

УДК 620.3:636.09

НАНОБІОТЕХНОЛОГІЇ. СУЧАСНІСТЬ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ

В. В. Влізло, Р. Я. Іскра, Р. С. Федорук
iskra_r@ukr.net

Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

У статті аналізуються результати та перспективи розвитку досліджень із нанобіотехнології та застосування наноматеріалів у біології, гуманній та ветеринарній медицині. Розкрито шляхи та методи вивчення структурних змін, біологічних і біофізичних процесів у природних біологічних об'єктах та їх системах за дії наноматеріалів. Аналізується використання хелатів на основі наночастинок біогенних металів у харчових і кормових добавках; застосування нанобіотехнологічних методів діагностики хвороб людини і тварин; конструювання наноносіїв лікарських препаратів та ад'ювантів вакцин; вплив наночастинок металів на життєздатність гамет, репродуктивну функцію та резистентність організму тварин.

Показано роль провідних інститутів Національної академії наук України та Національної академії аграрних наук України, зокрема Інституту біології тварин НААН, у формуванні і виконанні пріоритетних напрямів нанобіотехнологічних досліджень та їх розвитку в Україні. Аналізується сучасний стан і перспективи розвитку нанотехнологій у біології, медицині та ветеринарії. Вказується на потребу розширення нанобіотехнологічних досліджень з фундаментальних напрямів, формування на їх основі пріоритетних інноваційних державних програм, залучення сучасної матеріально-технічної бази та обладнання у провідних наукових і науково-методичних центрах, підготовки з цих напрямів вчених вищої кваліфікації, їх стажування у провідних міжнародних наукових центрах.

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

Ключові слова: НАНОБІОТЕХНОЛОГІЇ, НАНОБІОМАТЕРІАЛИ, НАНОЧАСТИНКИ, АД'ЮВАНТИ, ПРЕПАРАТИ

NANOBIOTECHNOLOGY. PRESENT STATE AND FUTURE PROSPECTS

V. V. Vlizlo, R. J. Iskra, R. S. Fedoruk
iskra_r@ukr.net

Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus St, Lviv 79034, Ukraine

The article contains analysis of the results and prospects of development of nanobiotechnology research and application of nanomaterials in biology, human and veterinary medicine. The ways and methods of studying of structural changes in biological and biophysical processes in natural biological systems and their facilities for the actions of nanomaterials are shown. The usage of chelates, based on nanoparticles of biogenic metals, in food and feed additives, usage of diagnostic methods of nanobiotechnology of diseases in humans and animals, nanocarriers designing drugs and vaccine adjuvants, the influence of metal nanoparticles on the viability of gametes, reproductive function and resistance of animals are analyzed.

The role of leading institutes of the National Academy of Sciences of Ukraine and National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, and in particular, Institute of animal biology NAAS is in shaping priorities in the implementation and development nanobiotechnology research in Ukraine. The current state and prospects of nanotechnology in biology, medicine and veterinary medicine is analyzed. The necessity for expansion nanobiotechnology research in fundamental areas forming on the basis of priority innovative government programs

to attract modern material and technical base and equipment of leading scientific and methodical centers, training on these areas researchers of higher qualification and their training in leading international scientific centers is shown.

An important condition for further progress in the development of nanobiotechnology in Ukraine can be the recognition of the strategic innovation priority for scientists NAS of Ukraine and Academy of Agricultural Sciences and other academies, ministries and departments of government support at all levels, the complexity of the implementation of such studies, effective protection and preservation of rights to objects of intellectual property commercialization, timely testing and implementation of developments obtained.

Key words: NANOBIO TECHNOLOGY, NANOMATERIALS, NANOPARTICLES, ADJUVANTS, DRUGS

НАНОТЕХНОЛОГИИ. СОВРЕМЕННОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

В. В. Влизло, Р. Я. Искра, Р. С. Федорук
iskra_r@ukr.net

Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

В статье анализируются результаты и перспективы развития исследований по нанобиотехнологии и применения наноматериалов в биологии, гуманной и ветеринарной медицине. Раскрыты пути и методы изучения структурных изменений, биологических и биофизических процессов в природных биологических объектах и их системах при действии наноматериалов. Анализируется использование хелатов на основе наночастиц биогенных металлов в пищевых и кормовых добавках; применение нанобиотехнологических методов диагностики болезней человека и животных; конструирование наноносителей лекарственных препаратов и адъювантов вакцин; влияние наночастиц металлов на жизнеспособность гамет, репродуктивную функцию и резистентность организма животных.

Показана роль ведущих институтов Национальной академии наук Украины и Национальной академии аграрных наук Украины, в частности Института биологии животных НААН, в формировании и проведении приоритетных направлений нанобиотехнологичных исследований и их развития в Украине. Анализируется современное состояние и перспективы развития нанотехнологий в биологии, медицине и ветеринарии. Указывается на необходимость расширения нанобиотехнологических исследований по фундаментальным направлениям, формирование на их основе приоритетных инновационных государственных программ, привлечения современной материально-технической базы и оборудования в ведущих научных и научно-методических центрах, подготовки по этим направлениям ученых высшей квалификации, их стажировки в ведущих международных научных центрах.

Важным условием дальнейшего продвижения в развитии нанобиотехнологии в Украине может быть признание этого направления стратегическим инновационным приоритетом для ученых НАН Украины, НААН и других академий, министерств и ведомств с государственной поддержкой на всех уровнях, комплексности выполнения таких исследований, эффективной защиты и сохранения прав на объекты интеллектуальной собственности, их коммерциализации, своевременной апробации и внедрения полученных разработок.

