

СИНТЕЗ, СТРУКТУРНІ ПАРАМЕТРИ ТА ТОКСИКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НАНОЧАСТИНОК БІОГЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ

Пазюра Ю.І.¹, аспірант

Беспалова І.І.¹, д. техн. н., ст. дослідник

Кошевой В.І.², д. філософії з вет. мед.

Науменко С.В.², д. вет. н., професор

Єфімова С.Л.¹, д. фіз.-мат. н., професор, чл.-кор. НАН України

¹Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, м. Харків

²Державний біотехнологічний університет, м. Харків

Цинк (Zn) – життєво важливий мікроелемент, який є необхідним для метаболічних функцій, росту та покращення роботи залоз тварин і птиці, є кофактором активності до 300 різних ензимів та відіграє важливу роль у транскрипції генів і поділі клітин, тощо [1]. Оскільки Zn має набагато нижчий рівень засвоюваності в організмі птиці, ніж у тварин, кількість даного мікроелементу у раціоні курей повинна бути майже в 20-30 разів більшою від раціону тварин. Збільшення потреби у Zn та зміни у балансі між іншими мікроелементами суттєво залежать від впливу теплового стресу на організм курей. Що призводить до зниження засвоєння вітамінів і поживних речовин [2, 3].

У свою чергу фосфор (P) не менш важливий мікроелемент, який бере участь у різних метаболічних процесах, у тому числі в обміні кальцію (Ca), які є життєво необхідними для підтримки гомеостазу внутрішнього середовища та тісно пов'язані між собою, тому нестача або надлишок одного з них впливає на метаболізм іншого. Зазначимо, що зернові в кормах для курей, містять молекули фітинової кислоти, яка має у своєму складі ~75% P, однак фосфор у складі такої кислоти засвоюється в їх організмі. Причина полягає в тому, що травний тракт бройлери не може розщеплювати цю сполуку. Внаслідок малої доступності, виникає проблема високої вартості кормів, необхідних для того, щоб задовільнити потребу курей у P [4]. Оскільки бройлери швидко досягають ваги ~2,6 кг, дефіцит Ca та P стає все більш поширеним і може викликати рахіт та дихондроплазію великогомілкової кістки, що призводить до кульгавості та високого рівня смертності птиці[5].

Отже раціони птиці доповнюються харчовими джерелами Zn, P та Ca у вигляді неорганічних солей, які мають бути високої чистоти та їх концентрація має відповідати нормам, що значно впливає на біосумісність та біодоступність мікроелементів. На сьогодні є актуальним розроблення методів отримання наночастинок (НЧ) до складу яких входять Zn, P, Ca, які дозволили б контролювати їх хімічні та фізичні властивості, такі як розмір, форма, біосумісність, розчинність тощо.

До того ж розроблення та використання НЧ з окисно-відновними властивостями для корекції стресових станів, дефіциту мікроелементів, безплідності, порушень метаболізму в організмі тварин, а особливо прооксидантно-антиоксидантної системи, є актуальною темою. Неорганічні НЧ набувають широкого застосування у тваринництві завдяки своїм переважним характеристикам, таким як низька токсичність, висока біодоступність, значна площа поверхні порівняно з макроелементами та пролонгована дія [1, 6]. Різноманітні НЧ стали значним об'єктом досліджень на тваринах. Слід зазначити, що НЧ, які містять цинк та кальцій, характеризуються невеликими розмірами та проявляють широкий спектр властивостей завдяки підвищеній засвоюваності в шлунково-кишковому тракті та впливу на тканини-мішені організму. Однак обмеження їх широкого впровадження у тваринництво та птахівництво зумовлені можливим токсичним ефектом, який обумовлений їх фізико-хімічними характеристиками (шлях введення, дозування тощо) [6]. Існують суперечливі дані щодо токсикологічних параметрів дії НЧ, що містять цинк і кальцій, на лабораторних тварин [7, 8], тому дослідження нових наноструктурованих матеріалів на основі Zn та Ca є актуальним науковим завданням.

Метою даної роботи було оцінити гостру токсичність створених новими синтетичними методами неорганічних НЧ цинку гідрокарбонату ($Zn_5(CO_3)(OH)_6$) та кальцію гідрофосфату ($CaHPO_4 \cdot nH_2O$) на моделі щурів.

