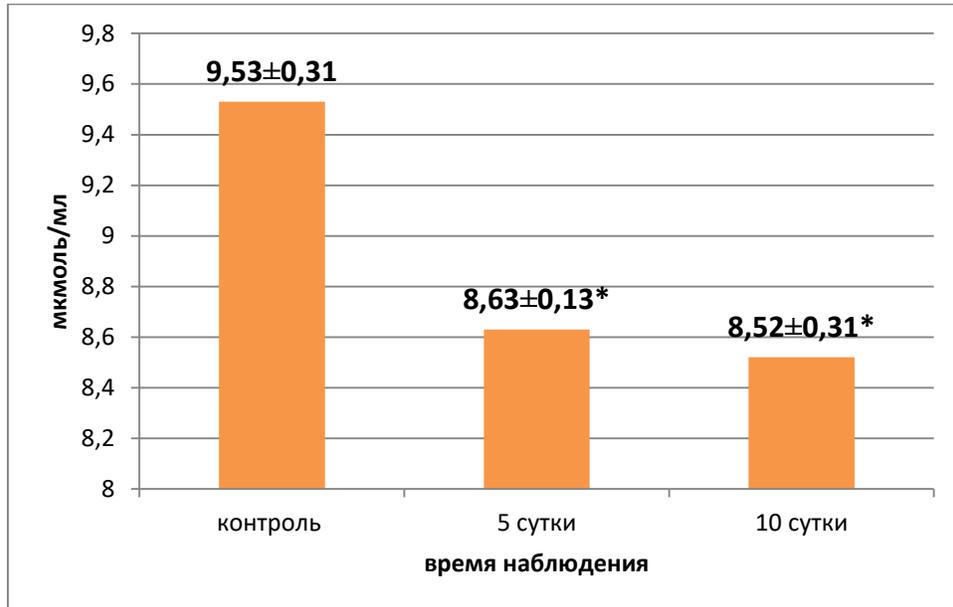


Рисунок 33 – Концентрация диеновых конъюгатов, мкмоль/мл, после внутримышечного введения наносоединений на основе меди и кобальта



Рисунок 34 – Концентрация малонового диальдегида, ммоль/г, после внутримышечного введения наносоединений на основе меди и кобальта

Активность каталазы на 5-е и 10-е сутки повысилась на 4,9 % ($19,87 \pm 1,04$ ммоль/л) и 15,3% ($21,83 \pm 1,83$ ммоль/л) относительно контроля (рис. 35).

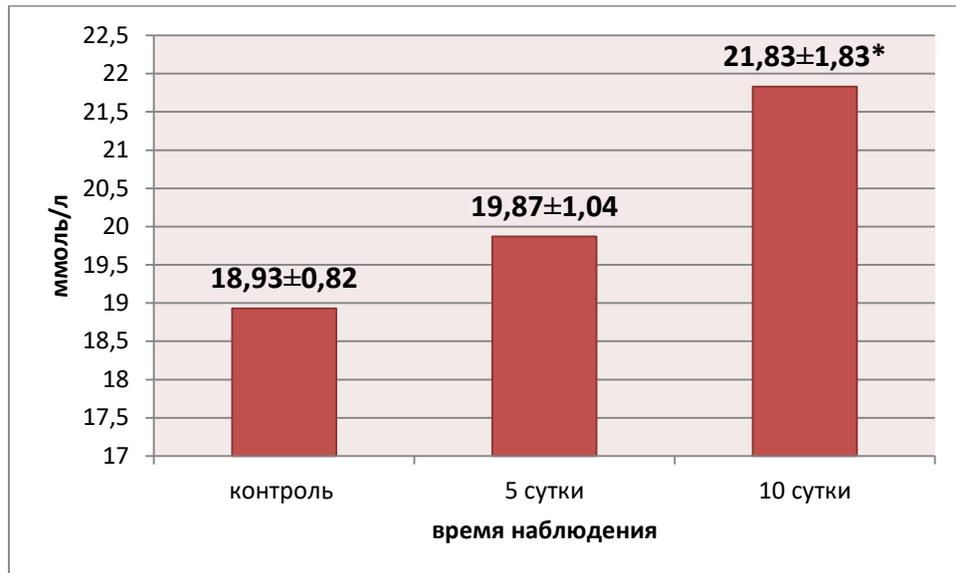


Рисунок 35– Активность каталазы, ммоль/л, после внутримышечного введения наносоединений на основе меди и кобальта

Таким образом, анализируя полученные результаты, можно констатировать, что изучаемое соединение вызывает ингибирование процессов перекисного окисления липидов, которое выражается в снижении уровня диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в сыворотке крови коров.

Также установлена активизация фермента каталазы в сыворотке крови коров.

Наибольший эффект после внутримышечного введения наносоединений на основе меди и кобальта достигается на 10-е сутки.

3.10 Экономическая эффективность применения минеральных наносоединений на основе меди и кобальта

Под экономической эффективностью в ветеринарной деятельности понимают сумму материальных (денежных) благ, полученную в результате

предотвращения и ликвидации в животноводческом комплексе падежа животных, также дополнительный доход за счет повышения продуктивности поголовья и качества продукции и экономии трудовых ресурсов при использовании новых эффективных средств профилактики и терапии.

При расчетах экономической эффективности использовали «Методику определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий», утвержденную Департаментом ветеринарии (Никитин И.Н., 1997).

При анализе экономической эффективности было доказано, что применение минеральных комплексов наносоединений на основе меди и кобальта благотворно влияет на состояние организма крупного рогатого скота, тонизируя физиологические процессы, ускоряя метаболизм, тем самым повышая продуктивность животных (мясо, молоко) (таблица 22).

Таблица 22 – Анализ экономической эффективности применения комплексных минеральных соединений меди и кобальта

Индикаторы экономической эффективности, руб.	Показатели (денежные эквиваленты) в расчете на 10 голов крупного рогатого скота
Затраты на ветеринарные препараты	3 150
Затраты на оплату труда ветеринарных специалистов	9 780
Совокупность ветеринарных затрат, связанных с проведением ветеринарных мероприятий	12 930
Экономический ущерб, предотвращенный в результате ликвидации болезни	45 600
Экономический эффект, полученный в результате проведения профилактических мероприятий	32 670
Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 руб. затрат	2,52

Экономическая эффективность применения данных наносоединений для профилактики, оздоровления и терапии гипомикроэлементозов животных довольно высока.

В ходе анализа экономических параметров действия инъекционных форм наноструктур хелатных соединений меди и кобальта было установлено, что экономический ущерб, предотвращенный в результате ликвидации болезни, составил

$$П_y = 10 (4,5-4,1) 190 * 60 = 45\ 600 \text{ руб.}$$

Экономический эффект, полученный в результате проведения профилактических мероприятий:

$$Э_п = 45\ 600 - 12\ 930 = 32\ 670 \text{ руб.}$$

Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат

$$Э_м = 32\ 670 : 12\ 930 = 2,52 \text{ руб.}$$

Формулы расчета экономической эффективности по Никитину И.Н.:

$П_y = M (B_3 - B_6) \times T_{ц}$ x продолжительность заболевания (дни);

$Э_п = П_y - З_в$;

$Э_м = Э_п : З_в$,

M – количество больных животных (изучаемых животных);

B_3 – средняя продуктивность здоровых животных;

B_6 – средняя продуктивность больных животных;

$T_{ц}$ – цена продукции за 1 кг;

$П_y$ – предотвращенный ущерб;

$Э_п$ – экономический эффект, руб.;

$З_в$ – затраты на ветеринарные мероприятия, руб.;

$Э_м$ - экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат.

Анализ данных таблицы 22 показал, что применение инфекционных форм нанопорошков меди и кобальта при расчете на 10 голов крупного рогатого скота черно-пестрой породы позволяет предотвратить экономический ущерб от снижения продуктивности животных (мясо, молоко) на сумму 32 670 руб.

Подводя итоги исследований, считаем доказанным, что применение комплексных минеральных соединений на основе хелатных соединений меди и кобальта при проведении лечебно-профилактических мероприятий при гипомикроэлементозах крупного рогатого скота показывает положительную экономическую эффективность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Макрорегион Астраханской области характеризуется дефицитными состояниями многих жизненно необходимых минеральных элементов [36–44, 52, 141, 147, 194]. Так, содержание меди в почвах и растениях Астраханской области варьируется в диапазоне дефицитных значений [5, 100, 112, 120]. Среднее количество данного микроэлемента в отобранных пробах почвы и растений составило $13,8 \pm 0,28$ и $5,72 \pm 0,68$ мг/кг, что является ниже физиологической нормы [5, 52, 112]. Концентрация меди в органах и тканях крупного рогатого скота черно-пестрой породы, содержащегося в биогеохимических условиях Астраханского региона, также понижена. Это свидетельствует о ненасыщенности данным микроэлементом кормовой базы животных вследствие слабой биомиграции меди из почвы в растения.

Медь в организме животных выполняет ряд приоритетных для жизнедеятельности функций: стимуляция эритропоэза, биосинтез гемоглобина, входит в состав скелета молодняка, катализирует процессы обмена веществ в клетках, тканях и органах [1, 2, 21, 40, 99]. Ее недостаток приводит к тяжелым последствиям, которые могут быть необратимы: разрушение красных кровяных телец, развитие анемии, поражения центральной и периферической нервной системы [60, 78, 136, 150].