Ключевые слова: НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ, НАНОМАТЕРИАЛЛЫ, НАНОЧАСТИЦЫ, АДЬЮВАНТЫ, ПРЕПАРАТЫ

На стику різних наук — фізики, хімії, матеріалознавства, біології, електроніки і комп'ютерної техніки — зародилися й отримали інтенсивний розвиток нанонаука і нанотехнології. Започаткував розвиток нанотехнології американський фізик, лауреат Нобелівської премії Р. Фейнман у 1959 році, висловивши

припущення, що в майбутньому багато матеріалів та пристроїв будуть виготовлятися на атомарному або молекулярному рівні і це допоможе отримувати матеріали з небаченими досі властивостями [1]. Однак термін «нанотехнологія» (НТ) уперше ввів професор Токійського університету Н. Танігучі в 1974 році

у своїй доповіді «Про основні концепції «нанотехнологій» [2]. Сьогодні на основі нанотехнологій розроблені консолідовані наноматеріали, наноапіпровідники, нанополімери, нанобіоматеріали, фулерени, нанотрубки, наночастинки, нанопорошки, нанопористі матеріали, наноструктурні рідини (колоїди, міцели, гелі), фармакологічні нанопрепарати [3]. У світлі сучасних технологій починають інтенсивно використовуватися наноматеріали (НМ) — дисперсні матеріали, що містять структурні елементи, геометричні розміри яких не перевищують 100 нм. Міжнародна організація зі стандартизації ISO (*International Organization for Standardization*) створила «Технічний комітет 229 — нанотехнології» (ISO/TC 229), метою якого є розробка міжнародних стандартів нанотехнології, номенклатури, метрології, специфікації, методології тестування, підготовка інструкцій для галузей охорони здоров'я та безпеки довкілля за використання наноматеріалів. Сьогодні, відповідно до вимог ISO, представлена детальна класифікація наночастинок і наноматеріалів за їх розмірами, структурою, хімічним походженням, властивостями [4]. Однак слід зауважити, що інтенсивне виробництво та використання наночастинок і наноматеріалів викликає занепокоєння наукової спільноти та потребує вирішення низки технічних, медико-біологічних та екологічних проблем.

Для прискореного розвитку нанотехнологій та ефективного застосування результатів майже у всіх країнах світу створюють спеціальні лабораторії, центри, інститути (як державні, так і приватні), комітети, у яких проводять дослідження з різних напрямів нанонауки. У США ще в 2000 р. створено науковий центр «Національна нанотехнологічна ініціатива», де зосереджено основні дослідження з цього наукового напрямку.

У світі понад 50 країн упроваджують спеціальні програми розвитку нанотехнологій і постійно збільшують обсяги інвестицій у ці програми. Вони стали важливим фактором науково-технічного прогресу та інноваційної складової економіки багатьох країн. Підґрунтя ринку світових інвестицій становлять п'ятнадцять країн, серед них — США,

Японія, Велика Британія, Німеччина, Ізраїль, Китай, Канада, Австралія та інші. У більшості з них частка державних витрат у сфері нанонауки і нанотехнологій перевищує 50 % від загального обсягу фінансування.

В Україні також проводяться певні заходи для вирішення цієї важливої проблеми. Так, Кабінетом Міністрів України було затверджено Державну цільову науково-технічну програму «Нанотехнології і наноматеріали» на 2010–2014 роки. Головною метою її було визнання стратегічної пріоритетності розробок нанотехнологій і наноматеріалів, їхнє використання на державному рівні, подолання відставання країни в здійсненні наукового і методичного забезпечення координації досліджень, формування і розвиток технологічної бази. Одним з важливих завдань цієї програми є вивчення біологічного впливу нанотехнологій і наноматеріалів на людину, тварин і навколишнє природне середовище та з'ясування потенційних ризиків їх використання у біології [5].

У сфері фундаментальних наукових досліджень українські науковці займають вагомі позиції, водночас у сфері практичного впровадження нанотехнологій й розвитку наноіндустріальних виробництв наша країна відстає від лідерів на десятки років.

Основна сфера використання нанотехнологій — теоретично обґрунтовані експериментальні дослідження в галузі синтезу, аналізу, виробництва й застосування продуктів з визначеною структурою за допомогою спрямованого маніпулювання на рівні атомних і молекулярних взаємодій. Нанотехнології перебувають на передньому краю різноманітних наукових, економічних та соціальних напрямів розвитку науково-технічного прогресу. Їх застосовують у медицині, електроніці й екології. Інноваційні розробки на рівні атомів і молекул — дійсно великий крок у майбутнє науки, зокрема медицини, біології, ветеринарії.

Розвиток нанотехнології дав початок новим галузям наук, однією з яких є нанобіологія. Остання присвячена вивченню структурних змін, біологічних і біофізичних процесів у природних біологічних об'єктах чи їх

нанобіологічних аналогах. Пізнання законів, яким підпорядковані біологічні системи, створення на цій основі дієвих наномоделей біологічних структур, сьогодні формують основу нанобіології. Досягнення нанобіології дають основу розвитку таких напрямів нанонауки, як біоорганічна нанохімія, нанофармація, нано-сенсорика тощо.

Біологи побачили в нанотехнології можливий якісний прорив у розвитку науки, що дозволяє працювати з речовиною в нанометрових масштабах, оскільки ці розміри характерні для основних біологічних структур — клітин і молекул.

У Національній академії наук (НАН) України сформовано комплексну програму фундаментальних досліджень «Наноструктурні системи, наноматеріали, нанотехнології», у межах якої здійснюють дослідження з фізики металів і сплавів, хімії поверхні, порошкових технологій, мікроелектроніки, колоїдних нанорозчинів, сорбентів, лікарських засобів, в основу яких покладено нанотехнології.

У Національній академії аграрних наук (НААН) України на 2016–2020 рр. сформована програма наукових досліджень «Створення і використання нано- і біотехнологічних матеріалів та засобів у тваринництві», головною установою якої є Інститут біології тварин (ІБТ) НААН. Виконання завдань цієї програми забезпечить розроблення нанобіотехнологічних матеріалів і засобів, дослідження їх біологічної дії та ефективного використання у тваринництві та ветеринарній медицині.

З огляду на зазначене, сьогодні в багатьох науково-дослідних установах не тільки синтезують наночастинки, а й проводять дослідження з визначення механізмів їхньої дії, біологічних ефектів, зокрема стимулювання фізіолого-біохімічних процесів у клітинах організму, а також біобезпечності та токсичності [6, 7, 8].

