

**НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЕФЕКТУ СЕЛЕКТИВНОЇ
СЕДИМЕНТАЦІЇ ПРИ ФОРМУВАННІ КОМПЛЕКСУ
НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛУ – ЯЙЦЕ НЕМАТОДИ**

Н.О. ВОЛОШИНА, доктор біологічних наук

Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова

Проаналізовано існуючі гіпотези механізму впливу наночастинок металів на біологічні об'єкти. Узагальнено результати експериментів щодо вивчення овоцидної активності проти паразитичної нематоди *Ascaris suum* та науково обґрунтовано ефект селективної седиментації при взаємодії комплексу наночастинок металу – яйце паразитичної нематоди.

Ключові слова: наночастинок металу, яйце, нематода, селективна седиментація

Нині в Україні найадаптованішими до використання в біологічній сфері є продукти нанотехнології, отримані з використанням способу ерозійно-вибухового диспергування металу. Для забезпечення цільового впливу на біомолекули українськими дослідниками розроблено функціональні матеріали – висококоординаційні наноаквахелати металів, утворені наночастинками металів з поверхневим електричним зарядом зі знаком «мінус» та молекулами води і карбонових кислот, які виступають в ролі лігандів [9, 11].

На сьогодні, найбільш вивченими є взаємодія металевих наночастинок з ДНК, білками, патогенними бактеріями, вірусами та грибами [5, 19]. У доступних нам джерелах літератури немає інформації щодо чітко встановленого механізму дії наночастинок на об'єкти живої природи. Згідно з однією гіпотезою, наночастинок з біологічно сумісною оболонкою (до яких

належить цитратована) здатні проникати всередину клітин та інгібувати її метаболічні процеси [5, 15]. Інші дослідники припускають, що між наночастинками і біологічним об'єктом має місце процес конденсації або утворюються додаткові ковалентні зв'язки, які зумовлюють денатурацію білків [18].

Попередніми дослідженнями нами було експериментально встановлено, виражену овоцидну та ларвоцидну активність наноаквахелатів металів (срібла, міді, цинку, магнію, олова) проти яєць і личинок паразитичних нематод тварин, незалежно від ступеня їхнього онтогенетичного розвитку. Доведено, що аніоноподібні аквахелати вибірково взаємодіють лише із живими яйцями нематод, що проявляється в ефекті селективної седиментації. Після загибелі зародка відбувається дезінтеграція комплексу яйце нематоли – наночастинки металу, водночас повністю зберігаються овоцидні властивості наноматеріалу при їх повторному контакті з життєздатними яйцями нематоли [3, 4, 12].

Метою дослідження було дати наукове обґрунтування механізму виникнення ефекту селективної седиментації комплексу яйце – наночастинки, що лежить в основі овоцидної дії наноаквахелатів металів.

Матеріал і методи досліджень. Матеріалом для проведених нами експериментів був збудник аскарозу свиней – *Ascaris suum* (Goeze, 1782).

Для з'ясування механізму формування ефекту селективної седиментації і прояву овоцидної дії висококоординаційними аніоноподібними наноаквахелатами металів (Ag, Cu, Zn, Mg та Sn) застосовували методи дослідження та добору овоцидів за Н.А. Романенко [14] і оригінальні – за Н.О. Волошиною [10].

Результати дослідження. На нашу думку важливим у науковому та практичному аспектах є факт виявленого експериментальним шляхом ефекту селективної адгезії наночастинок лише на живі зародки гелмінта (рис. 1, 2) з подальшою їх дезінтеграцією через втрату життєздатності яйця.