При исследованиях количественного накопления кобальта в почвах и растительности макрорегиона Астраханской области также были зафиксированы его низкие соотношения в исследуемых образцах [37, 38, 40, 44, 52, 112]. Среднее содержание кобальта в почвах – $7,78 \pm 0,12$ мг/кг, а в растениях – $3,13 \pm 0,65$ мг/кг.

Кобальт влияет на кроветворные функции органов, ускоряет синтез гемоглобина и повышает связывание его с ионами железа. Кобальт входит в состав витамина В₁₂ и ускоряет его биосинтез, также участвует в метаболических превращениях в клетках и тканях, активируя ряд важных

ферментов [140]. При дефиците данного микроэлемента наблюдаются извращенное состояние аппетита, костная дистрофия, нарушения со стороны кровеносной системы и желудочно-кишечного тракта [140, 178].

Все вышесказанное свидетельствует о дефицитном состоянии биогенной миграции минеральных элементов в системе «почва – растения – животное». Это, в свою очередь, приводит возникновению незаразных и заразных болезней, что отрицательно сказывается на продуктивности животных и получаемой от них продукции, тем самым снижая уровень социально-экономического развития региона в целом [1, 2, 75, 88].

Инъекционные формы нанопорошков металлов меди и кобальта – это стерильные лекарственные формы, предназначенные для восполнения недостатка соединений меди и кобальта в организме животных.

Токсикологические исследования проводили на беспородных белых крысах массой 180–250 г.

При исследовании острой и хронической токсичности соединений было установлено, что введение минерального комплекса в инъекционной форме в дозе от 5 до 50 мг/кг не вызывало гибели животных. В интервале вводимых доз от 2 до 40 мг/кг у подопытных белых крыс проявлялись признаки интоксикации (заторможенное поведение, отсутствие реакции на внешние раздражители, тремор и затрудненное дыхание), которые проходили самостоятельно в течение 2–3 ч.

Изменения поведения белых крыс оценивали по результатам теста «Открытое поле». Полученные данные свидетельствуют о нарушении работы центральной нервной системы и поведенческой активности животных после введения минерального комплекса на основе нанопорошка меди и кобальта.

При изучении хронической токсичности нанопорошков меди и кобальта у белых крыс не наблюдалось негативных изменений в поведении. Движения были скоординированы, без признаков параличей, слизистые оболочки без

видимых патологий, розового цвета. Реакция на световые и звуковые раздражители у опытных животных была в норме. В начале опыта после введения исследуемых соединений была отмечена кратковременная потеря аппетита, но по истечении шести часов аппетит вернулся.

Результаты исследований и наблюдений за подопытными животными в течение 14 дней позволяют отнести разработанную инъекционную форму минерального соединения на основе нанопорошка меди и форму минерального соединения на основе нанопорошка кобальта к IV классу опасности и к группе малотоксичных веществ в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 [9,11,27].

Система крови является маркером адаптации организма к различным факторам как внешней, так и внутренней среды. Любой патологический процесс сопровождается сдвигами кровяных фракций в сторону понижения или повышения значений, что свидетельствует о локализации и этиологии чужеродного воздействия [35,128].

В ходе исследований было выявлено достоверное положительное влияние инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта на физиолого-морфологические и биохимические показатели периферической крови.

Отмечалось увеличение общего количества эритроцитов у белых крыс опытных групп. Количество эритроцитов при введении соединений в испытываемых дозах 10, 20, 30 и 40 мг/кг повышалось на 10,7; 12,3; 7,6 и 16,9 % соответственно относительно показателей контрольных особей. Максимальное увеличение количества эритроцитов было зафиксировано при введении инъекционных доз нанопорошков меди и кобальта в дозе 50 мг/кг, оно составило $7,9 \pm 0,3 \times 10^{12}/л$, что на 21,5 % больше контрольного значения.

Лейкоциты – белые клетки крови, которые содержат ядро. Благодаря своей способности к выходу из кровеносных сосудов в межтканевое пространство (положительному хемотаксису) могут заглатывать и разрушать

чужеродные антигены, тем самым купируя патологический процесс в организме [78,80,128].

С увеличением диапазона дозы введения нанопорошков меди и кобальта от 10 до 50 мг/кг было отмечено наличие лейкоцитоза – стойкого повышения количества лейкоцитов в кровеносном русле. Лейкоцитоз, вызванный действием испытуемых соединений, носит физиологический характер. Повышенное содержание лейкоцитов связано со стимуляцией лейкопоэза и перераспределением белых клеток крови из лимфатических узлов, селезенки и костного мозга. При этом изменений в лейкограмме у животных мы не наблюдали.

После введения изучаемого соединения в дозах 10, 20, 30 и 40 мг/кг количество лейкоцитов повысилось на 8,2; 24,6; 34,2 и 45,2 % соответственно относительно контроля. В дозе 50 мг/кг достигнуто максимальное увеличение содержания лейкоцитов в крови белых крыс под влиянием минеральных соединений наноконплексов меди и кобальта – $12,8 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$, что на 75,3 % выше контрольного значения данного параметра.

Кислород в крови циркулирует в двух состояниях – свободном и связанном с гемоглобином. Гемоглобин – сложный железосодержащий белок, который обеспечивает транспорт молекул кислорода от альвеол легких к тканям органов. Функции гемоглобина разнообразны: трофическая, иммуностимулирующая, стимулирует метаболизм в организме [35, 128, 150].

Понижение уровня гемоглобина указывает на серьезные функциональные изменения внутри организма, что свидетельствует о повышенном разрушении эритроцитов и гипоксии внутренних органов и тканей [128].

После введения изучаемого соединения в дозах 10, 20, 30 и 40 мг/кг уровень гемоглобина повысился на 17,1; 21,9; 20,7 и 26,7 % соответственно относительно контрольных показателей. При введении изучаемого соединения в дозе 50 мг/кг общее содержание гемоглобина в крови белых крыс было

достоверно выше контрольного значения, оно составило $140,6 \pm 0,7$ г/л, что на 29,4 % больше первоначальных замеров.

На основании вышесказанного можно сделать вывод о положительном влиянии исследуемых соединений на процессы кроветворения и поддержания системы гомеостаза организма в норме, а также на повышение количества содержания кровяных фракций в русле периферической крови, что обуславливает высокий иммунный ответ.

В ходе фармакотоксикологических и клинических исследований нанопрепаратов металлов было установлено стимулирующее воздействие данных соединений на углеводный, белковый и липидный уровень обмена веществ.

Об этом свидетельствует увеличение активности печеночного фермента АСТ при максимальной допустимой дозе в 35,1 %. Также зафиксировано повышение уровня фермента ЛГД при введении соединений в дозе 50 мг/кг на 30,2 % в сравнении с контролем.

При введении изучаемого соединения в интервале доз от 20 до 50 мг/кг активность щелочной фосфатазы повысилась на 6,1–44,2 % относительно контрольных животных. При введении инъекционной формы нанометаллов в дозе 10 мкг/кг достоверных различий в активности щелочной фосфатазы не установлено.

Повышение щелочной фосфатазы говорит о нарушении трансмембранных процессов в печени и возможности выхода глюкозы в кровь. Также было отмечено общее повышение концентрации общего белка в сыворотке крови на 14,8 % и повышение уровня мочевины на 21 % при максимальной дозе введения соединений.

Глюкоза – сложное полимерное соединение сахаров. Достаточно велика ее роль и функции в живом организме. Помимо главной составляющей энергетического обмена глюкоза также влияет на уровень обмена липидов и

белков, оказывает положительное действие на функциональную деятельность многих внутренних органов [97, 132, 135].

При введении инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта белым крысам достоверно доказано, что уровень содержания и активности глюкозы повышается в зависимости от вводимых доз. Так, например, при введении соединения в дозе 10 мг/кг уровень содержания глюкозы в крови повышается на 16,2 %, а при введении дозы 30 мг/кг – на 28,3 % относительно контрольных значений данного параметра.

Анализируя полученные результаты до применения соединений меди и кобальта и после опытных введений, можно отметить стойкое усиление окислительно-восстановительных тканевых процессов, повышение ферментативной активности ряда метаболитов, что благополучно отражается на функционировании как отдельных органов и систем, так и всего организма в целом.

Свободорадикальные процессы участвуют в клеточном и тканевом метаболизме, повышая уровень клеточного дыхания [28, 68, 115, 122]. В случае возникновения патологических процессов или изменений внутри организма наблюдается дисбаланс между антиоксидантной и прооксидантной системами (смещается в сторону второй), вследствие чего происходит бесконтрольное накопление радикальных элементов, приводящих к разрушению нормального функционирования клеточных структур, вплоть до некроза и полной гибели живой клетки [28, 112, 122, 172].

Антиоксидантная система защиты организма является ключевым фактором в протекании сложных гуморальных процессов. Любой патологический процесс сопровождается окислительным стрессом клеточных структур – развитием необратимых изменений [122, 160, 170, 172].

Сравнение показателей ПОЛ и антиоксидантной защиты в сыворотке крови до и после применения соединений меди и кобальта показало, что для

данных инъекционных форм характерны повышенные антиоксидантные свойства.