Так, в «Інституті монокристалів» НАН України розроблено наноматеріали, які можна застосовувати в медичній практиці та фармації [9]. Інститут хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України спільно з вітчизняними науково-медичними закладами вперше у світі розробив, дослідив та впровадив у ме-

дичну практику новий препарат сорбційно-дезінтоксикаційної дії на основі нанокремнезему «Силікс» [10]. На кафедрі фармакології та клінічної фармації Національного медичного університету імені О. О. Богомольця розроблено нову лікарську форму — суспензію на основі нанодисперсного кремнезему. Вона мінімізує токсичність і негативний вплив на функцію печінки таких сполук, як фторид і нітрит натрію, а також протитуберкульозних препаратів — ізоніазиду, піразинаміду, етамбутолу, що різняться механізмом негативного впливу на організм і хімічною структурою. За фармакологічною активністю суспензія нанодисперсного кремнезему перевищує препарати звичайного кремнезему [11, 12]. Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького спільно з Інститутом електрозварювання імені Є. О. Патона розробляє нові варіанти колоїдних систем з магнітними наночастинками Fe_3O_4 з метою створення протипухлинних препаратів [13]. У співпраці Інституту електрозварювання імені Є. О. Патона та Національного медичного університету імені О. О. Богомольця встановлено, що наночастинки Аргентуму та Купруму проявляють більш виражену протимікробну дію стосовно *Staphylococcus aureus*, ніж звичайні препарати цих металів.

Наночастинки починають застосовувати у галузі біофізики, молекулярної біології, протеоміки, генетики, зокрема для створення біомаркерів. Магнітні наночастинки, на які нанесено антитіла та фрагменти ДНК, мають властивість посилювати сигнал із численних маленьких біомолекул. Це дозволить діагностувати хворобу на ранніх стадіях й ефективніше лікувати різні захворювання. Водночас синтез наночастинок, які мають властивості ад'ювантів, та їх з'єднання з антигеном (вірусом, бактерією чи їх фрагментами) дає можливість створювати вакцини нового покоління. Так, в галузі ветеринарної медицини безліч наночастинок використовують з метою виявлення вірусних, паразитарних та бактеріальних патогенів [14, 15].

Проведені в ІБТ НААН дослідження показали ефективність використання нових

полімерних носіїв на основі диметиламіноетилметакрилату (поліДМАЕМ) для транспортування антисенс-олігодезоксинуклеотидів (асОДН) у клітини ссавців. Встановлено, що поліДМАЕМ у концентрації менш, ніж 5 мкг/мл не чинить цитотоксичного впливу на культуру клітин ембріональних фібробластів лінії L1210 мишей. Результати дослідження впливу поліДМАЕМ та його комплексів із асОДН на рівень експресії фізіологічного пріона (PrP^c) у клітинах лінії L1210 свідчать про зниження вмісту PrP^c на 70–90 %. Доведена можливість успішного застосування кон'югатів асОДН та носія для практично повного пригнічення експресії фізіологічного пріона у селезінці, тонкій кишці і, що найважливіше, мозку тварин. Таким чином, перспективним є те, що наносполуки здатні долати гематоенцефалічний бар'єр і впливати на патологічний процес у мозку [16, 17].

Досягнення нанотехнології в розробленні вакцин полягають у використанні нових ад'ювантів на основі наночастинок, до яких кріпляться безпечні антигени, що утворюються з синтетичних пептидів і рекомбінантних білків. Такі вакцини матимуть значно більший ефект, не чинитимуть побічних дій та будуть безпечними при застосуванні.

Проведені в ІБТ НААН дослідження показали, що новий тип нанополімерів на основі псевдоамінокислот поліестерного типу не є шкідливими для організму і вони можуть бути використані як ад'юванти в процесі створення вакцин.

Розроблено новий метод детекції кон'югатів катіонних олігоелектролітів з олігодезоксинуклеотидами, в основі якого лежить вільна дифузія цих речовин у 0,8 %-му гелі агарози. Запропонований в ІБТ НААН метод дає можливість спростити і здешевити вибір найкращого носія серед різноманітних полімерних сполук, візуально виявити факт комплексоутворення між речовинами, що взаємодіють, результатом якого є утворення кільця преципітації. Універсальність цього методичного підходу підтверджено взаємодією з олігодезоксинуклеотидами іншого катіонного полімеру природного походження — хітозану. Порівняльний аналіз результатів викорис-

тання цього підходу з даними турбідиметрії олігодезоксинуклеотидполімерних комплексів та їх електрофорезом вказує на низку переваг, серед яких — можливість одночасного скринінгу великої кількості полімерних носіїв і відсутність потреби у застосуванні додаткових дорогих приладів та матеріалів. Для висновку про комплексоутворення достатньо наномольних кількостей олігодезоксинуклеотидів, що є важливим для вдосконалення лабораторних методів досліджень [17].

У характеристиці наноматеріалів особливо важливими є розчинність, розмір частинок, а також проникність через біологічні мембрани. Ці властивості можуть бути взаємопов'язані, що вимагає поєднання різних наукових напрямів і підходів у їх дослідженні. Так, розчинність нанорозмірної речовини буде впливати на вибір складу препарату та аналітичного методу дослідження. Розмір частинок також повинен бути оптимальним, оскільки зменшення величини частинок має свої межі не тільки з точки зору технології, але й з точки зору біодоступності та безпечності. Не можна вважати виправданим бажання отримати якомога менший розмір частинок речовини, оскільки зменшення розміру частинок може викликати інактивацію речовини, швидке виведення з організму або прояв небажаної дії на організм [18]. Так, встановлено, що фізіологічно обґрунтованим є розмір наночастинок не менше 5–7 нанометрів, за якого вони збираються у кластери (асоціати), в яких частинки не доторкаються одна до одної, а перебувають на відстані 2–3 нанометри. Якщо розміри частинок зменшуються до 2 нм і менше, то на таких відстанях у реакціях з'являється квантова складова, а значить, їх поведінка стає непередбачуваною [19]. Методом ядерно-магнітного резонансу доведено, що рельєф поверхні наночастинок впливає на кінетичну активність у реакціях обміну. Наприклад, ділянки наночастинок Ауруму, що мають вершини і хребти, є суттєво активнішими, ніж ділянки у формі терас [20]. Біологічна безпека (потенційні ризики) наноматеріалів також тісно пов'язані з розміром наночастинок та їх концентрацією. Так, за результатами визначення генотоксичних

властивостей наночастинок металів *in vitro* та *in vivo* методом ДНК-комет встановлено, що наночастинки Ауруму розміром 20 та 45 нм у концентраційному діапазоні $4\text{--}14V \times 10^5$ мкг/мл та Аргентуму розміром 30 нм у концентрації 10^5 мкг/мл не пригнічували фізіологічні процеси, а навпаки, активували їх у клітинах бактерій-пробіотів. Генотоксичну дію на еукаріотичні тестові клітини проявляють наночастинки Ауруму розміром 10 і 20 нм, Цинку та Купруму розміром 20 нм і Феруму розміром 14, 18 та 23 нм у всьому досліджуваному концентраційному діапазоні [19].