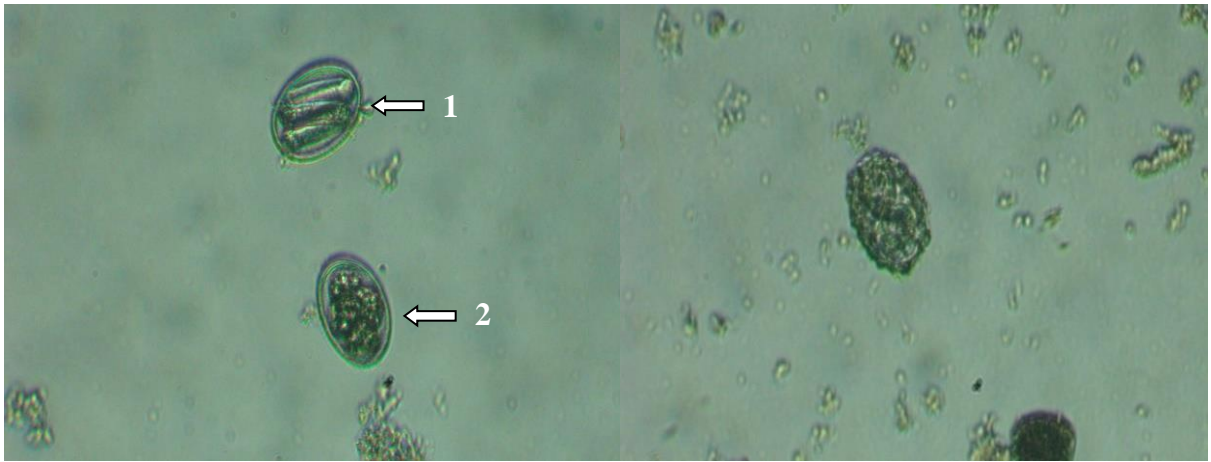


Рис. 1. Яйце *Ascaris suum* до контакту з наночастинками металу

Примітка: 1. З розвиненою личинкою всередині;
2. З бластомерами всередині

Рис. 2. Седиментація наночастинок олова на поверхню інвазійного яйця *Ascaris suum*

Подібний результат реєстрували при вивченні дії наночастинок біоцидних металів (Ag, Cu, Zn) на бактерії та віруси. За допомогою електронної мікроскопії було встановлено, що в перші години перебування бактерій у воді, що містила наночастинки біологічно активних металів відбувалося їх налипання на поверхню бактерій. Дослідники схиляються до думки, що наночастинки та їхні кластери є джерелом йонів металу, а мікроорганізми, поглинаючи їх, змінюють хімічну рівновагу у всій водній системі. Для відновлення рівноваги, наночастинки випромінюють із себе йони і, таким чином, утворюються спрямовані йонні потоки, що забезпечують ефективне ураження бактерій [6, 15].

Яйцям геогельмінтів, зокрема видам з ряду *Ascaridida*, притаманна значна стійкість проти впливу абіотичних екологічних чинників та дії хімічних сполук (концентрованих розчинів важких металів, лугів і кислот), що дозволяє відхилити припущення щодо можливості згубного біоцидного впливу йонів металів на яйце нематод [8].

Не зважаючи на велику різноманітність у формі, величині та забарвленні яєць аскарідат, будова оболонки, які захищають зародок

всередині яйця практично однакова. Зовнішній шар білковий або епітеліальний, який виконує функцію механічного захисту, здатний пропускати вологу, яка робить його еластичними. Наступні три шари, так звані, глянцева. Внутрішня – ліпоїдна або волокниста оболонка здатна вибірково пропускати всередину яйця кисень повітря і затримувати різні хімічні речовини (солі, кислоти, луги), крім тих, що розчиняють ліпіди. Оболонка може розчиняється у спиртах високої концентрації, хлороформі, ефірі, ацетоні, кислотах жирного ряду тощо. В процесі онтогенезу проникність оболонок яєць зменшується [16].

Важливою властивістю білкових молекул, що входять до складу поверхневої оболонки зародка нематоди є їх здатність у водних розчинах змінювати свій заряд, який пов'язаний зі зміною рН середовища його існування. Білок проявляє амфотерні властивості. Кислотних властивостей білку надають карбоксильні групи аспарагінової та глютамінової амінокислот, а лужних – радикали аргініну, лізину та гістидину. Ці ж групи мають електричний заряд, що формує загальний заряд білкової молекули: для лужних – позитивний, для кислих – негативний. Фактором, що визначає поведінку білка як катіона чи аніона є реакція середовища: в лужному середовищі (рН 7–14) білок віддає протон та заряджається негативно, а в кислий (рН 1–7) проявляється дисоціація кислотних груп і білок стає катіоном [8, 17].