Первичными свободнорадикальными элементами при патологических процессах являются диеновые конъюгаты. Снижение концентрации диеновых конъюгатов в организме указывает на повышение показателей антиоксидантной защиты и прекращение патогенного процесса в клетках организма [28, 122].

Малоновый диальдегид – главный биомаркер оксидативного стресса в организме животного. Он образуется в результате биометаболизма полиненасыщенных жирных кислот [26, 131].

Каталаза – очень распространенный фермент, присутствующий почти во всех организмах, подвергающихся воздействию кислорода. Целью каталазы в живых клетках является защита их от повреждения, которое может произойти, когда клетки или другие молекулы в организме вступают в контакт с окислительными соединениями [28, 82]. Это повреждение является естественным результатом реакций, происходящих внутри клеток, вследствие образуются побочные продукты, вызывающие структурные повреждения клеток организма. Чтобы предотвратить такое повреждение, фермент каталаза помогает избавиться от этих соединений, расщепляя перекись водорода (H_2O_2) на безвредную воду и кислород [28, 68, 82, 122, 172].

При введении инъекционной формы нанопорошка на основе меди концентрация диеновых конъюгатов на 5-е сутки опыта достоверно снизилась на 4,03 % относительно контрольных значений, а на 10-е сутки введения соединения – на 7,96 %.

Количественное содержание малонового диальдегида при введении наносоединений меди белым крысам снижалось относительно контроля. В тканях печени и почек содержание МДА стало ниже на 13,1 и 22,6 % соответственно. Это свидетельствует о повышенном действии антиоксидантов в организме и усилении обменных процессов.

Влияние инъекционной формы нанопорошка кобальта показало неоднозначные результаты. На 5-е сутки исследований концентрация диеновых конъюгатов относительно контрольных значений увеличилась на 32,59 % ($12,49 \pm 0,09$ мкмоль/мл), что свидетельствует о развитии патологического процесса в клетках организма. На 10-е сутки наблюдали частичное возвращение изучаемого показателя к контрольным значениям ($10,18 \pm 0,12$ мкмоль/мл), что свидетельствует о завершении индукции окислительного стресса в организме белых крыс.

По результатам исследования можно наблюдать общее снижение ферментативной активности каталазы во всех органах и тканях белых крыс.

Анализируя фармакологическое действие инъекционных форм нанопорошков меди и кобальта на организм крупного рогатого скота чернопестрой породы, мы зафиксировали повышение уровня гемоглобина на 5-е и 10-е сутки на 10 и 7,2 % относительно контрольных значения.

Количество эритроцитов на 5-е и 10-е сутки относительно контроля также увеличилось на 7,4 и 6,1 % соответственно, а количество лейкоцитов – на 7 и 5,1 %.

Скорость оседания эритроцитов достоверно не изменилась.

При исследовании биохимических показателей наблюдали достоверное повышение лактатдегидрогеназы на 24,9 % относительно контрольных значений. Содержание общего белка по окончании опыта повысилось на 11,3 %, а содержание глюкозы – на 16,2 % в сравнении с показателями контрольных особей.

Процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантных превращений под действием наносоединений кобальта и меди имеют положительную динамику. Концентрация диеновых конъюгатов понизилось на 11,9 %. Уровень малонового диальдегида также повысился к окончанию опыта

на 15,2 % относительно контроля. Активность фермента каталазы на 5-е и 10-е сутки опыта увеличилась на 4,9 и 15,3 % соответственно.

Таким образом, инъекционные формы нанопорошков металлов на основе меди и кобальта являются биодоступными, эффективными в своем действии и их можно отнести к инновационным лекарственным препаратам [4, 9, 10, 11, 13, 14, 17, 18, 32, 89, 127, 134, 139, 175, 180].

ВЫВОДЫ

1. Полученные результаты позволяют отнести Астраханскую область к неблагоприятной биогеохимической провинции по содержанию меди и кобальта. Среднее содержание кобальта в почве и растениях составило $7,78 \pm 0,12$ и $3,13 \pm 0,65$ мг/кг, меди – $13,8 \pm 0,28$ и $5,72 \pm 0,68$ мг/кг. Среднее содержание кобальта в тканях крупного рогатого скота составило 1,76 мг/кг, меди – 15,3 мг/кг.

2. При подкожном и внутрижелудочном введении лабораторным животным соединения на основе наночастиц меди и кобальта не обладает токсическим эффектом и кожно-резорбтивным действием, но оказывает раздражающее действие.

3. Результаты фармакокинетических исследований показали, что наиболее эффективной для животных является доза 3 мг/кг массы тела. После введения изучаемых доз выделено три периода накопления действующего вещества в сыворотке крови: всасывания, максимальной концентрации и элиминации.

4. Экспериментально установлено, что соединения нанопорошков на основе меди и кобальта оказывают выраженное стимулирующее действие на процессы кроветворения, повышая уровень основных гематологических показателей в организме крупного рогатого скота: гемоглобина – на 10 и 7,2 %, эритроцитов – на 7,4 и 6,1 %, лейкоцитов – на 7,0 и 5,1 % соответственно на 5-е

и 10-е сутки относительно контроля. Установлено повышение количества эозинофилов на 11,8 %, палочкоядерных нейтрофиловна – на 10,3 % (5-е сутки), ЛДГ – на 24,2 % (5-е сутки) и 24,9 % (10-е сутки), мочевины – на 7,9 и 10,7 % (5-е и 10-е сутки) и общего белка – на 11,3 % (10-е сутки) относительно контроля.

5. Подкожное введение инъекционных форм нанопорошков металлов на основе меди и кобальта белым крысам и крупному рогатому скоту вызывает снижение количества диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, а также повышает ферментативную активность каталазы, что свидетельствует об усилении обменных процессов и подавлении оксидативного стресса в клетках организма.

6. Установлено, что концентрация диеновых конъюгатов после внутримышечного введения наносоединений на основе меди и кобальта в сыворотке крови коров на 5-е и 10-е сутки понизилась на 10,4 и 11,9 %, концентрация малонового диальдегида – на 9,35 и 15,2 % относительно контрольных значений. Активность каталазы на 5-е и 10-е сутки повысилась на 4,9 и 15,3 % относительно контроля.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. В ветеринарную практику предложено внедрить новые инъекционные формы минеральных наносоединений на основе меди и кобальта для проведения лечебно-профилактических мероприятий при гипомикроэлементозах крупного рогатого скота.

2. Для повышения уровня концентрации меди и кобальта в организме больных животных, а также для ингибирования процессов перекисного окисления рекомендуется вводить инъекционную форму минерального соединения в дозе 3 мг на 1 кг массы тела животного внутримышечно.

3. Результаты исследований внедрены в учебный процесс в ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» и в ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева».

4. Результаты исследований внедрены в производство крестьянско-фермерского хозяйства Ахмедовой Х.М. и государственного бюджетного учреждения Астраханской области «Приволжская районная ветеринарная станция».

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Проведенные исследования позволили более глубоко изучить механизм развития патологических процессов при дефиците минеральных элементов в окружающей среде, а также оценить терапевтическую эффективность инъекционных форм минеральных соединений на основе меди и кобальта для осуществления лечебно-профилактических мероприятий при гипомикроэлементозах животных.

Внедрение данных инновационных лекарственных соединений позволит более широко использовать их при лечении эндемических заболеваний и болезней нарушения обмена веществ, как у продуктивных, так и непродуктивных животных.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АОС – антиоксидантная система

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ДК – диеновые конъюгаты

МДА – малоновый диальдегид

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ЩФ – щелочная фосфатаза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдурахманов, Г. М. Экологические особенности содержания микроэлементов в организме животных и человека / Г. М. Абдурахманов, И. В. Зайцев. – М.: Наука, 2004. – 280 с.
2. Абрамов, С. С. Особенности обмена веществ у высокопродуктивных коров в разные физиологические периоды с биохимическими изменениями, характеризующими полиморбидную патологию / С. С. Абрамов, Е. В. Горидовец // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины". – 2011. – Т. 47. – № 1. – С. 141–143.
3. Абрамова, Т. В. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Т. В. Абрамова, Я. А. Гущин, М. А. Ковалева. – СПб.: Лема, 2013. – 116 с.
4. Абрамян, А. Н. Биоактивные наноконпоненты для медицины и сельского хозяйства / А. Н. Абрамян, В. А. Беклемышев, И. Н. Солодовников // Наноиндустрия. – 2007. – № 6. – С. 24–25.
5. Авдеева, Н. Н. Концентрация цинка, меди, марганца и кобальта в органах и тканях как индикатор обеспеченности ими рационов овец: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Авдеева Н. Н. – Ставрополь, 2000. – 24 с.
6. Авессаломова, И. А. Экологическая оценка ландшафтов / И. А. Авессаломова. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1992. – 89 с.
7. Алимов, А. М. Нанобиотехнология в ветеринарной медицине / А. М. Алимов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2010. – Т. 201. – С. 151–155.
8. Алимов, А. М. Эффективность комплексного препарата для профилактики и коррекции нарушений обмена веществ у свиней / А. М. Алимов, М. А. Алимов, Т. М. Галлеев // Современные проблемы и технологические инновации в производстве свинины в СНГ: материалы XX

Международ. науч. -практ. конф. по свиноводству. – Чебоксары, 2013. – С. 144–150.