Одна з важливих властивостей наночастинок — здатність виступати переносником фізіологічно активних речовин, ксенобіотиків та лікарських засобів у клітині — мішені як основи розвитку патологічного процесу. В ролі наночастинок, які стають своєрідними «кур'єрами» або «контейнерами», можуть бути використані наночіпи — фосфоліпідні частинки, ліпосоми, фулерени, дендримери, хітозан, нанотрубки та інші [21]. Наноструктуризація призводить до зменшення розміру лікарської форми і підвищення вмісту активної речовини у крові. Є два напрями адресної доставки ліків: пасивний направлений транспорт (полегшене подолання природних бар'єрів) та специфічна доставка (впізнавання патологічної тканини) [22]. Так, українськими дослідниками доведена можливість трансмембранного транспортування нанорозмірних комплексів і частинок у клітини бактерій, що здатні до вибіркового акумулювання колоїдних частинок Ауруму, а також визначено молекулярні структури і механізми, відповідальні за цей процес [23, 24].

З цього напрямку досліджень розроблені нові методи і засоби на нанометровому рівні, які починають застосовуватися у медико-біологічній практиці. Зокрема прицільна протипухлинна терапія за щоденного клінічного використання має такі переваги: надає можливість молекулярного відображення найменших проявів дії наночастинок на клітинному рівні; формує ефективний механізм молекулярного прицілювання після ідентифікації певних клітинних маркерів; дозволяє застосовувати технологію знищення клітин,

ідентифікованих як злоякісні, а також технологію моніторингу одержаного ефекту. Сучасний стан розвитку нанотехнологій дозволяє усувати дефекти в організмі хворої людини чи тварин способом керованих нанохірургічних втручань, створювати прилади для контролю рівня глюкози у крові та для виробництва інсуліну. Методами молекулярного моделювання продемонстровано можливість створення на порядок складніших систем, зокрема штучних еритроцитів [21].

Упровадження нанотехнологічних підходів у практику дозволяє здійснювати ранню діагностику захворювань, виявляти онкологічні, ендокринні, серцево-судинні захворювання, вірусні та бактеріальні інфекції, а також покращити ефективність діагностики, яке базується на передачі візуальної інформації про найдрібніші структури — молекулярної фізіографії. Так, наночастинки Ауруму разом з антитілами можуть знизити шкідливий ефект від опромінення при лікуванні пухлин [25, 26].

Нанодіагностика *in vitro* розвивається у двох напрямках: використання наночастинок як маркерів біологічних молекул і застосування інноваційних нанотехнологічних способів вимірювання. Зокрема сенсорні системи, які вже зараз використовуються в біології, суттєво спрощують діагностику захворювань та дозволяють простежувати взаємодію між протеїнами і ДНК в режимі реального часу.

Оскільки в наш час стало принципово важливим «зчитування» генетичної інформації, за досить короткий час будуть створені та вдосконалені так звані ДНК-чіпи, які дозволять високовірогідно здійснювати аналіз генетичної інформації людини чи тварин і проводити лікувальний курс, який відповідає генетичному типу конкретної особини. Це зразу дозволить поставити завдання створення індивідуальних ліків [27].

Завдяки нанотехнологіям отримала розвиток тканинна імплантатія у зв'язку з використанням інноваційних засобів відновлення чи заміщення органів і тканин. Зокрема нанокристалічна структура поверхні імплантата прискорює процес остеогенезу і включення штучного матеріалу в природну кісткову тка-

нину. Іншим методом є нанокристалічне алмазне покриття, яке також обіцяє значно продовжити функціонування і стабільність імплантатів.

Почав розвиватися напрямок дослідження біоматеріалів — нановолокон, котрі вчені хочуть використати для створення штучних тканин (у перспективі — органів) на основі клітинних технологій. Визначають також інші пріоритетні напрями розвитку нанобіотехнології та отримання наноматеріалів:

— супершвидкісні молекулярні детектори для визначення первинної структури генома на основі неорганічних нанопор;

— геноми, що саморозмножуються і застосовуються з метою виробництва ліків, проведення фармакологічного скрінінгу та моделювання патологічних процесів;

— біосумісні наноматеріали широкого спектру застосування для створення принципово нових типів перев'язувальних матеріалів і штучних органів.

Розроблена методика відтворення хрящової тканини, що має механічні та біохімічні властивості, близькі до природного хряща, і використовується для відновлення фізичних властивостей зубної емалі; створюються технології обробки поверхонь методом наноциплення з метою надання їм антибактеріальних властивостей.

Наночастинки Аргентуму проявляють антивірусні, антибактеріальні та ранозагоювальні ефекти. Нанодезінфектанти на основі наночастинок Аргентуму мають широкий спектр біоцидної і антивірусної активності та значно вищу токсичність стосовно мікробів, вірусів і грибків, зокрема до штамів, не сприйнятливих до традиційних антибіотиків, дезінфектантів та антисептиків. Наприклад, папір з нанесеними на нього наночастинками Аргентуму має згубні властивості для таких бактерій, як кишкова паличка. Завдяки новітнім технологіям отримання та нанесення наночастинок можна досягти рівномірнішого їх розподілу по поверхні паперу та уникнути утворення агломератів, що призводить до збільшення ефективної поверхні Аргентуму за зовсім невеликої витрати металу. Нанесення наночастинок цього елемента на суль-

фаніламід (стрептоцид), який сам по собі має широкий спектр протимікробної дії, модифікує наявний лікарський засіб та призводить до таких позитивних ефектів, як пролонгація та локалізація дії.

В ІБТ НААН проведені комплексні дослідження стосовно впливу застосування функціоналізованих наночастинок Аргентуму в репродуктивній біотехнології, зокрема при дозріванні ооцитів, зберіганні спермій та розвитку ембріонів за умов *in vitro*, а також при заплідненні та ранньому ембріональному розвитку кролів *in vivo*. Отримані дані мають важливе значення для створення лікарських препаратів на основі наночастинок Ag з подальшим їх використанням у лікуванні інфекційних хвороб, зокрема пов'язаних з репродуктивною системою [28].