В біологічних системах генерація енергії завжди пов'язана з окисно-відновними реакціями, тобто передачею заряджених часток. Енергетичний обмін у личинок, що розвиваються в яйцях аскарид здійснюються шляхом чергування процесів гідролізу тригліцеридів та жирних кислот, які згорають у циклах β -окислення і трикарбонових кислот. А після десятого дня розвитку личинки підвищується активність ферментів гліоксалатного шляху. При цьому, перетворення вищих жирних кислот у глікоген має місце у рослин і є вкрай несподіваним для еукаріот [8].

Трансмембранний електричний потенціал, величина якого становить близько 70 мілівольт, притаманний кожній живій клітині та пов'язаний з механізмами функціонування самої клітинної мембрани. Більша частина матеріалу, що транспортується через клітинну мембрану (з внутрішньою негативно зарядженою поверхнею відносно зовнішньої – позитивно зарядженої) є йонами з позитивним або негативним зарядом та масою [16].

Білок кутикули яєць, з яким контактують наночастинки металу вивчений частково, але відомо, що амінокислотний склад на різних етапах розвитку *A. suum* різниться. Такі амінокислоти білків як аргінін, лізин, гістидин представлені на всіх стадіях їхнього розвитку від яйця до статевозрілої нематоди, а бокові ланцюги цих амінокислот через вміст у них атома нітрогену заряджені позитивно [16].

Виходячи з цього можемо припустити, що умови, які створюються при контакті яйця паразита з колоїдним розчином з вмістом наноаквахелатів металів за рН 6,7–6,9, є визначальним чинником для виникнення кулонівських сил між позитивно зарядженими радикалами білкових молекул кутикули яйця та наночастинками металу. Заряд білка набуває позитивних значень, а висококоординаційні аніоноподібні аквахелати металу та їх кластери селективно седиментують на поверхню яєць нематод.

У подальшому, припинення метаболічних процесів всередині зародка нематоди веде до втрати білками заряду, внаслідок чого наночастинки не здатні утримуватись на поверхні оболонки яйця.

Водночас, сам лише факт селективної седиментації у комплексі наночастинки металу – яйце нематоди не здатний спричинити загибель зародка.

Наноаквахелати металів, отримані за допомогою ерозійно-вибухової технології, мають поверхневий електричний заряд зі знаком «мінус» та акумулюють енергію. Енергонасичені наночастинки металу, кількість яких в середовищі може сягати 10^{10} – 10^{12} часток/л, створюють навколо себе електричне поле. При розмірі наночастинок 100 нм напруженість

електричного поля навколо них сягає 10^5 В/см, яке здатне спричиняти електричну деструктуризацію мембрани клітин і зародка в цілому. Адже такий показник втричі перевищує пороговий рівень напруженості при застосуванні методу дезінвазії електричним полем [13].

Метаболічна активність металів в ультрадисперсному стані зумовлена наявністю у наночастинок металів корпускулярного і хвильового ефектів. Це цілком узгоджується із законами квантової фізики стосовно поведіння часток такого роду безпосередньо в живому організмі. Різноманітні часточки, які знаходяться в розчині або суспензії у формі атомів, електронів і, можливо, інших, ще менших за розмірами часток, проявляють ті ж самі властивості, які характерні електронам у класичному фізичному аспекті. У перебігу фізико-хімічних реакцій наночастинки виступають потужним донором, діючи як сильний каталізатор фізичних та хімічних явищ [1, 9].

