

## ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ВИПОЮВАННЯ РІЗНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ НАНОГЕРМАНІЮ ЦИТРАТУ НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ-САМИЦЬ $F_2$

*У. І. Тесарівська, канд. вет. наук,  
І. К. Авдосьева, канд. вет. наук,  
С. Я. Мартиник, науковий співробітник,  
О. А. Максимович, В. М. Малинівський, молодші наукові співробітники*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок  
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

*Вивчали вплив на морфологічні та біохімічні показники крові щурів-самиць  $F_2$  різних концентрацій наногерманію цитрату (HGeЦ), отриманого методом нанотехнології, в дозах 20 і 200 мкг Ge / кг маси тіла. Встановлено, що порівняно з тваринами контрольної групи, тривале, впродовж двох поколінь, випоювання з водою HGeЦ спричинило вірогідне зниження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті на 4,7 % у щурів-самиць  $F_2$ , тварин другої дослідної групи, яким задавали 200 мкг Ge/кг м. т. при відсутності змін у кількості еритроцитів, концентрації гемоглобіну та показнику гематокриту. У тварин першої дослідної групи, яким задавали 20 мкг Ge/кг м. т., таких змін не відзначали. Статистично значимо зменшується кількість лейкоцитів: у першій дослідній групі на 47,8 %, у другій – на 52,7 %. У крові тварин обох дослідних груп відзначається вірогідне підвищення відсотків сегментоядерних нейтрофілів у першій дослідній групі на 32,1 %, у другій – на 27,2 %.*

*Результати біохімічних досліджень крові вказують на певну тенденцію до зміни показників у обох дослідних груп щодо тварин контрольної групи. За дії як низької, так і високої концентрації HGeЦ за однакового рівня сироваткового заліза крові простежується тенденція до зниження загальної та залишкової залізовв'язувальної здатності сироватки крові, знижується активність лужної фосфатази і збільшується концентрація сечовини та сироватковий рівень молекул середньої маси. У тварин, яким застосовували нижчу концентрацію HGeЦ 20 мкг Ge/кг м. т., відзначається вищий відсоток насичення трансферину залізом та тенденція до збільшення активності аланінатамінотрансферази (АлАТ) та аспартамінотрансферази (АсАТ). У тварин другої дослідної групи активність АлАТ та АсАТ знижується, також нижчим є відсоток насичення трансферину.*

**Ключові слова:** МОРФОЛОГІЯ КРОВІ, БІОХІМІЯ СИРОВАТКИ КРОВІ, ЦИТРАТ GE, НАНОМАТЕРІАЛИ, САМИЦІ, ЩУРИ.

Вивчення дії наносполук на ріст і розвиток тварин відкриває нові перспективи в ефективному та практичному їх застосуванні як в тваринництві, так і ветеринарній практиці [1, 2].

Відомо, що цитрат германію, отриманий методом нанотехнології, має низку позитивних фізіологічних ефектів, не виявляє токсичного впливу на організм людини і тварин, на відміну від його солей мінеральних кислот, які можуть утворювати оксиди й інші неорганічні форми, що є токсичними для живого організму [3, 4]. Доказано, що Ge в організмі людини і тварин виконує різноманітні функції — імуностимулюючу [5–7], антиоксидантну [6, 8, 9], гепатопротекторну, антигіпоксичну [6, 8] та низку інших, які підвищують резистентність і продуктивність тварин.

У раніше проведених нами дослідженнях встановлено фізіологічно виражений вплив HGeЦ на репродуктивну функцію самиць щурів, їх плодючість та масу плодів [10]. Доведено

відсутність вірогідно вираженої ембріональної та фетальної токсичності застосованих доз HGeЦ у самиць білих щурів цих поколінь [11].

Отже, порівняльне вивчення впливу тривалого, впродовж двох поколінь, впоювання різних кількостей цитрату германію, отриманого методами нанотехнології на метаболічні процеси в організмі щурів-самиць  $F_2$  у період фізіологічного і статевого дозрівання стало метою наших досліджень.

**Матеріали і методи.** Дослід проведений у віварії ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок на самицях білих лабораторних щурів, які поділені на 3 групи — контрольну і дослідні (I, II), по 4–5 тварин у кожній. Утримання і годівля тварин відповідали зооветеринарним вимогам. Самицям в поколіннях  $F_0$ ,  $F_1$ ,  $F_2$  впоювали з водою різні концентрації HGeЦ: I дослідна група — 20 мкг Ge/кг м. т., II дослідна — 200 мкг Ge/кг м. т. протягом фізіологічного і статевого дозрівання, запліднення, вагітності і вигодовування потомства. Контрольні тварини мали постійний доступ до питної води.