9. Аляутдин, Р. Н. Рекомендации по оценке безопасности лекарственных средств, содержащих наночастицы / Р. Н. Аляутдин, Б. К. Романов // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2015. – № 5. – С. 10–21.

10. Андреева, А. В. Эффективность использования железодекстрановых препаратов для профилактики анемии поросят / А. В. Андреева, И. Р. Муллаярова // Ветеринария. – 2016. – № 3. – С. 120–122.

11. Андреева, Л. Н. Побочное действие лекарственных средств и фармакокоррекция лекарственных отравлений / Л. Н. Андреева // Клиническая фармакология / под ред. В. Д. Соколова. – М.: Колос, 2002. – С. 64–120.

12. Андросова, Л. Ф. Нормирование кобальта в рационах коров на Сахалине // Зоотехния. – 2005. – № 1. – С. 202–214.

13. Андрусишина, И. Н. Структура, свойства и токсичность наночастиц оксидов серебра и меди / И. Н. Андрусишина, И. А. Голуб, Г. Г. Дидикин // Биотехнология. – 2011. – Т. 4. – № 6. – С. 51–59.

14. Антипов, В. А. Перспективы применения природных алюмосиликатных минералов в ветеринарии / В. А. Антипов, М. П. Семенов, А. С. Фонтанецкий, Л. А. Матюшевский // Ветеринария. – 2007. – № 8. – С. 54–57.

15. Антонов, Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии: химико-токсикологические методы / Б. И. Антонов, В. И. Федотова, Н. А. Сухая. – М.: Агропромиздат, 1989. – С. 274–277.

16. Арсанукаев, Д. Л. Метаболизм различных форм микроэлементов в организме молодняка крупного рогатого скота и овец: автореф. дис. ... д-ра. вет. наук / Арсанукаев Д. Л. Тверь, 2006. – 48 с.

17. Аттестация и применение наночастиц металлов в качестве биологически активных препаратов / И. П. Арсентьева [и др.] // Нанотехника. Спец. выпуск «Нанотехнологии – медицине». – 2007. – №2 (10). – С. 72–77.

18. Арсентьева, И. П. Применение наночастиц металлов в качестве биологически активных препаратов в сельском хозяйстве и медицине / И. П. Арсентьева, Е. С. Зотова, Н. Н. Глущенко // Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация для нанотехнологий, техники и медицины: материалы V Междунар. науч. конф. – Иваново, 2008. – С. 26–33.

19. Архипов, А. В. О некоторых актуальных аспектах минерального питания животных / А. В. Архипов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015. – № 3. – С. 38–48.

20. Афанасьев, К. А. Нарушение минерального обмена веществ у коров / К. А. Афанасьев // Молодежь – Барнаулу: материалы XVIII городской науч.-практ. конф. молодых ученых. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2017. – С. 245–248.

21. Бабин, Я. А. Микроэлементы и их физиологическое значение / Я. А. Бабин. Саратов, 1983. – 156 с.

22. Бабушкина, И. В. Наночастицы металлов в лечении экспериментальных гнойных ран / И. В. Бабушкина // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – Т. 7. – № 2. – С. 530–533.

23. Бектимиров, Т. В. Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных, птиц и рыб / Т. В. Бектимиров, Р. М. Бисенгалиев, А. Е. Усенбаев, А. А. Жанабаев // Материалы Национальной науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию зоотехнического факультета ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова. – Саратов, 2020. – С. 21–23.

24. Битюцкий Н.П. Микроэлементы и растение: учеб. пособие / Н. П. Битюцкий. СПб., 1999. – 232 с.

25. Битюцкий, Н. П. Необходимые микроэлементы растений / Н. П. Битюцкий. – СПб.: ДЕАН, 2005. – 256 с.
26. Богачева, Е. В. Определение концентрации малонового диальдегида в сыворотке крови крыс, облученных электромагнитным полем метрового диапазона / Е. В. Богачева, В. В. Алабовский, С. Ю. Петров // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. – Саратов, 2016. – С. 12–17.
27. Богославская, О. А., Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных / О. А. Богославская, Е. А. Сизова, В. С. Полякова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2009. – № 2. – С. 124–127.
28. Бузлама, В. С. Активные формы кислорода, антиоксиданты, адаптогены / В. С. Бузлама // Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж, 2004. – С. 183–186.
29. Бузлама, В. С. Экспресс-Биотест. Биологический мониторинг экологических систем / В. С. Бузлама, Ю. Т. Титов, Г. А. Востроилова, Ю. Е. Ващенко. – Воронеж, 1997. – 12 с.
30. Васильева, Е. А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных / Е. А. Васильева. М.: Агропромиздат, 2000. – 359 с.
31. Ветров, В. А. Микроэлементы в природных средах региона озера Байкал / В. А. Ветров, А. И. Кузнецова. Новосибирск: Изд-во СО РАН НИЦ ОИГГМ, 1999. – 234 с.
32. Волков, С. В. Нанохимия. Наносистемы. Наноматериалы / С. В. Волков, Э.П. Ковальчук, О.В. Решетняк. – К.: Наука, 2008. – 424. – С. 3
33. Волыхина, В. Е. Супероксиддисмутазы: структура и свойства / В. Е. Волыхина, Е. В. Шафрановская // Вестник ВГМУ. – 2009. – Т. 8. – № 4. – С. 1–18.

34. Воробьев, В. И. Биогеохимия и рыбоводство / В. И. Воробьев. – Саратов: МП Литера, 1993. – 224 с.
35. Воробьев, В. А. Руководство по гематологии / А. И. Воробьев, Ю. Н. Андреев, З. С. Баркаган, А. Ю. Буланов. – М.: Ньюдиамед, 2005. – 413 с.
36. Воробьев, В. И. Физиологические аспекты минерального обмена у симментальских коров, разведенных в экологических условиях низкого уровня Se, I и Co в окружающей среде и кормах Нижней Волги / В. И. Воробьев, Д. В. Воробьев // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 8. – С. 770–864.
37. Воробьев, В. И. Обмен минеральных веществ у животных / В. И. Воробьев // Астрахань: ООО ЦНТЭБ, 2009. – 216 с.
38. Воробьев, Д. В. Разработка физиолого-биогеохимической парадигмы как теоретической основы применения микроэлементов в животноводстве региона Нижней Волги / Д. В. Воробьев, В. И. Воробьев, Д. В. Хисметов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 11 (Ч. 1). – С. 66–69.
39. Воробьев, Д. В. Биогенная миграция металлов в экосистемах Западно-подстепных ильменей Астраханской области / Д.В. Воробьев, В.И. Воробьев // Современные аспекты экологии и экологического образования: докл. 1-й Междунар. науч. конф. Федерального Агентства по образованию РФ, 16–19 мая 2007. – Астрахань, 2007. – С. 42–48.
40. Воробьев, Д. В. Физиологическая характеристика метаболизма Fe, Cu, Mn, Zn, Co и Se, его коррекция у свиней в онтогенезе в биогеохимических условиях Нижней Волги / Д. В. Воробьев. – СПб.: ЛАНЬ, 2010. – 141 с.
41. Воробьев, Д. В. Физиологическая характеристика метаболизма различных видов животных и корма при скрытых формах гипомикроэлементозов: автореф. дис. ... д-ра вет. наук / Воробьев Д. В. – Астрахань, 2013. – 34 с.

42. Воробьев, Д. В. Физиологические и биогеохимические основы применения минеральных добавок в животноводстве региона Нижней Волги / Д. В. Воробьев, В. И. Воробьев, Л. И. Ульихина. Астрахань, 2009. – 96 с.

43. Воробьев, Д. В. Физиологический механизм влияния недостающих в среде микроэлементов на метаболизм и продуктивность жвачных и всеядных животных / Д. В. Воробьев. – СПб.: ЛАНЬ, 2013. – 280 с.

44. Воробьев, Д. В. Функциональные особенности метаболизма микроэлементов у коров в биогеохимических условиях дельты р. Волги / Д. В. Воробьев, Л. Н. Лапшина. Астрахань, 2010. – 213 с.

45. Георгиевский, В. И. Минеральное питание животных / В. И. Георгиевский, Б. Н. Анненков. – М.: Колос, 1979. – 471 с.

46. Геохимия ландшафтов. К 100-летию со дня рождения Александра Ильича Перельмана / Н. С. Касимов [и др.] ; под ред. Н. С. Касимова, А. Н. Геннадиева. – М., 2017. – 544 с.

47. Глухова, М. В. Оценка антибактериальной активности и токсичности нового наноструктурного препарата скай-форс / М. В. Глухова, И. П. Погорельский, М. Б. Тарасов // Международный научный журнал «Символ науки». – 2015 – С. 215–219.

48. Глущенко, Н. Н. Изменение содержания природных антиоксидантов и активности антиоксидантных ферментов при введении цинка / Н. Н. Глущенко, О. А. Богословская, И. П. Ольховская // Вестник РУДН. Серия Медицина. – 2000. – № 2. – С. 75–79.

49. Глущенко, Н. Н. Сравнительная токсичность солей и наночастиц металлов и особенности их биологического действия / Н. Н. Глущенко, О. А. Богословская, И. П. Ольховская // Известия Академии промышленной экологии. – 2006. – № 3. – С. 46–47.