Експериментально встановлено, що овоцидний вплив наноаквахелатів металів на яйця *A. suum* оптимально проявляється лише за межами організму хазяїна. Причини цього ми вбачаємо в тому, що під час транзиту комплексу яйце – наночастинки через шлунково-кишковий тракт тварин він піддається впливу соляної кислоти, що входить до складу шлункового соку. Кисле середовище, у яке потрапляють яйця *A. suum*, оточені наноаквахелатами металу, провокує процеси дезінтеграції комплексу яйце – наночастинки та очищення поверхні інвазійних яєць аскариди від наночастинок, що призводить, в кінцевому результаті, до втрати препаратом овоцидного ефекту. Як наслідок, личинки нематоди всередині яєць залишаються живими і здатними до зараження хазяїв [2].

Підтвердження своєї гіпотези ми знайшли у роботі В.А. Колікова, який вивчав властивості наночастинок міді та встановив, що додавання до розчину з наночастинками металу соляної кислоти і зміна показника рН до 2,5 призводять до повного розпаду наночастинок та переходу їх у йонну форму [7].

Враховуючи гіпотези фахівців щодо механізму біологічної дії наночастинок і порівнюючи їх з результатами власних досліджень, ми припускаємо, що механізм овоцидної дії наноаквахелатів металів пов'язаний з ефектом їх селективної адгезії на поверхню живих яєць гельмінтів та впливом на них потужного електричного поля, утвореного зарядженими наночастинок. Така комплексна дія наночастинок на зародки паразитичних нематод призводить до втрати ними життєздатності. Глибше розуміння процесів взаємодії між металевими наночастинок і інвазійними паразитичними елементами потребує додаткових досліджень.

Отримані результати свідчать про можливість практичного застосування наноаквахелатів металів як ефективних дезінвазійних засобів.

Висновок

Механізм ефекту селективної седиментації при взаємодії комплексу наночастинок металу – яйце нематоди є комплексним і здійснюється у два етапи: перший – пов'язаний з формуванням селективної адгезії між негативно зарядженою наночастинок металу та позитивно зарядженими радикалами білкових молекул оболонки яйця, що забезпечується кулонівськими силами і другий – забезпечується дією електрично заряджених наночастинок проти зародка нематоди, що призводить до втрати життєздатності яйця.

Список літератури

1. Биологическое действие макро- и микроэлементов: пособие [для студ.] / Н.М. Сторожок. – 2006. – С. 24.
2. Волошина Н.О. Дослідження овоцидного ефекту наночасток олова у дослідах *in vivo* / Н.О. Волошина, П.Я.Кілочницький, А.Й. Мазуркевич // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2009. – Вип. 5. – С. 67–71.

3. Волошина Н.О. Особливості впливу наночасток олова на яйця *Ascaris suum* / Н.О. Волошина // Наукові записки НаУКМА. Біологія та екологія. – 2009. – Т. 93. – С. 81–84.
4. Волошина Н.О. Чутливість збудників стронгілятозів тварин до впливу наночастинок металів / Н.О. Волошина, П.Я. Кілочницький // Науковий вісник НУБіП України. Серія «Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва». – 2010. – № 151, Ч. 2. – С. 38–42.
5. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организме животных / О.А. Богословская, Е. А. Сизова, В. С. Полякова [и др.] // Вестник ОГУ. – 2009. – № 2. – С. 124–127.
6. Кнорре Д. Г. Биологическая химия : учеб. для хим., биол. и мед. спец. Вузов / Д. Г. Кнорре, С. Д. Мызина. – [3-е изд., испр.]. – М.: Высшая школа, 2002. – 479 с.
7. Коликов В.А. Пролонгированная микробная устойчивость воды, обработанной импульсными электрическими разрядами / В.А. Коликов, В.Е. Курочкин, Л.К. Панина [и др.] // Журнал технической физики. – 2007. – Т. 77, Вып. 2. – С. 118–125.
8. Мозговой А.А. Аскариды животных и человека и вызываемые ими заболевания / А.А. Мозговой. – М.: Издательство Академии Наук СССР, 1953. – 344 с.
9. Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії. Посіб. для студ. / [В.Б. Борисевич, В.Г. Каплуненко, М.В. Косінов, та ін.]; за ред. В.Б. Борисевича, В.Г. Каплуненко. — К.: ВД «Авіцена», 2010. – 416 с.
10. Пат. 43033 Україна, МПК СО2F 1/46, СО2F 11/00. Спосіб діагностики життєздатності яєць нематод / Волошина Н.О., Кілочницький П.Я., Каплуненко В.Г., Косінов М.В., власник Волошина Н.О., Кілочницький П.Я., Каплуненко В.Г., Косінов М.В. – № и 2009 02811; заявл. 26.03.09; опубл. 27.07.09, Бюл. № 14.