Сьогодні також проведені широкомасштабні дослідження з вивчення біологічної дії нанопорошків Феруму, які описані в монографії Л. В. Коваленко і Г. Е. Фолманіса [29]. Авторами було досліджено вплив наночастинок Феруму на організм мишей, щурів, великої рогатої худоби, птахів, риб і деякі рослинні об'єкти. Встановлено, що гостре пероральне введення їх суспензії мишам в дозі 50, 100 і 500 мкг/кг не викликало жодних токсичних ефектів. Водночас введення доз 1000, 2000 і 5000 мкг/кг призводило до розвитку запального процесу на слизовій оболонці шлунка та кишечника, а також порушення гемоцитопоезу. На основі отриманих результатів механізм токсичної дії наночастинок Феруму автори пов'язують зі стимуляцією оксидативного стресу, порушенням функцій мітохондрій і збільшенням проникності мембран клітин.

Іншими авторами [30] доведено, що однократне введення наночастинок ферум оксиду (Fe_2O_3) у концентрації 100 мкг/мл стимулювало дихальну функцію крові, змінювало геометричний профіль еритроцитів, індукувало конформаційну перебудову гемоглобіну. Слабка токсичність, біосумісність і магнітні властивості Феруму дозволили створити на основі Fe_2O_3 маркер для онкодіагностики, стабілізований декстраном і натрію цитратом.

Останнім часом доведено, що зменшення розміру частинок призводить до якісних змін їх магнітних властивостей, що є основою однодомного стану та суперпарамагнетизму [31]. Відомо, що наночастинки на основі оксигідроксидів Феруму у вигляді феритину утворюються в організмі. Доведено також біологічну безпечність штучно створених наночастинок ферум оксиду [32, 33]. Це дало підставу саме на основі названих магнітних наноматеріалів провести дослідження і рекомендувати розробки для застосування у біології та медицині [34].

Внаслідок подовженого періоду напіввиведення препарати на основі надмалих суперпарамагнітних наночастинок ферум оксиду, що мають гідродинамічний розмір <40–50 нм, можуть застосовуватися при магнітно-резонансній ангіографії [35]. Оскільки надмалі наночастинки ферум оксиду ефективно захоплюються макрофагами та іншими фагоцитуючими клітинами, їх можна використовувати для магнітно-резонансної діагностики запальних і дегенеративних розладів, наприклад, у разі ішемічного інсульту, атеросклерозу, зокрема ще до звуження просвіту судини [36].

Спроби створити наноматеріали з кращими магнітними властивостями, ніж у наночастинок ферум оксиду, призвели до синтезу композитних наночастинок, зокрема MnFe_2O_4 . Зазначені наночастинки перевірили наночастинки ферум оксиду в ролі контрастних агентів для магнітно-резонансної томографії за проведених досліджень *in vivo* [27]. Композити наночастинок ферум оксиду із приєднаними атомами тербію не були цитотоксичними, а крім магнітних, демонстрували також флуоресцентні властивості [37].

Окрім діагностичних застосувань, композитні нанокристали на основі Феруму можуть використовуватися і для лікування злоякісних новоутворень. Так, поєднання можливості візуалізації пухлини за допомогою МРТ-дослідження з її подальшим руйнуванням призвело до розробки наноскорин $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{FePt}$. Створені та випробовуються гнтелеподібні наногетероструктури, зокрема

наночастинки $\text{Fe}_2\text{O}_3\text{-CdSe}$, що мають добре виражені магнітні та флуоресцентні властивості [38].

Однак майбутнє нанобіотехнологій не за наночастинками, а за функціональними нанобіоматеріалами, в яких наявність вільних (незв'язаних) наночастинок зведена до мінімуму, а найкраще — до нуля. З цієї причини перспективними нанопродуктами є функціональні нанобіоматеріали у вигляді наноаквахелатів різних металів, які проявляють високу біологічну активність і не є токсичними [39, 40]. Завдяки розробці ерозійно-вибухових нанотехнологій отримані нові наноматеріали. Зокрема, за методом Косінова-Каплуненка отримані колоїдні розчини наночастинок металів; аквахелати та гідратовані наночастинки біогенних металів; електрично нейтральні і електрично заряджені металеві наночастинки макро-мікроелементів в аморфному стані [41, 42].

За умов *in vitro* проведено оцінку біологічної активності цитратів металів (Fe, Cu, Zn, Mg), отриманих ерозійно вибуховою нанотехнологією, з розміром частинок не більше 200 нм. Досліджено їхній вплив на культури клітин людини HepG2 (гепатокарцинома), A549 (недрібноклітинний рак легень), HaCat (нормальні кератиноцити) та на білки сироватки крові людини (альбуміни, імуноглобуліни). Встановлено, що найбільшу цитотоксичну активність стосовно культури клітин проявляли наночастинки Купруму та Цинку, найменшу — Магнію. Найбільша денатуруюча активність стосовно білків плазми крові людини визначена для наночастинок Феруму, а найменша — для Магнію [43]. Отримані результати досліджень вказують на те, що цитотоксична та денатуруюча активність одного й того ж металу була різною, що може вказувати на різні мішені їхньої токсичної дії.

В ІБТ НААН виконуються комплексні дослідження щодо з'ясування фізіолого-біохімічних механізмів дії наноаквацитратів есенціальних мікроелементів в організмі лабораторних і сільськогосподарських тварин у різні періоди онтогенетичного розвитку та продуктивного використання [16, 17, 28, 44–51, 53, 54]. Розробляються і створюються біоак-

тивні кормові добавки на основі нанокомпонентів у вигляді наноаквацитратів металів, що проявляють високу біологічну активність і не є токсичними [40].

На основі порівняльного вивчення введення різних кількостей наноаквацитратів мікроелементів (Se, Cr, Co, Zn, Fe) до раціонів тварин встановлено мінімальні фізіологічно активні та оптимальні їх дози для ВРХ, свиней, кролів. Досліджено вплив цих сполук на: формування імунобіологічної реактивності в організмі, вміст у тканинах і рідинах макро- і мікроелементів, стан антиоксидантної, дезінтоксикаційної, репродуктивної та імунної систем, ріст і розвиток телят, поросят та кроленят, а також їх роль у лікуванні та профілактиці мікроелементозів у тварин. Вивчено вплив наноаквахелатів на біологічну цінність продукції тваринництва за показниками хімічного складу молока, м'яса, вмісту жирних кислот, мікроелементів і білків. Отримано результати досліджень, які забезпечили розроблення методології вивчення біологічної дії наноаквахелатів в організмі тварин, а також їхнього впливу на біологічну цінність та якість продукції тваринництва. Встановлено певні відмінності дії наноаквацитратів Se, Cr, Fe в організмі тварин порівняно з іншими сполуками цих мікроелементів, що зумовлено підвищеною їхньою фізіологічною активністю та інтенсивністю всмоктування у травному каналі.