50. Глущенко, Н. Н. Токсичность наночастиц цинка и его биологические свойства / Н. Н. Глущенко, А. В. Скальный // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2010. – № 3(21). – С. 118–121.

51. Горидовец, Е. В. Особенности обмена веществ у высокопродуктивных коров с клиническими признаками остеодистрофии в разные физиологические периоды / Е. В. Горидовец // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2011. – Вып. 14. – Ч. 2. – С. 114–121.

52. Гундарева, А. Н. Биогенная миграция меди, цинка и марганца в наземных экосистемах Астраханской области: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / Гундарева А. Н. – Астрахань, 2006. – 24 с.

53. Давыдова, М. Н. Природные микроэлементы – антиоксиданты в кормах / М. Н. Давыдова // Кооперация науки и общества – путь к модернизации и инновационному развитию: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Стерлитамак, 2020. – С. 144–145.

54. Денисова, О. Ф. Исследование биологической активности медного хелата при экспериментальной постгеморрагической анемии белых крыс // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2015. – № 4. – С. 118–122.

55. Денисова, О. Ф. Эффективность применения тирозината меди для профилактики железодефицитной анемии поросят / О.Ф. Денисова, Е. В. Слесарева, А. А. Сологуб // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2015. – № 4. – С. 118–122.

56. Дерябина, Т. Д. Оценка безопасности ионов нано- и микрочастиц железа и меди в тесте прорастания семян *Triticum aestivum* / Т. Д. Дерябина // Вестник государственного Оренбургского университета. – 2011. – № 12. – С. 386–389.

57. Изменение биохимических показателей сыворотки крови у лабораторных животных при введении наночастиц металлов per os: дис. ... канд. биол. наук / Дудакова Ю. С. – Ростов н/Д, 2012. – 175 с.
58. Дускаев, Г. К. Влияние тяжелых металлов на организм животных и окружающую среду обитания (обзор) / Г. К. Дускаев, С. А. Мирошников, Е. А. Сизова, С. В. Лебедев // Вестник мясного скотоводства. – 2014. – № 3 (86). – С. 7–11.
59. Дьяков, М. И. Минеральное питание сельскохозяйственных животных / М. И. Дьяков, Ю. В. Голубенцова. – М., 1987. – 315 с.
60. Жаров, А. В. Патология обмена веществ у высокопродуктивных животных / А. В. Жаров, Ю. П. Жарова // Ветеринария. – 2012. - № 9. – С. 46-50.
61. Жолнин, А. В. Комплексные соединения. Челябинск: ЧГМА, 2000. – 28 с.
62. Зенков, Н. К. Окислительный стресс / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньшикова. М.: Наука, 2001. – 342 с.
63. Зиятдинова, Г. К. Оценка интегральной антиоксидантной емкости плазмы крови по ее реакции с супероксидным анион-радикалом / Г. К. Зиятдинова, Г. К. Будников, В. И. Погорельцев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 12–15.
64. Зухрабов, М. Г. Состояние минерального обмена у высокопродуктивных коров: монография / М. Г. Зухрабов, С. Р. Юсупов, З. М. Зухрабова. – Казань: Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана, 2011. – 110 с.
65. И. И. Моргулис, Р. Г. Современные проблемы медицины, биологическая роль кобальта // Молодой ученый. – 2019. – № 5 (243). – С. 42–46.

66. Кабешев, Б. О. Нанотехнологии и их возможности / Б. О. Кабешев, Д. Н. Бонцевич, С. М. Мордак // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 3. – С. 145–149.
67. Кабиров, Г. Ф. Использование хелатных форм микроэлементов в животноводстве: монография / Г. Ф. Кабиров, Г. П. Логинов, Н. З. Хазипов. – Казань: Изд-во ФГОУ ВПО «КГАВМ», 2005. – 298 с.
68. Казьмин, В. Д. Лечение кислородом и микроэлементами. Селен, кремний, йод, железо / В. Д. Казьмин. – М.: Феникс, 2005. – 160 с.
69. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М.: МЕДпрессинформ, 2009. – 896 с.
70. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2002. – 2 т.
71. Карпищенко, А. И. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник / А. И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – 656 с.
72. Каширина, Л. Г. Влияние кобальта в наноразмерной форме на физиологические и биохимические процессы в организме кроликов / Л. Г. Каширина, С. А. Деникин // Вестник Краснодарского государственного аграрного университета. – 2014. – № 4. – С. 203–207
73. Киреев И.В. Клинико-терапевтическое обоснование фармакокоррекции системы антиоксидантной защиты организма сельскохозяйственных животных: дис. ... д-ра биол. наук / Киреев И.В. – Ставрополь, 2020. – 500 с.
74. Коваленок, Ю. К. Влияние хелатов кобальта, цинка, меди и железа на организм лабораторных животных и крупнорогатого скота / Ю. К. Коваленок // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2011. – Вып. 1. – С. 139–149.

75. Ковальский, В. В. Проблемы биогеохимии микроэлементов и геохимической экологии / В. В. Ковальский // Избранные труды; отв. ред. Л. К. Эрнст. – М.: Россельхозакадемия, 2009. – 357 с.
76. Ковзов, В. В. Диагностика нарушения обмена веществ у высокопродуктивных коров / В. В. Ковзов // Ученые записки УО ВГАВМ. – 2007. – Т. 43. – Вып. 1. – С. 109–111.
77. Кондрахин, И. П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / И. П. Кондрахин. – М.: Агропромиздат, 2004. – 342 с.
78. Кондрахин, И. П. Внутренние незаразные болезни животных / И. П. Кондрахин. – М.: КолосС, 2005. – 461 с.
79. Кондрахин, И. П. Метаболические диагностические маркеры при внутренних болезнях животных / И. П. Кондрахин // Научный вестник ветеринарной медицины. – 2010. – Вып. 5(78). – С. 14–19.
80. Кондрахин, И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: Справочник / И. П. Кондрахин, А. В. Архипов, В. И. Левченко, Г. А. Таланов, А. А. Фролов, В. Э. Новиков; под ред. И. П. Кондрахина. – М.: Колос, 2004. – 520 с.
81. Коноводова, Е. Н. Эритропоэтин у плода и новорожденного / Е. Н. Коноводова // Акушерство и гинекология. – 2004. – № 1. – С. 13–16.
82. Королюк, М. А. Методы определения активности каталазы / М. А. Королюк // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – 40 с.
83. Корочкина, Е. А. Влияние микроэлементов цинка, кобальта, йода, селена, марганца, меди на здоровье и продуктивные качества животных / Е. А. Корочкина // Генетика и разведение животных. – 2016. – № 3. – С. 69–73.
84. Коршаков, П. Н. Влияние кобальта на эффективность использования кормов и на качество продукции животноводства: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / Коршаков П. Н. – Воронеж, 1988. – 24 с.

85. Кузнецов, С. В. Микроэлементы в кормлении животных / С. В. Кузнецов, А. С. Кузнецов // Животноводство России. – 2003. – № 3. – С. 16–18.
86. Кузьминова, Е. В. Применение биологически активных веществ для нормализации обменных процессов у животных / Е. В. Кузьминова, М. П. Семенов // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 11. – С. 80–83.
87. Куликова, М. С. Сравнение токсичности растворов сульфатов меди и цинка и растворов различных хелатных комплексных соединений данных микроэлементов / М. С. Куликова // Современная ветеринарная наука: теория и практика. – 2020. – С. 79–83.
88. Кучинский, М. П. Биоэлементы – фактор здоровья и продуктивности животных: монография / М. П. Кучинский. – Минск: Бизнесофсет, 2007. – 372 с.
89. Ларина, Ю.В. Морфологическое обоснование и фармакотоксикологическая оценка применения новых селеноорганических кормовых добавок для повышения продуктивности животных: дис. ... д-ра ветеринарных наук / Ларина Ю.В. – Казань, 2021. – 367 с.
90. Леонов, К. В. Динамика показателей естественной резистентности у коров при различных патологиях воспроизводства / К. В. Леонов, А. К. Гулянский // Актуальные проблемы обеспечения устойчивого развития животноводства Южного федерального округа: материалы дистанционной науч.-практ. конф. – Новочеркасск, 2006. – С. 26–28.
91. Лонин, С. И. Влияние макро- и микроэлементов на продуктивность сельскохозяйственных животных / С. И. Лонин. Пермь: Коми-Пермяцкое кн. изд-во «Куцымкар», 2001. – 86 с.
92. Лукин, С. В. Мониторинг содержания микроэлементов Zn, Cu, Mo, Co, Pb, Cd, As, Hg в пахотных чернозёмах юго-запада Центрально-Черноземной зоны / С. В. Лукин // Агрехимия. – 2012. – № 11. – С. 52–59.

93. Матюшевский, Л. А. Фармакология и применение препаратов кремния в животноводстве: дис... д-ра биол. наук / Матюшевский Л. А. – Краснодар, 2004. – 297 с.

94. Медетханов, Ф. А. Изучение подострой (субхронической) токсичности и кумулятивных свойств комплексного средства на основе растительного сырья / Ф. А. Медетханов, Ю. В. Ларина, Д. П. Хадеев // Ученые записки КГАВМ. – 2018. – Т. 236 (IV). – С. 130–134.

