DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-5-6
УДК: 619:616/535

Угнетение репродукции вирусов животных в системе *in vivo* и *in vitro* лазерным и поляризованным оптическим излучением

Красочко П.А.
Krasochko P.A.

¹Красочко П.А., ²Самуйленко А.Я.,
³Плавский В.Ю., ²Еремец В.И., ²Пухова Н.М.,
¹Красочко П.П., ¹Машеро В.А.

¹УО "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины", krasochko@mail.ru
²ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности", vnitibp@mail.ru
³ГНУ "Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси" E-mail - v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

Ключевые слова: поляризованное полихроматическое излучение, низкоинтенсивное лазерное излучение, вирус ИРТ, культура клеток МДБК.

Резюме. В статье приведены результаты исследований по влиянию низкоинтенсивного лазерного и полихроматического поляризованного оптического излучения на репродукцию вирусов ИРТ в культуре клеток МДБК (*in vitro*) и организме животных (*in vivo*). Показано, что применение излучений в определенных режимах оказывает угнетающее действие на репликацию вирусов, что может быть использовано для защиты животных от вирусных инфекций.

Введение

Для борьбы с вирусными инфекциями животных применяются различные подходы; активная специфическая профилактика с использованием живых и инактивированных вакцин; пассивная профилактика с использованием специфических иммуноглобулинов и сывороток; неспецифическая профилактика с использованием иммуномодулирующих средств; химиотерапия и химиопрофилактика вирусных инфекций с использованием противовирусных препаратов; различные физические методы.

Вирусы – внутриклеточные паразиты и оказать на них влияние с помощью лекарственных средств, не повредив при этом клетки макроорганизма, практически невозможно. Поэтому применение противовирусных препаратов в большинстве случаев малоэффективно, а опасность возникно-

Inhibition of reproduction of animal viruses in the system *in vivo* and *in vitro* by laser and polarized optical radiation

¹Krasochko P.A., ²Samuylenko A.Ya., ³Plavsky V.Yu.,
²Yeremets V.I., ²Pukhova N.M., ¹Krasochko P.P.,
¹Mashero V.A.

¹UO Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine, krasochko@mail.ru
²All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Biological Industry, vnitibp@mail.ru
³GNU "Institute of Physics named after B.I. Stepanova, NAS of Belarus" E-mail - v.plavskii@ifanbel.bas-net.by

Key words: polarized polychromatic radiation, low-intensity laser radiation, IRT virus, MDBC cell culture

Abstract. The article presents the results of studies on the effect of low-intensity laser and polychromatic polarized optical radiation on the reproduction of IRT viruses in MDBC cell culture (*in vitro*) and animal body (*in vivo*). It is shown that the use of radiation in certain modes has a inhibitory effect on the replication of viruses, which can be used to protect animals from viral infections.

вления побочных нежелательных эффектов велика. Основным недостатком химиотерапии и химиопрофилактики вирусных инфекций является высокая токсичность препаратов, которые поражают не только инфицированные клетки организма, но и нормально функционирующие.

В этой связи, одним из перспективных направлений борьбы с вирусными инфекциями является использование физических факторов. При этом заслуживает внимания применение различных видов оптического излучения – солнечного, ультрафиолетового, лазерного, полихроматического поляризованного [1-6]. По своей физической природе свет – мощное волновое воздействие, вызывающее целый ряд физиологических и биохимических изменений как на клеточном тканевом уровне, так и на уровне целостного организма. При проникновении света в ткани происходит поглощение энергии различными структурами организма, а именно водой, форменными элементами крови и меланином кожи [7]. На сегодняшний день широко используются низкоинтенсивные полупроводниковые лазеры, светодиодные аппараты для фототерапии и аппараты монохроматического поляризованного излучения [8]. Прогресс медицинской науки и техники стал в значительной степени определяться достижениями в области квантовой электроники [8].

Свет лазера и поляризованного излучения отличаются от естественного света. Характерные их особенности – монохроматичность (т. е. генерируется только одна длина волны), когерентность (т.е. согласованное протекание волновых процессов во времени и пространстве) и поляризация (т.е. колебания электрического вектора световой волны происходит в одной плоскости).