Введення цитратів Cr, Se, Co та Zn до раціону корів упродовж першого місяця лактації сприяло зростанню дезінтоксикаційної функції печінки, покращувало обмін Ca, P та вітаміну E. Мінеральна добавка стимулювала секреторну активність молочної залози, підвищувала середньодобові надоді молока у корів на 3,3–7,8 % [47].

Досліджено комплексну дію цитратів мікроелементів на метаболічні процеси в організмі поросят у період відлучення від свиноматок. За результатами досліджень, встановлено виражений вплив цитратів мікроелементів у значно меншій концентрації (Fe — 150 мг; Zn — 110 мг; Mn — 110 мг; Cu — 155 мг; Co — 1 мг), порівняно з їх неорганічними солями, на показники мета-

болізму в крові поросят, зокрема зростання антиоксидантної ензиматичної активності еритроцитів, вмісту загального білка та гемоглобіну і кількості еритроцитів. Доведено, що за умов комплексного застосування наноцитратів Fe, Zn, Mn, Cu, Co в годівлі поросят посилюється адаптаційна здатність їх організму у період відлучення від свиноматок, що зумовлено стимуляцією функціональної активності антиоксидантної системи, резистентності та підвищенням стійкості тварин до захворювань [50].

Проведено комплексне дослідження впливу цитрату феруму в складі препарату «Нанофероцит» (ТУ У 21.2-30995014-009:2014), створеного в ІБТ НААН, на ферум- і оксигентранспортну функції крові та процеси метаболізму в організмі поросят. Встановлено ефективність застосування цього препарату для профілактики аліментарної ферумдефіцитної анемії. З'ясовано, що введення ферумцитрату сприяє підвищенню кількості еритроцитів і концентрації гемоглобіну у крові, позитивно впливає на ферумзв'язувальну функцію трансферину, стабілізує білки крові, вміст Fe, Cu, Co, Mn, вітамінів A та E, продуктів ПОЛ і показники антиоксидантної системи (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, відновлений глутатіон) [44, 49].

Експериментально доведено високу ефективність дії хром цитрату (Cr(III)) в організмі тварин на показники вуглеводного, білкового та ліпідного обмінів, активацію антиоксидантної, NO-синтазної, ендокринної та імунної систем [45, 48, 50, 51]. Встановлено, що введення до раціону тварин хром цитрату супроводжується коригувальним впливом на функцію наднирникових, щитоподібної та підшлункової залоз.

У вагітних кролематок і свиноматок за впливу хром цитрату здійснюється корекція різних ланок метаболізму, зокрема стабілізується вміст глюкози в крові, підвищується кількість глікогену в печінці та скелетних м'язах, збільшується гексокіназна та лактатдегідрогеназна активність еритроцитів, зростає вміст загального білка та знижується вміст триацилгліцеролів і холестерину.

ролу в крові тварин, нормалізується анти-оксидантна система і показники пероксидного окиснення ліпідів, а також покращується стан імунного захисту організму. Метаболічно ефективні кількості хром цитрату, які додатково вводилися до раціонів кроликів і свиней, можуть використовуватись як рекомендовані дози для регуляції процесів обміну речовин і профілактики недостатності Хрому(III) в організмі [45, 50, 51].

Дослідженнями встановлено, що наноаквацитрати мінеральних елементів є біологічно ефективними і безпечними для здоров'я та дозволені для збагачення кормів, сировини і харчових продуктів [52]. Так, за використання цитратів Cr, Se та Ge для підгодівлі бджіл виявили зниження вмісту важких металів (Cd, Pb) як у тканинах цілого організму, так і окремих анатомічних відділах бджіл. Виявлено позитивні зміни динаміки вмісту окремих фракцій ліпідів, що сприяють процесам метаболічного нагромадження енергетичних і пластичних компонентів трофічного ланцюга та підтверджують доцільність використання цитратних добавок у підгодівлі бджіл [46]. Розроблені технічні умови (ТУ У 10.9-30995014-011:2014) дозволяють виготовляти і вводити до компонентів підгодівлі бджіл наноаквацитрати Cr, Ge, Se в кількості 0,5 мг/1000 мл сиропу кожного, що забезпечує підвищення їх життєздатності, збільшення вмісту в організмі та продукції бджільництва есенціальних мікроелементів, ліпідних і вуглеводних компонентів [53]. Застосування цитрату Cr у живленні кролів стимулювало обмін мінеральних елементів, протеїнів і ліпідів в організмі та підвищувало біологічну цінність кролятини [51, 54].

Отже, нанотехнології є мультидисциплінарним напрямом фундаментальної та прикладної науки з широким спектром різноманітних засобів та інструментів на стику біології, фізики, хімії та інженерії. Нанотехнології є одним з найважливіших напрямів у біологічній науці, гуманній і ветеринарній медицині, сучасному сільському господарстві, а також харчовій промисловості, що може стати рушійною економічною силою в найближчому майбутньому.