Вивчали вплив різних концентрацій HGeЦ на організм тварин, визначаючи морфологічні показники крові, зокрема: кількість еритроцитів і лейкоцитів, гематокрит, концентрацію гемоглобіну – за допомогою гематологічного аналізатора Mythic 18 Vet, лейкограму – шляхом мікроскопії мазків крові, зафарбованих барвником Романовського-Гімза. Використовуючи показники кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну крові і гематокриту, за відповідними формулами, вираховували такі величини індексів: середній об'єм одного еритроцита, середня вміст гемоглобіну в еритроциті, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті.

Біохімічні показники сироватки крові щурів-самиць  $F_2$ , зокрема АлАТ, АсАТ, ЛФ, креатинін, сечовину, сироваткове залізо, загальну залізовв'язувальну здатність сироватки крові (ТІВС) визначали за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора HumaLyzer 3000 з використанням стандартизованих наборів «Human Diagnostics Worldwide» (Німеччина). Вивчаючи характер обміну заліза, за величиною сироваткового заліза у крові та ТІВС, нами також визначені розрахунковим методом показники: ненасичена залізовв'язувальна здатність сироватки крові (UIBS) і відсоток насичення трансферину залізом. Визначали у крові сироватковий рівень молекул середньої маси (МСМ) за методикою Н. І. Габріелян [12].

В основу організації досліджень з вивчення дії HGeЦ на потомство покладено методичні рекомендації, які викладені в довіднику «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» [13].

Дослідження проведені з дотримання загальних етичних принципів експериментів на тваринах відповідно до "Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних і наукових цілей" та постанови Першого національного конгресу України з біоетики [14, 15]. Отриманий цифровий матеріал обробляли в програмі MS Excel і вираховували статистичні характеристики параметрів [16].

**Результати й обговорення.** В результаті проведених досліджень виявлено певний біологічний вплив щоденного впоювання HGeЦ на організм самиць щурів  $F_2$ .

Так, у тварин, яким задавали 200 мкг Ge/кг м. т. при відсутності змін щодо контролю у кількості еритроцитів, концентрації гемоглобіну та показнику гематокриту відзначено вірогідне зниження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті на 4,7 % ( $p < 0,01$ ) щодо контролю. У тварин I дослідної групи, яким задавали 20 мкг Ge/кг м. т. таких змін не відзначається (табл. 1).

Кількість лейкоцитів у крові тварин обох дослідних груп мають вірогідні зміни щодо контрольних тварин. У першій дослідній групі їх кількість є меншою на 47,8 % ( $p < 0,01$ ), у другій – на 52,7 % ( $p < 0,01$ ). Також відзначено відмінності лейкограми між дослідними і контрольною групами зі статистично значимим підвищенням відсотків сегментноядерних нейтрофілів у першій дослідній групі на 32,1 % ( $p < 0,05$ ), у другій – 27,2 % ( $p < 0,05$ ).

**Морфологічні показники крові самиць щурів  $F_2$  за дії різних доз HGeЦ, ( $M \pm m$ ),  $n=4-5$** 

Показники	Групи		
	контрольна	Дослідні	
		1 – 20 мкг Ge/кг м. т.	2 – 200 мкг Ge/кг м. т.
Еритроцити, Т/л	6,0±0,28	5,79±0,17	6,2±0,1
Гемоглобін, г/л	110,0±4,4	111,0±0,6	113,7±3,3
Гематокрит, л/л	0,32±0,01	0,33±0,01	0,35±0,01
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті, %	33,95±0,19	32,43±1,5	32,35±0,23**
Середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг	18,35±0,22	19,37±0,46	18,3±0,52
Середній об'єм еритроцитів, мкм <sup>3</sup>	54,0±1,28	57,10±1,20	56,50±1,4
Лейкоцити, Г/л	18,60±1,4	9,70±0,60**	8,80±0,80**
Нейтрофіли сегментоядерні, %	26,50±1,50	18,00±1,16*	19,33±1,33*
Лімфоцити, %	68,30±1,80	75,30±2,90	76,00±3,10
Моноцити, %	5,25±1,50	6,00±1,16	1,30±0,67
Еозинофіли, %	1,67±0,90	0,67±0,67	2,67±0,67
Базофіли, %	–	–	–

Примітка: ступінь вірогідності до контрольної групи тварин: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ .

Результати біохімічних досліджень крові тварин, яким задавали HGeЦ різних концентрацій наведені в таблиці 2. Аналіз результатів вказує на певну тенденцію до зміни показників щодо тварин контрольної групи. За однакового рівні заліза в крові дослідних і контрольної груп відзначаються зменшення ТІВС у тварин першої дослідної групи на 17,0 % відносно контролю, а у тварин, яким застосовували вищу концентрацію HGeЦ загальна залізовв'язувальна здатність трансферину є нижчою від тварин контрольної групи на 21,0 %.

Таблиця 2

**Біохімічні показники сироватки крові самиць щурів  $F_2$  за дії різних доз HGeЦ, ( $M \pm m$ ),  $n=4-5$** 

Показники	Групи		
	контрольна	Дослідні	
		1 – 20 мкг Ge/кг м. т.	2 – 200 мкг Ge/кг м. т.
Сироваткове залізо, мкмоль/л	48,00±4,6	46,40±3,60	31,5±4,90
ТІВС, мкмоль/л	132,20±13,00	109,70±13,00	104,40±8,20
УІВС, мкмоль/л	84,20±14,04	45,15±4,00	72,90±12,70
Насичення трансферину, %	37,50±5,10	49,21±00	31,30±8,00
АлАТ, Од/л	69,10±11,80	76,80±15,50	45,80±9,80
АсАТ, Од/л	149,70±16,90	154,80±9,30	136,70±12,50
ЛФ, Од/л	394,50±65,80	257,90±25,70	278,90±84,50
Сечовина, ммоль/л	6,80±0,66	8,20±0,90	9,60±1,00
МСМ, ум. од	1,045±0,02	1,07±0,045	1,067±0,033

Застосування тваринам нижчої концентрації HGeЦ зумовлює тенденцію до зниження залишкової зв'язувальної здатності сироватки крові у 1,9 раза щодо контролю, а за дії вищої концентрації – ця здатність зменшується на 13,4 %.

У тварин першої дослідної групи, відсоток насичення трансферину, тобто ступінь наявності у трансферині ділянок для зв'язування заліза, є вищим від показників контрольної групи тварин на 31,2 %, а у тварин другої дослідної групи зберігається тенденція до зменшення на 16,5 %.

Для оцінки стану внутрішніх органів важливим фізіолого-біохімічним тестом є вивчення у крові тварин активності амінотрансфераз. У нашому випадку активність АлАТ і

АсАТ у тварин першої дослідної групи збільшилася, відповідно, на 11,1 % та 3,4 % відносно контролю, а у тварин, яким застосовували вищу концентрацію НGeЦ 200 мкг Ge/кг м. т., активність АлАТ і АсАТ знижується, відповідно, на 33,7 % та 8,7 % від тварин контрольної групи.

Слід також відмітити, що результати активності лужної фосфатази у крові тварин обох дослідних груп щодо контрольних тварин вказують на тенденцію до зниження у тварин першої дослідної групи на 34,6 %, у тварин другої дослідної групи – на 29,3 %.

Видільна здатність нирок характеризується вмістом сечовини у крові. Підвищення її рівня свідчить про неможливість їх фільтруючу здатність. У тварин, яким випоювали з водою НGeЦ рівень сечовини в крові є вищим від показників контрольної групи, за концентрації 20 мкг Ge/кг м. т. – на 20,5 %, а 200 мкг Ge/кг м. т. – на 41,2 %.

Кількісний вміст в сироватці крові вмісту МСМ – це один з діагностичних критеріїв ендогенної інтоксикації. За впливу НGeЦ у тварин обох дослідних груп тенденційно зростає вміст речовин середньої молекулярної маси в сироватці крові щурів щодо тварин контрольної групи за дії концентрації 20 мкг Ge/кг м. т. – на 2,4 %, а 200 мкг Ge/кг м. т. – на 2,1 %.