Исследователи идентифицировали различные биологические эффекты, которые возникают в процессе лазерной стимуляции: активацию продукции АТФ, усиление син-

Для цитирования / For citation

Угнетение репродукции вирусов животных в системе *in vivo* и *in vitro* лазерным и поляризованным оптическим излучением / Красочко П.А. [и др.] // Ветеринария и кормление. - 2019. - №5. - С. 19-21
Inhibition of reproduction of animal viruses in the system *in vivo* and *in vitro* by laser and polarized optical radiation / Krasochko P.A. [et. al.] // Veterinaria i kormlenie. - 2019. - №5. - P. 19-21

теза коллагеновых волокон кожи, увеличение активности специфических ферментов, активация лимфатической системы, благоприятные условия для развития новых кровеносных сосудов, активация синтеза ДНК и белка.

В исследованиях, выполненных в 1981 году в университете Земельвайс в Будапеште, было установлено, что биологической активностью и терапевтическим действием обладает не только лазерное излучение, но и полихроматический поляризованный свет теплового источника (галогенной лампы). Были созданы и получили развитие системы светотерапии на основе поляризованного света "Биоптрон". По степени поляризации света лампа "Биоптрон" приближается к лазерам, но в отличие от монохроматического когерентного излучения лазеров, его свет является полихроматическим (широкополосным), то есть некогерентным. После применения поляризованного света происходят изменения и в иммунной системе, одно из которых – увеличение количества клеток Лангерганс, которое сопровождается повышением продукции иммуноглобулинов, способствующих ликвидации патологических процессов [2,9].

Таблица 1 – Результаты обнаружения ДНК вируса ИРТ, культивируемого в монослое перевиваемых клеток МДБК, облученных поляризованным полихроматическим светом (n=3)
Table 1 - The results of the detection of DNA of the IRT virus, cultivated in a monolayer of transplantable MDBK cells irradiated with polarized polychromatic light (n = 3)

Режим облучения	Время облучения, мин	Количество копий ДНК	Степень угнетения репродукции вируса ИРТ, (%) %
До заражения	2	$(8,74 \pm 0,85) \cdot 10^{7***}$	36,7
	4	$(7,44 \pm 0,72) \cdot 10^{7**}$	46,1
	6	$(1,01 \pm 0,01) \cdot 10^{8*}$	26,8
После заражения	2	$(1,09 \pm 0,10) \cdot 10^{8*}$	21,0
	4	$(1,12 \pm 0,09) \cdot 10^8$	18,8
	6	$(8,87 \pm 0,87) \cdot 10^{7***}$	35,7
Двукратное - до и после заражения	2	$(5,95 \pm 0,56) \cdot 10^{7***}$	56,9
	4	$(1,17 \pm 0,11) \cdot 10^{7***}$	91,5
	6	$(5,27 \pm 0,49) \cdot 10^{7***}$	61,8
Контроль (без облучения)		$(13,8 \pm 0,54) \cdot 10^8$	-

Примечание: Достоверность * – $P \leq 0,05$, ** – $P \leq 0,01$, *** – $P \leq 0,001$

Таблица 2 – Влияние облучения клеток МДБК низкоинтенсивным лазерным излучением
Table 2 - The effect of irradiation of MDBK cells with low-intensity laser radiation

Режим облучения	Время облучения, мин	Количество копий ДНК	Степень угнетения репродукции вируса ИРТ, %
До заражения	1,0	$5188,00 \pm 1959,71^*$	220
До заражения	1,5	$7913,67 \pm 1350,74$	144
До заражения	2,0	$7662,50 \pm 107,37$	112
После заражения	1,0	$8182,00 \pm 3228,43$	139
После заражения	1,5	$2758,00 \pm 1104^*$	413
После заражения	2,0	$3289,50 \pm 2282,5^*$	826
Контроль		$11392,00 \pm 1938,12$	-