1. Feynman R. P. There's Plenty of Room at the Bottom. *Engineering and Science*, 1960, pp. 22–36.
2. Taniguchi N. On the basic concept of 'nanotechnology.' In: Proceedings of the International Conference on Production Engineering, Tokyo, 1974. Tokyo: Japan Society of Precision Engineering, pp. 18–23.
3. Sytar O. V., Novyts'ka N. V., Taran N. Yu. Kalens'ka S. M., Hanchurin V. V. Nanotechnology in modern agriculture. *Physics living*, 2010, vol. 18, pp. 113–116.
4. ISO/TS 11360:2010 Nanotechnologies — Methodology for the classification and categorization of nanomaterials. Ed. 2010–07–15. ISO, 2010, 32 p.
5. The government scientific and technical program «Nanotechnologies and nanomaterials» on 2010–2014 (Resolution of Cabinet of Ministers of Ukraine from October, 28 2009, № 1231). Official announcer of Ukraine. 2009, № 90, p. 9.
6. Chekman I. S., Serdyuk A. M., Kundiyev Yu. I., Trakhtenberh I. M., Kaplinsky S. P., Babiy V. F. Nanotoxicology: directions of researches (review). *Environment and health*. 2009, № 1 (48), pp. 3–7. (in Ukrainian)
7. Kartel M. T., Tereshchenko V. P. Conception of methodology of authentication and toxicological researches of nanomaterials and risk estimation for a human organism and environment at their production and application. Interdepartmental collection of scientific papers «Chemistry, physics and technology of surface», *Naukova Dumka*, 2008, no. 14, pp. 565–583. (in Ukrainian)
8. Prodanchuk N. H., Balan H. M. Nanotoxicology: the state and prospects of researches. *Modern problems of toxicology*, 2009, no. 3–4, pp. 4–18. (in Ukrainian)
9. Paton B., Moskalenko V., Chekman I., Movchan B. Nanoscience and nanotechnologies: technical, medical and social aspects. *Bulletin of the National Academy of Sciences of Ukraine*, 2009, no. 6, pp. 18–26. (in Ukrainian)
10. Chuyko A. A., Pohorelyi V. K., Pentyuk A. A. Medical chemistry and clinical application of silox. *Scientific thought*, 2003, p. 415. (in Ukrainian)
11. Nitsak O. V., Kazak L. I., Chekman I. S. Efficiency of suspension of nanodispersible silica at hepatitis, caused by isoniazid. *Pharmacology and medical toxicology*. 2008, no 1–3, pp. 66–69. (in Ukrainian)
12. Chekman I. S. Nanopharmacology: experimentally-clinical aspect. *Medical business*. 2008, no 3–4, pp. 104–109. (in Ukrainian)

13. Horbyk P. P., Chekhun V. F., Shpak A. P. Physico-chemical and biomedical aspects of the creation of multifunctional nanocomposites and nanorobots. *Theses of conference «Nanosize systems. Structure-property technology»*. 2007, p. 422. (in Ukrainian)
14. Kumanan V, Nugen S. R, Baeumner A. J, Chang Y.-F. A biosensor assay for the detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in fecal samples. *Journal of Veterinary Science*, 2009, 10 (2), pp. 35–42.
15. Yuan P., Ma Q., Meng R., Wang C., Dou W., Wang G., Su X. . Multicolor quantum dot-encoded microspheres for the fluoroimmunoassays of chicken newcastle disease and goat pox virus. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2009, 9 (5), pp. 3092–3098.
16. Vlizlo V. V., Zaichenko O. S., Ivanytska L. A., Kozak M. R., Ostapiv D. D. Definition deoxy-nucleotide oligo complexes with polymer carriers. *Biotechnologia acta*, 2013, vol. 6, no. 5, pp. 94–99. Available at: http://nbuv.gov.ua/j-pdf/biot_2013_6_5_10.pdf
17. Ivanytska L. A. Content of physiological prion prions in rap medical bodies under the action of oligonucleotide complementary to the mRNA of prions, and synthetic compounds oligomeric cationic type. Thesis for the degree of candidate of biological sciences. Lviv, 2012. 20 p. (in Ukrainian)
18. Encyclopedia of pharmaceutical technology. Third Edition. / [Edited by J. Swarbrick, J. C. Boylan]. New York, London: Informa health-care, 2007, 1171 p.
19. Zhoakim K., Plever L. Nanosciences. Invisible Revolution. Translated from French by A. Kavtaskina. *KoLibri*, 2009, 240 p. (in Russian)
20. Demina N. B., Skatkov S. A. Pharmaceutical Nanotechnology: Development of technological disciplines in higher pharmaceutical education. *Farmatsiya*, 2009, no. 2, p. 46–50. (in Russian)
21. Gregoriadis G. Engineering liposomes for drug delivery: progress and problems. *Trends Biotechnol*, 1995, no. 13, pp. 527–537.
22. Roy I., Ohulchaskiy T. Y., Pudavar H. E., Bergey E. Y., Oseroff A. R., Morgan J., Dougherty T. J., Prasad P. N. Ceramic-based nanoparticles entrapping water insoluble photosensitizing anticancer drugs: a novel drug-carrier system for photodynamic therapy. *J. Am. Chem. Soc*, 2003, no. 125, pp. 7860–7865.
23. Ulbergh Z. R., Karamushka V. I., Gruzina T. G. Determining the location and isolation factor binding colloidal gold particles. *Biotechnolog*, 1986, no. 1, pp. 65–68. (in Russian)
24. Danylovych H. V., Hruzina T. H., Ulbergh Z. R., Kosterin S. O. Identifying and Catalytic Properties of Mg^{+2} -dependent ATP-hydrolase plasma membranes of Bacillus sp B 4253 capable of accumulating gold. *Ukr. Biochem. magazine*. 2004, no. 16, pp. 45–51. (in Ukrainian)
25. Gao X., Cui Y., Levenson R. M., Chung L. W. K., Nie S. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat. Biotechnol*. 2004, no. 22, pp. 969–976.
26. Ito A., Shinkai M., Honda H., Kobayashi T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *J. Biosci. Bioeng*, 2005, no. 100, pp. 1–11.
27. An K., Hyeon T. Synthesis and biomedical applications of hollow nanostructures. *Nano Today*, 2009, 4 (4), pp. 359–373.
28. Syrvatka V. J., Slyvchuk Y. I., Rozgoni I. I. Chemical synthesis of silver nanoparticles with attractive physicochemical properties. International OSA Network of student IONS–14, 2013, Torun, Poland, p. 29.
29. Kovalenko L. V., Folmanys H. E. Dietary iron nanopowders. *Science*, 2006, p. 124. (in Russian)
30. Kantselson B. A., Privalova L. I., Kuzmin S. V. Experimental data for the evaluation and pulmonotoxicity resorptive current toxicity of particles of magnetite (Fe_3O_4) nano- and micrometer range. *Toxicological herald*, 2010, no. 2, pp. 17–24.
31. Doroshenko A. M., Chekman I. S. Magnetic nanoparticles: Properties and application of biomedical. *Ukrainian Medical Journal*, 2014, no. 4 (102), pp. 10–13. (in Ukrainian)
32. Gajdosíková A., Gajdosík A., Koneracká M., Závísavá V., Stvrtina S., Krehnárová V., Kopcanský P., Tomasovicová N., Stolc S., Timko M. Acute toxicity of magnetic nanoparticles in mice. *Neuro Endocrinol. Lett.*, 2006, 27, no. 1–2, pp. 96–99.
33. Singh S. P., Rahman M. F., Murty U. S., Mahboob M., Grover P. Comparative study of genotoxicity and tissue distribution of nano and micron sized iron oxide in rats after acute oral treatment. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2013, 266 (1), pp. 56–66.
34. Chekman I. S., Doroshenko A. M. The interaction of iron oxide nanoparticles with cell membranes and components. *Ukrainian Medical Journal*, 2012, vol. 87, no. 1, pp. 31–37. (in Ukrainian)
35. Allkemper T., Bremer C., Matuszewski L., Ebert W., Reimer P et al. Contrast-enhanced blood-pool MR angiography with optimized iron oxides: effect of size and dose on vascular contrast