11. Пат. на корисну модель 23550 Україна, МПК (2006) В 22 F 9/14. Спосіб ерозійно-вибухового диспергування металів / Каплуненко В.Г., Косінов М. В. ; заявл. 25.05.07; опубл. 13.04.08, Бюл. № 7.
12. Пат. 36965 Україна, МПК А61L 2/16. Спосіб знешкодження у довкіллі збудника езофагостомозу свиней / Волошина Н.О.; власник Національний аграрний університет. – № и 2008 07856; заявл. 10.06.08; опубл. 10.11.08, Бюл. № 21.
13. Пат. 2038320 РФ, МПК 6 С 02 F 1/46, С 02 F 11/00. Способ обеззараживания сточных вод / Гузов И.П., Худиков Н.М.; заявитель и патентообладатель Всероссийский науч.-исслед. ин-т экспериментальной физики. – №4921557/26; заявл. 25.03.91; опубл. 27.06.95, Бюл. № 26.
14. Романенко Н. А. Санитарная паразитология : руководство для врачей / Н. А. Романенко, И. К. Падченко, Н. В. Чебышев. — М.: Медицина, 2000. — 342 с.
15. Рутберг Ф.Г. Импульсные разряды против микробов / Ф.Г. Рутберг, В.А. Коликов, В.Е. Курочкин, Л.К. Панина // Нанотехнология и нанoeлементы, 2008. – Режим доступа к журн.: <http://science.ncstu.ru/conf/past>.
16. Сопрунов Ф.Ф. Молекулярне основи паразитизма / Ф.Ф. Сопрунов. – М.: «Наука», 1987. – 223 с.
17. Тиноко И. Физическая химия. Принципы и применение в биологических науках / И. Тиноко, К. Зауэр, Дж. Вэнг, Дж. Паглиси // М.: Техносфера, 2000. – 744 с.
18. Effect of nanostructured gold surface on the SEIRA spectra of nucleic acid, Albumin, a-Glycine and Guanine / G. Dovbeshko, O. Fesenko, V. Chegel [et al.] // Asian Chemistry Letter. – 2006. – Vol. 10, № 1 – 2. – P. 33–44.
19. Youa C. The biomacromolecule-nanoparticle interface / C. Youa, A. Chompoosora, V. Rotello // Nano Today. – 2007. – Vol. 2. – Issue 3. – № 6. – P. 34–43.

Научное обоснование эффекта селективной седиментации при формировании комплекса наночастицы металла – яйцо нематоды

Н.А. Волошина

Проанализированы существующие гипотезы механизма влияния наночастиц металлов на биологические объекты. Обобщены результаты экспериментов по изучению овоцидной активности против паразитической нематоды *Ascaris suum* и научно обоснован эффект селективной седиментации при взаимодействии комплекса наночастицы металла – яйцо нематоды.

Ключевые слова: наночастицы металла, яйцо, нематода, селективная седиментация

Scientific justification of effect of a selective sedimentation at formation of a complex of a nanoparticles of metals – nematode egg

N. Voloshina

In article it is analysed existing hypotheses of the mechanism of influence of nanoparticles of metals on biological objects. Results of experiments on studying of ovotsidny activity against a parasitic nematode of *Ascaris suum* are generalized and is scientifically proved effect of a selective sedimentatsiya at interaction of a complex of a nanoparticle threw – nematode egg.

Key words: nanoparticles of metals, egg, nematode, selective sedimentation