Примечание: Достоверность * – $P \leq 0,05$

Таблица 3 – Результаты обнаружения ДНК вируса ИРТ у телят после вакцинации против инфекционного ринотрахеита и облученных поляризованным полихроматическим светом (n=5)
Table 3 - Results of detecting RTI virus DNA in calves after vaccination against infectious rhinotracheitis and irradiated with polarized polychromatic light (n = 5)

Группы телят	Количество копий ДНК в 250 мкл сыворотки крови телят на день взятия крови			
	7-й день	21-й день	28-й день	35-й день
	Ко-во (%)	Ко-во (%)	Ко-во (%)	Ко-во (%)
Контрольная группа (необлученные)	$56,7 \pm 3,5$ (100%)	$78,5 \pm 4,5$ (134%)	$68,5 \pm 3,81^{**}$ (117%)	$75,1 \pm 5,63^{***}$ (128%)
Опытная группа (облученные)	$90,4 \pm 2,79^{***}$ (100%)	$106,5 \pm 4,51^{**}$ (118%)	$42,6 \pm 3,57$ (47,1%)	$8,4 \pm 0,76$ (9,3%)

Достоверность: * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

При низкоинтенсивном лазерном и поляризованном облучении за счет активации процессов репликации, транскрипции и трансляции повышается неспецифическая резистентность каждой отдельной клетки организма. Возрастает надежность ее работы и увеличиваются возможности адаптации к широкому кругу патогенных факторов. Формируется состояние, обозначенное Ф.З. Меерсоном как "адаптивная стабилизация клеточных структур".

Целью настоящего исследования явилось проведение исследований по установлению свойства низкоинтенсивного лазерного и полихроматического поляризованного оптического излучения угнетать репродукцию вирусов, обусловленное повышением устойчивости чувствительных клеток к проникновению вирусов и их дальнейшей репродукции *in vitro* (культуре клеток) и *in vivo* (в организме животных).

Материалы и методы

Исследования проведены в условиях УО "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины", ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности", ГНУ "Институт физики имени Б.И. Степанова НАН Беларуси", РУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского"

В работе использовали сформированный монослой клеток МДБК 0,5 л стеклянных плоских сосудов, вирус инфекционного ринотрахеита (ИРТ, штамм КМИЭВ-6), аппарат "Биоптрон" и аппарат лазерного "СТП-99".

Изучение влияния поляризованного полихроматического излучения (ППИ) на репродукцию вируса ИРТ проводили в 3 этапа:

1 – клетки облучали по 2, 4 и 6 мин при интенсивности излучения 40 мВт/см², после чего производили заражение клеток;

2 – клетки облучали через 2 часа после заражения вирусом по 2, 4 и 6 мин;

3 – облученные вначале клетки как в этап 1, заражали вирусом и через два часа проводили повторное облучение. Контролем служили зараженные клетки вирусом без облучения.

Изучение влияния низкоинтенсивного лазерного излучения (НЛИ) на репродукцию вируса ИРТ проводили в 2 этапа:

1 – клетки облучали НЛИ по 1,0, 1,5 и 2,0 мин при интенсивности излучения 1 Вт/см², после чего производили заражение вирусом;

2 – клетки облучали НЛИ по 1,0, 1,5 и 2,0 минуты при интенсивности излучения 1 Вт/см² через 2 часа после заражения.

Контролем также служили зараженные клетки вирусом без облучения.

Во всех случаях после заражения через 48 часов фиксировали характерное для вируса ИРТ ЦПД. После замораживания клеток в каждом образце контролировали наличие вируса с использова-

нием разработанной методики количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, чувствительность которой составляла 40 копий/мл.

Результаты исследований

В таблице 1 приведены результаты выявления наличия ДНК вируса ИРТ в инфицированных клетках МДБК, облученных поляризованным полихроматическим светом. Степень угнетения репродукции вируса определяли по формуле:

$$\gamma = 100 - (n_0/n_k) \cdot 100,$$

где γ – степень угнетения репродукции вируса; n_0 – количество копий ДНК вируса ИРТ, облученного поляризованным полихроматическим светом; n_k – количество копий ДНК необлученного вируса ИРТ (в контрольной группе).