95. Медетханов, Ф. А. Изучение острой токсичности средства из растительных компонентов на белых крысах / Ф. А. Медетханов, К. В. Муравьева, Д. П. Хадеев // Ученые записки КГАВМ, 2017. Т. 231 (III). – С. 97–99.

96. Методические рекомендации по определению общего экономического эффекта от использования результатов научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ в Агропромышленном комплексе. – М.: РАСХН, 2007. – 12 с.

97. Мишанин, А. Ю. Эссенциальные микроэлементы – как активаторы синтеза белков и ферментов / А. Ю. Мишанин, Г. М. Рашидова, Т. Ю. Хворостова // Инновационные технологии, оборудование и добавки для переработки сырья животного происхождения: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Краснодар, 2018. – С. 94–97.

98. Мищенко, В. А. Анализ нарушения обмена веществ у высокоудойных коров / В. А. Мищенко, А. В. Мищенко. Курск: Управление ветеринарии Курской области, 2012. – С. 77–81.

99. Молотиллов, К. Я. Минеральные добавки, используемые в животноводстве / К. Я. Молотиллов // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2008. – № 11. – С. 60–66.

100. Мосина, Л. В. Новые подходы к оценке антропогенных воздействий в экосистемах с использованием биоиндикаторов: тезисы докл. II съезда почвоведов / Л. В. Мосина. – СПб., 2002. – С. 40–41.

101. Мязин, Н. Г. Система удобрения: учебное пособие. – Воронеж: ФГОУ ВПО ВГАУ, 2009. – 350 с.

102. Неустроев, М. П. Профилактика нарушений обмена веществ коров в условиях Якутии / М. П. Неустроев, И. С. Третьяков, Н. П. Тарабукина, И. И. Трофимов // Ветеринария. – 2013. – № 12. – С. 52–54.

103. Общая гидрогеология: учебник для студентов и магистрантов высших учебных заведений, обучающихся по направлениям подготовки «Геология» и «Прикладная геология» / С. Л. Шварцев; Федеральное агентство по образованию, Гос. образовательное учреждение нац.-исслед. Томский политехнический ун-т. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Альянс, 2012. – 600 с.

104. Оробец, В. А. Фармакокоррекция метаболических процессов у высокопродуктивных животных / В. А. Оробец, И. В. Киреев, О. И. Севастьянова // Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу: материалы 85-й Междунар. науч.-практ. конф. – Владикавказ, 2020. – С. 314–321.

105. Осинский, С. Селективность действия редоксактивных комплексов кобальта (III) на опухолевую ткань / С. Осинский, И. Левитин, Л. Бубновская // Экспериментальная онкология. – 2004. – Т. 26. – № 2. – С. 18–24.

106. Павлов, Г. В. Биологическая активность ультрадисперсных порошков / Г. В. Павлов, Г. Э. Фолманис. – М.: Исследовательский центр проблем качества подготовки специалистов, 1999. – 78 с.

107. Паничкин, Л. А. Использование нанопорошков металлов для предпосевной обработки семян сельскохозяйственных культур / Л. А. Паничкин, А. П. Райкова // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2009. – Вып. 1. – С. 59–65.

108. Перельман, А. И. Геохимия ландшафта / А. И. Перельман, Н. С. Касимов. – М., 1999.
109. Побилат, А. Е. Особенности содержания селена в системе почва – растение (обзор) / А. Е. Побилат, Е. И. Волошин // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2020. – № 11. – С. 164.
110. Позов, С. А. Микроэлементы: естественная резистентность, продуктивность и развитие животных / С. А. Позов, В. А. Порублев, В. В. Родин, Н. Е. Орлова // Ветеринарный врач. – 2015. – № 3. – С. 57–60.
111. Полковниченко, А. П. Физиологические показатели функционального состояния крупного рогатого скота в биогеохимических условиях дельты р. Волги: автореф. дис. ... канд. вет. наук / Полковниченко А. П. – Астрахань, 2009. – 24 с.
112. Протасова, Н. А. Микроэлементы (Cr, V, Ni, Mn, Zn, Cu, Co, Ti, Zr, Ga, Be, Sr, Ba, B, I, Mo) в черноземах, серых лесных почвах Центрального Черноземья / Н. А. Протасова, А. П. Щербаков. – Воронеж: Изд-во Воронеж, гос. ун-та, 2003. – 368 с.
113. Пудовкин, Н. А. Влияние препарата суиферровита на динамику распределения и накопления железа / Н. А. Пудовкин // Ученые записки Казанской государственной сельскохозяйственной академии им. Н.Э. Баумана. – 2014. – № 8. – С. 224–227.
114. Пудовкин, Н. А. Обмен железа в организме поросят и пути его коррекции / Н.А. Пудовкин, Т. В. Гарипов // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2015. – № 2 (124). – С. 49–53.
115. Пудовкин, Н. А. Свободнорадикальные процессы в организме разных видов животных и пути их коррекции железом - и селенсодержащими препаратами: дис. ... д-ра биол. наук / Пудовкин Н. А. – Казань, 2015. – 291 с.

116. Родионова, Т. Н. Некоторые аспекты действия селеноорганического препарата ДАФС-25 / Т. Н. Родионова, В. Ю. Васильев // Тез. докл. XVII съезда физиологов России. – Ростов н/Д, 1998. – 214 с.

117. Родионова, Т. Н. Фармакодинамика селеносодержащих препаратов и их применение в животноводстве: автореф. дис. ... д-ра вет. наук / Родионова Т. Н. – Краснодар, 2004. – 48 с.

118. Родионова, Т. Н. Фармакология селеноорганического препарата ДАФС-25 и его использование в животноводстве и ветеринарии / Т. Н. Родионова, В. А. Артипов, В. Г. Лазарев. – Саратов: ИЦ «Наука», 2010. – 241 с.

119. Романова, А. П. Особенности применения наноразмерных форм микроэлементов в сельском хозяйстве (обзор) / А. П. Романова, В. В. Титова, А. М. Макаева // Животноводство и кормопроизводство. – 2018. – № 2. – Т. 101. – С. 237–249.

120. Рубин, В. Д. Содержание микроэлементов в различных типах почв и кормовых растениях Ставропольского края / В. Д. Рубин // Роль микроэлементов в сельском хозяйстве: материалы межвузовского совещания по микроэлементам. – М., 1999. – С. 23–24.

121. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с.

122. Рябыкина, Н. В. Возрастная динамика свободнорадикальных процессов у самцов крыс при введении антиоксидантов и в условиях стресса // Молодой ученый. – 2020. – № 23 (313). – С. 68–73.

123. Самохин, В. Т. Профилактика нарушения обмена микроэлементов у животных / В. Т. Самохин. – Воронеж, 2003. – 136 с.

124. Сапего, В. И. Профилактика нарушения обмена веществ у телят микроэлементами / В. И. Сапего, С. И. Плященко, Е. В. Берник // Ветеринария. – 2005. – № 3. – С. 46–51.

125. Семененко, М. П. Болезни минеральной недостаточности у сельскохозяйственных животных: лечение и профилактика: методические рекомендации / М. П. Семененко, Е. В. Кузьмина, А. Н. Трошин, А. Х. Шантыз. – Краснодар, 2016.

126. Сизова, Е. А. Некоторые биохимические и морфологические показатели крови при введении в организм наночастиц меди / Е. А. Сизова, Е. А. Русакова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. – № 10. – С. 308–309.

127. Сизова, Е. А. О перспективности нанопрепаратов на основе сплавов микроэлементов-антагонистов (на примере Fe и Co) / Е. А. Сизова, С. А. Мирошников, С. В. Лебедев // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – № 4. – Том 51. – С. 553–562.

128. Симонян, Г. А. Ветеринарная гематология / Г. А. Симонян, Ф. Ф. Хисамутдинов. – М.: Колос, 1995. – С. 84.

129. Скальный, А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, М. А. Рудаков. – М.: Издательский дом «Оникс 21 век», 2004. – 272 с.

130. Соколов, О. А. Атлас распределения тяжёлых металлов в объектах окружающей среды / О. А. Соколов, В. А. Черников, С. В. Лукин. – 2-е изд., доп. – Белгород: КОНСТАНТА, 2008. – 188 с.

131. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–67.

132. Степанова, И. А. Показатели минерального и липидного обмена сельскохозяйственных животных при введении в рацион нанопорошков металлов: дис. ... канд. биол. наук / Степанова И. А. – Рязань, 2018. – 158 с.

133. Таганович, А. Д. Патологическая биохимия / А. Д. Таганович, Э. И. Олецкий, И. Л. Котович. – М.: Бином, 2013. – 448 с.