НЧ гідрокарбонату цинку та гідрофосфату кальцію отримували методом співосадження у водних розчинах [9]. Спочатку у певному мольному співвідношенні розчин натрію цитрату (Na_3Cit , Sigma Aldrich, США) змішували з розчином цинку ацетату ($Zn(Ac)_2$, Sigma Aldrich, США) або кальцію хлориду ($CaCl_2$ Sigma Aldrich, США). Потім при інтенсивному перемішуванні до суміші додавали натрію карбонат (Na_2CO_3 , Sigma Aldrich, США) або натрію фосфат ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, Sigma Aldrich, США) у стехіометричному співвідношенні до $Zn(Ac)_2$ та $CaCl_2$ відповідно. Постійно перемішуючи отриману суміш нагрівали до 80-85 °С і витримували в цих умовах 40-50 хв. Після охолодження колоїдний розчин наночастинок піддавали діалізу до води протягом 120 хв. у целюлозному діалізному мішку (пори $d = 2,5$ нм, MWCO 12 000 кДа). Кінцеве значення рН розчину становило 7,5. Після цього у якості стабілізатора до розчину додавали 0,6 мас.% полівінілпіролідону (ПВП). Колоїдний розчин НЧ цинку карбонату мав вихідну концентрацію 2,5 г/дм³, кальцію гідрофосфату — 2,0 г/дм³.

Морфологію синтезованих НЧ аналізували методом скануючої електронної мікроскопії (SEM, JSM-6390LV, компанія JEOL, США). Зображення просвічуючої електронної мікроскопії (ПЕМ) отримували на електронному мікроскопі TEM-125K (Selmi, Україна) з використанням електронного пучка напругою 100 кВ. Зразок готували шляхом нанесення 5 μ л колоїдного розчину на мідні сітки з вуглецевим покриттям на 200 отворів (Electron Microscopy Sciences, США) з наступним випаровуванням розчинника. При дослідженні НЧ гідрокарбонату цинку методом SEM виявлено мікропластівці, що складаються з нанорозмірних сферичних частинок. Зображення ПЕМ показало, що окремі кристалічні ядра оточені аморфною оболонкою з ПВП і мають розмір 185 ± 30 нм. Кристалічні НЧ гідрофосфату кальцію були поверхнево стабілізовані ПВП і мали стрижнеподібну форму з довжиною близько 50-80 нм і діаметром 5 нм.

Вимірювання ζ -потенціалу та дослідження стабільності НЧ отриманих зразків проводили за допомогою аналізатора ZetaPALS (Brookhaven Instruments Corp., США) при куті розсіювання 15°. В якості джерела світла використовували гелій-неоновий лазер з $\lambda_{збудж} = 659$ нм. Значення ζ -потенціалу отриманого для НЧ обох складів має значення біля -20 мВ, що вказує на досить високу стабільність НЧ у вигляді водних колоїдних розчинів.

Експерименти з визначення гострої токсичності колоїдних розчинів НЧ проводили на щурах лінії Wistar обох статей з масою тіла 220,0-270,0 г. Піддослідних тварин утримували в стандартних умовах віварію з оптимальними параметрами мікроклімату приміщення: температури повітря, вологості, освітлення. Тварини отримували повнораціонний комбікорм і мали вільний доступ до води. Після акліматизації та рандомізації за методом мінімізації відмінностей у масі тіла тварин розподілили на 5 груп по 6 особин у кожній. Перед початком досліджень кожен тварину зважували. Дози колоїдного розчину гідрозолів НЧ, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожного щура, при цьому об'єм препарату, що вводили внутрішньошлунково за один раз, не перевищував 2,5 см³. Кожній групі щурів вводили колоїдний розчин НЧ у певних дозах: 5000,0 мг/кг (I група); 10000,0 мг/кг (II група); 15000,0 мг/кг (III група); 20000,0 мг/кг (IV група) і 25000,0 мг/кг (V група) маси тіла за абсолютною масою препарату, що відповідало дозам діючої речовини (12,5; 25,0; 37,5; 50,0 і 62,5 мг/кг відповідно) одноразово (دوزи 5000,0 і 10000,0 мг/кг), дворазово (دوزи 15000,0-20000,0 мг/кг) і триразово (доза 25000,0 мг/кг маси тіла) перорально за допомогою стравохідно-шлункового зонду. Щурам контрольної групи за аналогічним регламентом вводили дистильовану воду в об'ємі 2,0 см³. У кожній групі (як дослідних, так і контрольній) було по 6 щурів ($n=6$). Загальний термін дослідження склав 14 діб. Доза 25000,0 мг/кг маси тіла була лімітуючою, виходячи з фізіологічного об'єму шлунку щурів.