Полученные результаты свидетельствуют, что облучение клеток ППИ приводит к угнетению репродукции вируса ИРТ. Характерно, что предварительное облучение уменьшает количество вируса на 26,8–46,1%, облучение после заражения – в пределах 18,8–35,7%. Когда проводят облучение до и после заражения, количество вируса уменьшается от 56,9% до 91,5% по сравнению с контролем. Это свидетельствует, что ППИ активизирует метаболизм клеток, препятствует проникновению вируса в клетку и тем самым происходит угнетение его репродукции.

В таблице 2 приведены результаты выявления наличия ДНК вируса ИРТ в клетках МДБК после культивирования с различными сроками облучения монослоя низкоинтенсивным лазерным излучением.

Из таблицы 2 видно, что в культуре клеток без облучения при обычной репродукции вируса ИРТ выявлялось в ПЦР 11392,00±1938,12 копий ДНК. Но облучение клеточного монослоя в течение 1 мин НЛИ степень угнетения снизилась на 220%, при облучении 1,5 мин – на 144%, при облучении 2,0 мин – 112%. Но облучение после заражения выявило обратный процесс – облучение 1 мин – 139%, 1,5 мин – 413%, 2,0 мин – 826%. Полученные данные свидетельствуют, что увеличение экспозиции до заражения снижает противовирусный эффект, но увеличение экспозиции после заражения – существенно угнетает репродукцию вируса.

Вторую серию опытов по изучению влияния поляризованного света на репродукцию вирусов в системе *in vivo* провели на животных. Так, как особенностью иммунного ответа при использовании живых вакцин является репродукция вируса в чувствительных клетках, исследовали наличие вируса и его количества в пробах сыворотки крови вакцинированных животных. Для этого использовали разработанный нами метод количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Результаты наличия вируса ИРТ в сыворотке крови телят после вакцинации против ИРТ и облученных поляризованным полихроматическим светом представлены в таблице 3. Из таблицы 3 видно, что под воздействием поляризованного облучения отмечено угнетение репродукции вакцинного вируса в чувствительных клетках. Так, на 21 день концентрация вируса составляла 118% к исходным данным, на 28 день – 47,1%, на 35 день – 9,3%. У контрольных животных эти показатели были значительно выше: на 21 день – 134%, на 28 день – 117%, на 35 день – 128%. Полученные результаты свидетельствуют, что облучение приводит к угнетению репродукции вируса после первичного введения вакцины. Усиление репродукции вируса отмечается после второй иммунизации.

Эти данные объясняют воздействие ППС на репродукцию вируса ИРТ в системе *in vivo*, т.е. при облучении животных происходит активизация чувствительных клеток, приводящая к угнетению способности проникновения вируса в чувствительные клетки.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что нами

выявлено новое свойство поляризованного оптического излучения угнетать репродукцию вирусов как в системе *in vitro*, так и в системе *in vivo*. Это свойство имеет большую практическую значимость и результаты можно использовать:

- для изучения взаимодействия системы вирус-клетка;
- для профилактики и терапии вирусных инфекций у животных и человека;
- для снижения концентрации вирусов в организме инфицированных животных и для повышения эффективности лечебных мероприятий;
- для стимуляции поствакцинального иммунитета при иммунизации живыми вирусными вакцинами.