134. Тарасов, М. Б. Нанопрепараты для животноводства и птицеводства / М. Б. Тарасов // Наноиндустрия. Научно-технический журнал. – 2012. – № 4 (34). С. 54–56.
135. Ткачук, В. А. Клиническая биохимия / под. ред. В. А. Ткачука. – М.: Геотар-Мед, 2004. – 514 с.
136. Уразаев, Н. А. Эндемические болезни сельскохозяйственных животных / Н. А. Уразаев, В. Я. Никитин, А. А. Кабыш. – М.: Агропромиздат, 1990. – 271 с.
137. Уша, Б. В. Перспективность различных направлений нанобиотехнологии для ветеринарии / Б. В. Уша, А. А. Концевова, А. М. Смирнов // Ветеринария. – 2012. – № 2. – С. 53–55.
138. Фисинин, В. И. Мировое животноводство будущего: роль, проблемы и пути развития / В. И. Фисинин, С. В. Черепанов // Птица и птицепродукты. – 2012. – № 5. – С. 12–15.
139. Фолманис, Г. Э. Ультрадисперсные металлы в сельскохозяйственном производстве / Г. Э. Фолманис, Л. В. Коваленко. – М.: ИМЕТ РАН, 1999. – 80 с.
140. Хапалюк, А. В. Витамин В12: биологическое значение, патогенетические механизмы и клинические проявления витаминной недостаточности / А. В. Хапалюк // Лечебное дело: научно-практический терапевтический журнал. – 2019. – № 4. – С. 17–23.
141. Хисметов, И. И. Физиолого-биогеохимическая характеристика основных компонентов наземных экосистем Астраханской области / И. И. Хисметов, Д. В. Воробьев // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2 (Ч. 16). – С. 3539–3543.
142. Чекман, И. Нанотехнологии и наноэтика: инновационные приоритеты / И. Чекман, Я. Яскевич // Наука и инновации. – 2012. – № 12 (118). – С. 60–65.

143. Черных, Н. А. Экотоксикологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами / Н. А. Черных, Н. З. Милащенко, В. Ф. Ладонин. – М.: Агроконсалт, 1999. – 176 с.

144. Чурилов, Г. И. Экологические аспекты действия нанокристаллической меди на систему «почва-растения-животные» / Г. И. Чурилов // Вестник Самарского государственного университета. – 2009. – № 6 (72). – С. 206–212.

145. Шабунин, С. В. Перспективы развития инновации в ветеринарной фармакологии / С. В. Шабунин // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2017. – № 1(1). – С. 7–11.

146. Шеуджен, А. Х. Биогеохимия / А. Х. Шеуджен. – Майкоп: ГУ-РИПП «Адыгея», 2003. – 1028 с.

147. Шишкин, А. Г. Состояние животноводства и перерабатывающей промышленности продукции животноводства Астраханской области / А. Г. Шишкин // Перспективы производства кормов в условиях аридной зоны Российской Федерации: сб. науч. ст.; под общ. ред. М. Ю. Пучкова, Д. С. Кардалиева. – Астрахань, 2015. – С. 5–11.

148. Шкуратова, И. А. Микроэлементозы животных // Актуальные вопросы биологии, экологии и ветеринарной медицины домашних животных: сб. ст. – Тюмень, 2002. – С. 136–141.

149. Шкуратова, И. А. Коррекция нарушений обмена веществ и воспроизводительной функции коров / И. А. Шкуратова, М. В. Ряпосова, А. Н. Стуков, В. Н. Невинный // Ветеринария. – 2007. – № 9. – С. 9–11.

150. Щербаков, Г. Г. Внутренние болезни животных / Г. Г. Щербаков. – СПб.: Лань, 2002. – 736 с.

151. Юмашев, Н. П. Почвы Тамбовской области / Н. П. Юмашев, И. А. Трунов. – Мичуринск - Научоград РФ: Изд-во Мичурин. гос. агр. ун-та, 2006. – 216 с.

152. Яушева, Е. В. Использование наночастиц металлов-микроэлементов в животноводстве: перспективы и угрозы (обзор) // Животноводство и кормопроизводство. – 2013. – Т. 3. – №. 81. – С. 7–11.
153. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Selenium. U.S.// Department of Health and Human Services. September. 2003.
154. Amara, I. B. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats / I. B. Amara, N. Soudani, A. Troudi, H. Bouaziz, T. Boudawara & N. Zeghal // Ecotoxicology and environmental safety. – 2011. – No.74 (4). – P. 811–819.
155. Andrievsky, G. V. Peculiarities of the antioxidant and radioprotective effects of hydrated C60 fullerene nanostructures in vitro and in vivo / G. V. Andrievsky, V. I. Bruskov, A. A. Tykhomirov [et al.] // Free Radical Biology & Medicine. – 2009. – Vol. 47. – P. 786–793.
156. Arredondo, M. Inhibition of iron and copper uptake by iron, copper and zinc / M. Arredondo, R. Martínez, M. Ruz [et al.] // Biological research. – 2006. – No. 39. – P. 95–102.
157. Arthington, J. D. Effect of injectable trace minerals on the humoral immune response to multivalent vaccine administration in beef calves / J. D. Arthington, L. J. Havenga // J Anim Sci. – 2012. – No. 90. – P. 1966–1971.
158. Balshaw, D. M. Research strategies for safety evaluation of nanomaterials. Part III. Nanotechnology for assessment in risk management to improve public health / D. M. Balshaw // Toxicological Sciences. – 2005. – Vol. 88. – No. 2. – P. 298–306.
159. Bazar, M. A. Effects of dietary methylmercury in juvenile corn snakes (*Elaphe guttata*) / M. A. Bazar, D. A. Holtzman, B. M. Adair, S. E. Gresens // SETAC 23rd Annual Meeting Abstract Book, Abstract 2002, P. 89.

160. Biswal, D. Antioxidant and immune status of pigs supplemented with selenium and vitamin-E / D. Biswal, K. Sethy, J. Agrawalla [et al.] // Anim Sci Report. – 2016. – No. 10. – P. 115–120.

161. Bodarski, R. A field study on feed supplementation, body weight and selected blood parameters in local pigs in Laos / R. Bodarski, S. Kinal, J. Pres, M. Slupczynska, J. Twardon, M. Chittavong, J. E. Lindberg, A. Jansson // Journal: Trop Anim Health Prod. – 2013. – Vol. 45. – P. 505–510. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22886486>.

162. Bordignon, R. Nutraceutical effect of vitamins and minerals on performance and immune and antioxidant systems in dairy calves during the nutritional transition period in summer / R. Bordignon, A. Volpato, P. Glombowsky, C. F. Souza, M. D. Baldissera, R. Secco, A. S. Da Silva // Journal of thermal biology. – 2019. – No. 84. – P. 451–459.

163. Boyington, J.C. Crystal structure of formate dehydrogenase H: Catalysis involving Mo, molybdopterin, selenocysteine and an Fe 4S4 cluster / V. N. Gladyshev, S. V. Kbangulov [et al.] // Science. – Vol. 275. No. 1997. – P. 1305–1308.

164. Butler, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle/ W.R. Butler // Anim. Reprod. Sei. 2000. – No. 60-61. – P. 449–457.

165. Campbell, K. R. The accumulation and effects of environmental contaminants on snakes: a review / K. R. Campbell, T. S. Campbell // Environ. Monit. Assess. 70. – 2001. – P. 253–301.

166. Chinnamuthu, C. R. Nanotechnology and Agroecosystem / C. R. Chinnamuthu, P. Murugesu Boopathi // Madras Agricultural Journal. – 2009. – Vol. 96. – No. 6. – P. 17–31.

167. Choi, K. Inhibition of the catalytic activity of hypoxia-inducible factor1alpha-prolyl-hydroxylase 2 by a MYND-type zinc finger / K. Choi, K. Tee, N. Tee [et al.] // Mol Pharmacol. – 2005. – Vol. 68. – No. 6. – P. 3–9.

168. Cukierski, M. J. 30-Day oral toxicity study of L-selenomethionine in female long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) / M. J. Cukierski, C. C. Willhite, B. L. Lasley // *Fundam Appl Toxicol.* – 1989. – No. 13(1) – P. 26–39.
169. Defrance, T. The life and death of B cell / T. Defrance, M. Casamayor-Palleja, P. H. Krammer // *Adv. Cancer Res.* – 2002. – P. 195–225.
170. Dhalla, N. S. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases / N. S. Dhalla, R. M. Temsah, T. Netticadan // *J. Hypertens.* – 2000. – Vol. 18. – No. 6. – P. 655–673.
171. Ding-Ping, B. Theranostics Aspects of Various Nanoparticles in Veterinary Medicine / B. Ding-Ping, L. Xin-Yu, H. Yi-Fan, Z. Xi-Feng // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2018. – Vol. 19. – No. 32-99. – P. 1–32.
172. Ducros, V. Selenium determination in human plasma lipoprotein fractions by mass spectrometry analysis / V. Ducros, F. Laporte, N. Belin [et al.] // *J. Inorg Biochem.* – 2000. – No. 81. – P. 105–109.
173. El-ramady, H. R. Selenium and nano-selenium in agroeco systems / H. R. El-ramady, É. Domokos-Szabolcsy, N. A. Abdalla, T. A. Alshaal, A. Sztrik // *Environ. Chem. Letters.* – 2014. – No. 12. P. 495–510.
174. Ermakov, V. V. Biogeochemical criteria of assessment of soilplant complex / V. V. Ermakov, A. P. Degtyarev, V. A. Safonov, S. F. Tjutikov, E. V. Krechetova // *The Problems of Biogeochemis and Geochemical Ecology.* – 2007. – No. 2 (4). – P. 16–24.
175. Fakruddin, P. Nanotechnology in agriculture / P. Fakruddin, A. Chakraborty // *Innovative Farming.* – 2016. – Vol. 1. – P. 18–20.
176. Galindo, J. Mineral status of cows and its relationship with the soilplant system in a dairy unit of the Eastern region of Cuba / J. Galindo, O. Gutiérrez, M. Ramayo, L. Leyva // *J. Cuba. Agric. Sci.* – 2014. – No. 48(3). – P. 241–245.