enhancement in rabbits. *Radiology*, 2002, 223 (2), pp. 432–438.

36. Tsuchiya K., Nitta N., Sonoda A., Otani H., Takahashi M., Murata K. Atherosclerotic imaging using 4 types of superparamagnetic iron oxides: new possibilities for mannan-coated particles. *Eur. J. Radiol.*, 2013, 82 (11), pp. 1919–1925.

37. Zhang Y. X., Das G. K., Xu R. Tan T. T. Y. Tb-doped iron oxide: bifunctional fluorescent and magnetic nanocrystals. *J. Mater. Chem.*, 2009, 19 (22), pp. 3696–3703.

38. Selvan S. T., Patra P. K., Ang C. Y., Ying J. Y. Synthesis of silica-coated semiconductor and magnetic quantum dots and their use in the imaging of live cells. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, 2007, 46 (14), pp. 2448–2452.

39. Kaplunenko V. G., Kosinov N. V., Polyakov D. V. Getting new nutrients and biocidal nanomaterials using erosion-explosive dispersion of metals: Proceedings of the Materials Research and practical conference with international participation «Nanotechnology and nanomaterials in biology and medicine». *SibUPK*, Novosibirsk, 2007, pp. 134–137. (in Russian)

40. Borysevykh V. B., Borysevykh B. V., Kaplunenko V. H., Kosinov M. V. Nanotechnology in veterinary medicine. (Ed. prof. B. B. Borysevykh, prof. V. G. Kaplunenko), Lira, 2009, 232 p. (in Ukrainian)

41. Kosinov M. V., Kaplunenko V. H. Method of aquachelates of nanometals «Erosion-explosive nanotechnology receiving aquachelates of nanometals». Patent of Ukraine. 29856, 2008. (in Ukrainian)

42. Kosinov M. V., Kaplunenko V. H. Method of hydrated and karbotovanyh nanoparticles «of electric nanotechnology getting hydrated and karbotovanyh nanoparticles». Patent of Ukraine. 35582, 2008. (in Ukrainian)

43. Korolenko T., Dmytrukha N., Marchenko M. Assessment of biological activity of Cu, Zn, Fe, Mg citrates, produced in nanotechnology by in vitro studies. Book of abstracts *Ukrainian German symposium on physics and chemistry of nanostructures and on nanobiotechnology*, Berezove, the Crimea, 2010, 257 p. (in Ukrainian)

44. Berezovsky R. Z. Metabolic processes and functional activity of erythrocytes for anemia prevention piglets iron citrate. Thesis. for the degree of Candidate of Veterinary Sciences. Lviv, 2015. 18 p. (in Ukrainian)

45. Iskra R. Ya. Biochemical processes in animals for the actions of various compounds of chromium (III). Thesis. for the degree of Doctor of Biological Sciences. Lviv, 2013. 44 p. (in Ukrainian)

46. Kovalchuk I. I. Physiological and biochemical parameters of blood, milk and tissues of cattle in the alimentary load cadmium and zinc. Thesis. for the degree of Doctor of Veterinary Sciences. Lviv, 2015. 20 p. (in Ukrainian)

47. Khomyn M. M., Fedoruk R. S., Kropyvka S. Y. Geochemical processes in the cows and biological value of milk under the influence of citrate chromium, selenium, cobalt and zinc. *Animal biology*. 2015, vol. 17, no. 1, pp. 155–162. (in Ukrainian)

48. Vlizlo V. V., Iskra R. Ja., Maksymovych I. Ya., Lis M. W. Niedziółka J. W. Disturbance of antioxidant protection and natural resistance factors in rats with different availability of trivalent chromium (CrIII). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2013, vol. 37, no. 1, pp. 1–22.

48. Vlizlo V. V., Iskra R. Ya., Maksymovych I. Ya., Berezovsky R. Z. The system of erythrocyte antioxidant protection in piggery as affected by ferrous citrate. *British Journal of Education and Science*. 2014, vol. 3, no. 1, (5), pp. 44–49.

49. Iskra R. Ya., Slivinska O. M., Shatynska O. A., Salyha N. O., Svarchevska O. Z., Buchko O. M., Pylypets A. Z., Senkiv O. M., Pryymych N. I. The use of citrate trace elements in animal nutrition. Lviv, 2015, 30 p. (Guidelines). (in Ukrainian)

50. Iskra R. Ya., Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Antonyak H. L. Chromium in the diet of animals. Monograph, Kyiv, Agricultural Science, 2014, 312 p. (in Ukrainian)

51. Yemchenko N. L., Kharchenko O. O., Yashchenko O. V., Yermolenko V. P., Hulich M. P., Serdyuk A. M., Babiy V. F., Tomashevska L. A., Moiseyenko I. Ye. Way evaluation of the safety of nanotechnology products. Patent N67535; 27.02.2012. (in Ukrainian)

52. Fedoruk R. S., Kovalchuk I. I. Mineral supplements for feeding bees. Ukraine Specifications—10.9-30995014-011:2014, 18 p. (in Ukrainian)

53. Lesyk Ya. V., Iskra R. Ya. Age dynamics of individual cows immunological blood parameters for different periods of separation from krolematok. XVIII Congress of Ukrainian Physiological Society with Intern. participation, 20–22 May 2010: thesis reported. Odessa: Physiological journal, 2010, vol. 56, no 2, p. 301. (in Ukrainian).