Литература

1. Ятусевич А.И. и др.). Дифференциальная диагностика болезней животных: практ. пособие // Техноперспектива, Минск, 2010. - 449 с.
2. Машеро В.А., Красочко П.П. Новые экологические подходы к активизации иммунной системы организма животных и птиц // Ученые записки УО "Витебская государственная академия ветеринарной медицины". - Витебск, 2004. - Т. 40. - С. 249 - 250.
3. Красочко П.А., Плавский В.Ю., Машеро В.А., Карамалак А.И., Красочко П.П., Пташок А.Л. Методические указания по использованию полихроматического поляризованного света для лечения и профилактики заболеваний животных, утв. ГУВ МСХП РБ // Изд. РУП "Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского", Минск, 2008. - 40 с.
4. Машеро В.А., Плавский В.Ю., Карамалак А.И., и др. Особенности воздействия полихроматического поляризованного света на организм животных // Биозкология и ресурсосбережение: материалы VIII Международной конференции молодых ученых, 21 - 22 мая 2009 г. - Витебск, 2009. - С. 143 - 144.
5. Красочко П. А., Плавский В. Ю., Борисовец Д. С. Результаты изучения антивирусного действия лазерного излучения // Ветеринарна Медицина : мижвід. тематичний навуков. зб. - Харків, 2015. - Вип. 101. - С. 84-88.
6. Красочко П. А., Плавский В. Ю., Красочко П. П. и др. Результаты изучения антивирусного действия полихроматического поляризованного света // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. - № 4. - С. 154-162.
7. Бриль Г.Е., Петросян В.И., Житенева Э.А., Синицын Н.И., Киричук В.Ф., Мартынов Л.А. Новые данные об изменении структуры биожидкостей под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения // Физическая медицина, 1996. - Т.5. - №1-2. - С.39-40.
8. Загускин С.Л., Загускина С.С. Лазерная и биоуправляемая квантовая терапия. - М.: Изд-во Квантовая медицина, 2004. - 113 с.
9. Козловская Л.Е., Улащик В.С. Фототерапия полихроматическим поляризованным светом (биоптронотерапия) // Здоровоохранение, 199. - № 8 - С. 53-55.
10. Илларионов В. Е. Современные методы физиотерапии. Москва, изд. Медицина, 2007. -С. 164-171.

Literature

1. Yatusевич A.I. and etc.). Differential diagnosis of animal diseases: pract. allowance // Technoperspective, Minsk, 2010. -- 449 p.
2. Mashero V.A. Krasochko P.P. New ecological approaches to activating the immune system of animals and birds // Uchenye zapiski UO Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine. - Vitebsk, 2004. - T. 40. - P. 249 - 250.
3. Krasochko P.A., Plavsky V.Yu., Mashero V.A., Karamalak A.I., Krasochko P.P., Ptashok A.L. Guidelines for the use of polychromatic polarized light for the treatment and prevention of animal diseases, approved. GUV MAHP RB // Publishing House. RUE "Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S.N. Vyshelsky", Minsk, 2008. - 40 p.
4. Mashero V.A., Plavsky V.Yu., Karamalak A.I., et al. Features of the effects of polychromatic polarized light on the animal organism // Bioecology and Resource Saving: Proceedings of the VIII International Conference of Young Scientists, May 21-22, 2009 - Vitebsk, 2009. -- P. 143 - 144.
5. Krasochko P. A., Plavsky V. Yu., Borisovets D. S. Results of the study of the antiviral effect of laser radiation // Veterinary Medicine: mizhvid. thematic science. zb. - Kharkiv, 2015. - VIP. 101. - P. 84-88.
6. Krasochko P. A., Plavsky V. Yu., Krasochko P. P. et al. Results of studying the antiviral effect of polychromatic polarized light // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. - 2014. - No. 4. - P. 154-162.
7. Brill G.E., Petrosyan V.I., Zhiteneva E.A., Sinitsyn N.I., Kirichuk V.F., Martynov L.A. New data on changes in the structure of biofluids under the influence of low-intensity laser radiation // Physical Medicine, 1996. - V. 5. - No. 1-2. -P. 39-40.
8. Zaguskin S. L., Zaguskina S. S. Laser and biocontrolled quantum therapy. - M.: Publishing House of Quantum Medicine, 2004. - 113 p.
9. Kozlovskaya L.E., Ulashchik V.S. Phototherapy with polychromatic polarized light (bioptron therapy) // Health, 199. - No. 8 - P. 53-55.
10. Illarionov V.E. Modern methods of physiotherapy. Moscow, ed. Medicine, 2007. -P. 164-171.