177. Gavrilova, L. A. Nanoparticles hydrophobic natural compounds as adjuvants: author. Dis. Stepenikand. Chemical science / L. A. Gavrilova. – M., 2011. – 22 p.
178. Grace, N. D. Effect of an of injectable micro encapsulated Vitamin B12 on serum and liver vitamin B12 concentrations in calves / N. D. Grace, D. M. West // New Zealand Veterinary Journal. – 2000. – No. 48. – P. 70–73.
179. Hartley, W. J. Control of white muscle disease and ill thrift with selenium / W. J. Hartley, A. B. Grant, C. Drake // N. Z. J. Agric. 2009. – Vol.101. P. 343–345.
180. Kaplun, A. P. Nanotechnology medicine and biotechnology / A. P. Kaplun, A.V. Symon [et al.] // Nanotechnics. – 2004. – No. 1. – P. 40–41.
181. Kelly, G. S. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review / G. S. Kelly // Altern. Med. Rev. – 2000. – No. 4. – P. 306–333.
182. Lei, R. Integrated metabolomic analysis of the nano-sized copper particle – induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats: a rapid in vivo screening method for nanotoxicity / R. Lei [et al.] // Toxicol Appl Pharmacol. – 2008. – No. 232(2). – P. 292.
183. Lesnichaya, M. Effect of nigh dose of selenium nanoparticles on antioxidant system and biochemical profile of rats in correction of carbon tetrachloride-induced toxic damage of liver / M. Lesnichaya, E. Karpova, B. Sukhov // Colloids and Supfaces B-Biointerfaces. – 2021. – T. 197. – P. 111–381.
184. Manselli, R. Garlic effects on serume lipids, blood pressure, coagulation, platelet aggregation and vasodilatation / R. Manselli, J. Reckless // B. M. J. – 2007. – L. – P. 379–387.
185. Maynard, L.A. Mineral metabolism. In animal revien of biochemic / L.A. Maynard, S.E. Smith // Vol.XVI- California. – 2010. – P. 31–32.
186. McDowell, L. R. 2003. Minerals in Animals and Human Nutrition/ L.R. McDowell // 3rd edn, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2003.

187. Meena, N. S. Applications of nanotechnology in veterinary therapeutics / N.S. Meena, Y.P. Sahni, R.P. Singh // Journal of Entomology and Zoology Studies 2018. – No. 6(2). – P. 167–175.
188. Mohammed A. K., Sackey A.K.B., Tekdek L.B., Trace and ultra trace elements in human and animal physiology, 2007.
189. Mohantya, N. N. An Overview of Nanomedicine in Veterinary Science / N. N. Mohantya, T. K. Palaib, B. R. Prustyc [et al.] // Veterinary research international. – 2014. – No. 2 (4). – P. 90–95.
190. Murrey E. Fowler, Trace elements and cardiovascular disease. – 1998. – Vol. 55. – P. 74–90.
191. Onoue, S. Nanodrugs: pharmacokinetics and safety / S. Onoue, S. Yamada // Int J Nanomedicine. – 2014. – No. 9. – P. 25–37.
192. Osmaly, O. Use of Encapsulation Technology to Improve the Efficiency of an Iron Oral Supplement to Prevent Anemia in Suckling Pigs / O. Osmaly, D. Emerson, Valenzuela C. // Animals. – 2019. – No. 9. – P. 1–9.
193. Pankhurst, Q. A. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine / Q. A. Pankhurst , J. Connolly, S. Jones, J. Dobson // Journal of Physics D: Applied Physics. – 2003. – No. 13. – P. 87.
194. Polkovnichenko, P. A. The influence of the biogeochemical situation of terrestrial ecosystems of astrakhan region on the microelement status of acclimatized Saanen white German improved goats / P. A. Polkovnichenko [et al.] // Vet Doc. – 2019. – No. 6. – P. 52–57.
195. Sahoo, A. Nanotechnology for Animal Health and Production / A. Sahoo, A. Samad // Edited by Sudhi Ranjan Garg. – New Delhi: Daya Publishing House. – 2014. – 328 p.
196. Sauer, U. Animal and Non-Animal Experiments in Nanotechnology – the Results of a Critical Literature Survey / U. Sauer // Altex. – 2009. – No. 26. – P. 109–134.

197. Shukla, A. K. Micronutrients in soils, plants, animals and humans / A. K. Shukla, S. K. Behera, A. Pakhre // *Indian J. Fertiliz.* – 2018. – No.14 (4). – P. 30–54.
198. Strain, J. J. // Trace elements and cardiovascular disease // *Bibl-Nutr-Dieta.* – 1998. – Vol. 54. – P. 127–140.
199. Tayl, A. Detection and monitoring of disorders of essential trace elements // *Ann. Clin. Biochem.* – 1996. – Vol. 33. – P. 486–51.
200. Triggiani, V. Role of iodine, selenium and other micronutrients in thyroid function and disorders / V. Triggiani [et al.] // *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* – 2009. –No. 9. – P. 277–294.
201. Weissig, V. Nanopharmaceuticals (part 2): products in the pipeline / V. Weissig, D. Guzman-Villanueva // *Int J Nanomedicine.* – 2015. – No. 10. – P. 1245–1257.
202. Zhang, X. Gold nanoparticles: recent advances in the biomedical applications / X. Zhang // *Cell Biochem Biophys.* – 2015. – No. 7. – P. 771–775.
203. Zinc oxide nanoparticles improve gut health and reduce faecal zinc excretion in piglets / Y. Gui [et al.] // *Livestock Scitnce.* – 2021. – T. 251. – P. 104610.

ПРИЛОЖЕНИЯ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО Вавиловский
университет



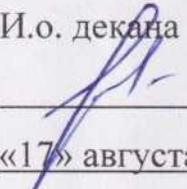
Макаров С.А.
2022 г.

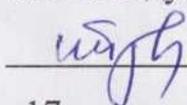
АКТ

**о внедрении результатов научно-исследовательской работы по теме
диссертации в учебный процесс**

Результаты научно-исследовательской работы по теме диссертационной работы Зайцева Владимира Владимировича выполненной на базе кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева» внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова».

Полученные результаты используются при чтении лекций и проведении лабораторных занятий по курсам «Патологическая физиология» и «Патологическая анатомия животных» (специальность 36.05.01 – Ветеринария). Протокол заседания кафедры «Морфология, патология животных и биология» №15 от 17.08.2022 г.

И.о. декана ФВМПиб
 / Моргунова Н.И./
«17» августа 2022г.

И.о. заведующего кафедрой
 /Пудовкин Н.А./
«17» августа 2022г.

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной деятельности
ФГБОУ ВО «Астраханской
государственный университет им.
В.Н. Татищева»

/ *А.М. Трещев* / Трещев А.М.
«15» августа 2022 г.

АКТ

**о внедрении результатов научно-исследовательской работы по теме
диссертации в учебный процесс**

Результаты научно-исследовательской работы по теме диссертационной работы Зайцева Владимира Владимировича выполненной на базе кафедры «Ветеринарной медицины» ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева» внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева».

Полученные результаты используются при чтении лекций и проведении лабораторных занятий по курсам «Внутренние незаразные болезни», «Ветеринарная фармакология. Токсикология», «Эндемические заболевания сельскохозяйственных животных», «Физиология и этология животных» и «Гематология домашних, продуктивных животных и птиц» (специальность 36.05.01 – Ветеринария).

Декан ФАТиВМ

/ *Р.И. Дубин* / Дубин Р.И./
«11» августа 2022г.

И.о. заведующего кафедрой
ветеринарной медицины

/ *Н.И. Захаркина* / Захаркина Н.И./
« 11 » августа 2022г.

АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Выдан аспиранту кафедры «Ветеринарной медицины» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева» Зайцеву Владимиру Владимировичу в том, что результаты его научных исследований по оценке терапевтической эффективности инъекционных форм нанопрепаратов меди и кобальта внедрены в практическую деятельность крестьянско-фермерского хозяйства Ахмедовой Х.М., и используются при проведении лечебно-профилактических мероприятий при гипомикроэлементозах крупного рогатого скота.

Глава КФХ Ахмедова Х.М.



Багандов А.Р.

09.08.2022 г.

АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Выдан аспиранту кафедры «Ветеринарной медицины» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный университет имени В.Н. Татищева» Зайцеву Владимиру Владимировичу в том, что результаты его научных исследований по оценке терапевтической эффективности инъекционных форм нанопрепаратов меди и кобальта внедрены в практическую деятельность Государственного бюджетного учреждения Астраханской области «Приволжская районная ветеринарная станция», и используются при проведении лечебно-профилактических мероприятий при гипомикроэлементазах крупного рогатого скота.

Руководитель ГБУ АО «Приволжская
районная ветеринарная станция»



Хисметов И.Х.