## ВИСНОВКИ

1. Випоювання самицям щурів у поколіннях  $F_0$ ,  $F_1$ ,  $F_2$  з водою різних концентрацій НGeЦ зумовлює зміни в червоній та білій крові тварин. Відзначаємо вірогідне зниження середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті у тварин II дослідної групи, яким задавали 200 мкг Ge/кг м. т. та у крові тварин обох дослідних груп відзначається статистично значиме підвищення відсотків сегментноядерних нейтрофілів на фоні вірогідного зменшення кількості лейкоцитів.

2. Застосування як низької, так і високої концентрації НGeЦ при однаковому рівні заліза в крові обох дослідних груп простежується тенденція до зниження загальної та залишкової залізовв'язувальної здатності сироватки крові, знижується активність лужної фосфатази і збільшується концентрація сечовини і МСМ.

3. У тварин першої дослідної групи відзначається вищий відсоток насичення трансферину залізом та тенденція до збільшення активності АлАТ і АсАТ. У тварин, яким застосовували вищу концентрацію НGeЦ 200 мкг Ge/кг м. т., активність АлАТ і АсАТ знижується, також нижчим є відсоток насичення трансферину.

**Перспективи досліджень.** У подальшому буде досліджено вплив тривалого випоювання НGeЦ на організм щурів  $F_3$ .

## INFLUENCE OF CONTINUOUS WATERING WITH NANOGERMANIUM CITRATE ON THE ORGANISM OF FEMALE RATS $F_2$

*U. I. Tesarivska, I. K. Avdosieva, S. Ya. Martynuk, O. A. Maksymovych, V. M. Malynivsky*

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,  
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

## SUMMARY

Morphological and biochemical parameters of blood of the influence on the organism of female rats  $F_2$  of different concentrations of nanogermanium citrate (HGeC) obtained by the nanotechnology method, in the doses 20 and 200  $\mu\text{g Ge / kg b.m.}$  was studied. It was established that, compared with the control animals, prolonged feeding of HGeC with water in the  $F_0$ ,  $F_1$ ,  $F_2$  generations resulted in a significant decrease in the mean concentration of hemoglobin in erythrocytes by 4.7% in the female rats  $F_2$ , in the second experimental group, that were given 200  $\mu\text{g Ge / kg b.m.}$

In animals, in the first experimental group that were given 20 µg Ge / kg b.m. no such changes occurred. A statistically significant decrease the number of leukocytes: in the first experimental group by 47,8 %, in the second – by 52,7 %. In the blood of animals in both experimental groups statistically significant increase in the percentage of segmental neutrophils in the first experimental group by 32,1 %, in the second – by 27,2 %.

The results of biochemical studies indicate a certain tendency to change the blood parameters of both experimental groups in animals of the control group. The use of both low and high concentrations of HGeC at the same level of serum iron traces the tendency to decrease the total and residual iron binding capacity of the serum, decreases the activity of alkaline phosphatase and increases the concentration of urea and MSM. In animals, that were given 20 µg Ge / kg b.m. was noted the higher percentage of saturation of transferrin by iron and the tendency for increased activity of ALAT and ASAT. In animals of the second experimental group, the activity of ALAT and ASAT decreases, and the percentage of saturation of transferrin is also lower.

**Keywords:** BLOOD MORPHOLOGY, SERUM BIOCHEMISTRY, GERMANIUM CITRATE, NANOMATERIALS, FEMALE, RATS.

## **ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВЫПАИВАНИЯ НАНОГЕРМАНИЯ ЦИТРАТА НА ОРГАНИЗМ КРЫС-САМОК $F_2$**

*У. И. Тесаривская, И. К. Авдосьева, С. Я. Мартынык, О. А. Максимович, В. М. Малыниевский*

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных  
препаратов и кормовых добавок  
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