Показано, що при введенні НЧ тваринам обох статей та впродовж усього терміну спостереження (14 діб) ознак інтоксикації або відхилень у стані здоров'я, поведінці чи

зовнішньому вигляді піддослідних тварин не зафіксовано. Інтегральні показники, такі як маса тіла в динаміці та вагові коефіцієнти внутрішніх органів, не зазнали статистичних змін.

Критерії гострої токсичності свідчать про те, що НЧ гідрокарбонату цинку та гідрофосфату кальцію практично нетоксичні речовини і можуть бути використані у ветеринарній медицині за призначенням.

Бібліографічний список

1. Naumenko S., Koshevoy V., Matsenko O., Miroshnikova O., Zhukova I., Bepalova I. (2023). Antioxidant properties and toxic risks of using metal nanoparticles on health and productivity in poultry. *Journal of World's Poultry Research*, 13(3), 292–306. <https://www.doi.org/10.36380/jwpr.2023.32>
2. Abdel-Wareth, A., Hussein, K., Ismail, Z., & Lohakare, J. Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on the Performance of Broiler Chickens Under Hot Climatic Conditions. *Biological trace element research*, 200 (12), (2022): 5218.
3. Dosoky, W. M., Al-Banna, A. A., Zahran, S. M., Farag, S. A., Abdelsalam, N. R., & Khafaga, A. F. Zinc oxide nanoparticles induce dose-dependent toxicosis in broiler chickens reared in summer season. *Environmental science and pollution research international*, 29 (36), (2022): 54088.
4. Delezie, E.; Bierman, K.; Nollet, L.; Martens, L. Impacts of calcium and phosphorus concentration, their ratio, and phytase supplementation level on growth performance, foot pad lesions, and hock burn of broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 24 (2015): 115.
5. Dinev, I.; Kanakov, D.; Kalkanov, B.; Nikolov, A.; Denev, B.S. Comparative Pathomorphologic Studies on the Incidence of Fractures Associated with Leg Skeletal Pathology in Commercial Broiler Chickens. *Avian Dis.* 63 (2019): 641.
6. Rana T. Prospects and future perspectives of selenium nanoparticles: An insight of growth promoter, antioxidant and antibacterial potentials in productivity of poultry. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 68 (2021): 126862.
7. Liang, C. et al. Toxicokinetics of zinc oxide nanoparticles and food grade bulk-sized zinc oxide in rats after oral dosages. *NanoImpact* 25 (2022):100368.
8. Gutiérrez-Arenas D.A. et al. Designing Calcium Phosphate Nanoparticles with the Co-Precipitation Technique to Improve Phosphorous Availability in Broiler Chicks. *Animals* 11 (2021):2773.
9. Патент 113942 України, МПК 51 А61К 33/30, В01J 13/00, В82Y 30/00, С01G 9/00. Спосіб отримання колоїдного розчину наночастинок карбонату цинку ZnCO₃ / Малюкін Ю.В., Єфімова С.Л., Ключков В.К., Беспалова І.І. – Заяв. та патентовласник Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України. – № а201608227; заявл. 25.07.2016; опубл. 27.03.2017, Бюл. 6.

ГОРМОНАЛЬНИЙ ФОН ТА ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПІСЛЯРОДОВОГО ПЕРІОДУ У СУК

Парахнич І.Р., аспірант

Науковий керівник – **Кошевой В.І.**, д. філософії з вет. мед.

Державний біотехнологічний університет, м. Харків

Післяродовий період у собак є критичним часом, що характеризується значними гормональними та метаболічними змінами. Ці зміни відіграють ключову роль у підтримці здоров'я суки та забезпеченні оптимального розвитку цуценят. Це дослідження фокусується на вивченні динаміки рівнів пролактину, гормонів щитовидної залози, інсуліну та кортизолу протягом усього періоду лактації, а також їх впливу на метаболічний профіль сук.

Пролактин є основним гормоном, відповідальним за ініціацію та підтримку лактації у сук. Наші дослідження показують, що рівень пролактину значно підвищується одразу після