### **А Н Н О Т А Ц И Я**

Изучали влияние на морфологические и биохимические показатели крови крыс-самок различных концентраций наногерманию цитрата (HGeЦ), полученного методом нанотехнологии, в дозах 20 и 200 мкг Ge / кг массы тела. Установлено, что по сравнению с животными контрольной группы, длительное, на протяжении двух поколений, выпаивание с водой HGeЦ, повлекло за собой достоверное снижение средней концентрации гемоглобина в эритроците на 4,7 % у крыс-самок  $F_2$ , животных второй опытной группы, которым давали 200 мкг Ge / кг м. т. при этом отсутствовали изменения в количестве эритроцитов, концентрации гемоглобина и показателя гематокрита. У животных первой опытной группы, которым давали 20 мкг Ge / кг м. т., таких изменений не отмечали. Статистически значимо уменьшается количество лейкоцитов: в первой опытной группе на 47,8 %, во второй – на 52,7 %. В крови животных обеих опытных групп наблюдаем достоверное повышение процентов сегментоядерных нейтрофилов в первой опытной группе на 32,1 %, во второй – на 27,2 %. Результаты биохимических исследований указывают на определенную тенденцию к изменению показателей крови обеих опытных групп относительно животных контрольной группы. При использовании как низкой, так и высокой концентрации HGeЦ при одинаковом уровне сывороточного железа прослеживается тенденция к снижению общей и остаточной железосвязывающей способности сыворотки крови, снижается активность щелочной фосфатазы и увеличивается концентрация мочевины и сывороточный уровень молекул средней массы. У животных, которым применяли низшую концентрацию HGeЦ 20 мкг Ge / кг м. т., наблюдается высокий процент насыщения трансферрина железом и тенденция к увеличению активности АлАТ и АсАТ. У животных второй опытной группы активность АлАТ и АсАТ снижается, также ниже процент насыщения трансферрина.

**Ключевые слова:** МОРФОЛОГИЯ КРОВИ, БИОХИМИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ЦИТРАТ GE, НАНОМАТЕРИАЛИ, САМКИ, КРЫСЫ.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Нанотехнології та їх застосування у тваринництві й ветеринарній медицині / В. В. Влізло, М. І. Башченко, Р. Я. Іскра та ін. // Вісник аграрної науки, 2015. – № 11. – С. 5–9.
2. Влізло В. В. Нанобіотехнології. Сучасність та перспективи розвитку / В. В. Влізло Р. Я. Іскра, Р. С. Федорук // Біологія тварин, 2015. – Т. 17, № 4. – С. 18–29.
3. Комаров Б. А. Об элементе германий и его роли в биопроцессах [Електронний ресурс] / Б. А. Комаров, А. Б. Комаров, К. Б. Комарова // Фитотерапия. 2014. Режим доступу: [http://www.treskunov.ru/fitohitodezi/komarov\\_o\\_germanii.html](http://www.treskunov.ru/fitohitodezi/komarov_o_germanii.html).
4. Long Q. C. Pharmacokinetics of germanium after po beta-carboxyethylgermanum sesquioxide in 24 Chinese volunteers / Q. C. Long, G. X. Zeng, X. L. Zhao // Zhongguo Yao Li Xue Bao, 1996. – Vol. 17, N 5. – P. 415–418.
5. Коваленко Л. В. Оцінка стимулюючої дії наноаквахелатів германію на природну резистентність тварин / Л. В. Коваленко // Науковий вісник НУБіП України, 2012. – № 172 (1). – С. 203–209.
6. Стадник А. М. Біологічна роль германію в організмі тварин та людини / А. М. Стадник, Г. О. Биць, О. А. Стадник // Науковий вісник Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С. З. Гжицького, 2006. – Т. 8, № 2 (29). – С. 185 – 174.
7. Thayer J. S. Germanium compounds in biological systems / J. S. Thayer // Rev. Silicon, Germanium, Tin, Lead Compd, 1985. – Vol. 8 (2–3). – P. 133 – 155.
8. Биологическая активность соединений германия / Э. Я. Лукевиц, Т. К. Гар, Л. М. Игнатович, В. Ф. Миронов // Рига: Зинатне, 1990. – 191 с.
9. Physiological and biochemical processes in the organisms of rats when feeding them with different amounts of germanium citrate. / О. Р. Dolaychuk, R. S. Fedoruk, I. I. Kovalchuk, S. I. Kropyvka // The Animal Biology, 2015. – Vol. 17, N 2. – P. 50 – 56.
10. Тесарівська У. І. Репродуктивна функція самок щурів F1 і постнатальний розвиток щуренят F2 за дії різних доз наногерманію цитрату / У. І. Тесарівська, Р. С. Федорук, М. І. Шумська // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, 2016. – Т. 18, № 3 (71). – С. 124-130.
11. Тесаривская У. И. Эмбриональная и фетальная токсичность разных доз «наногермания» цитрата у самок потомства F1 / У. И. Тесаривская, Р. С. Федорук // Перспективы и актуальные проблемы развития высокопродуктивного молочного и мясного скотоводства: Мат. Межд. научно-практической конференции. – Витебск: УО ВГАВМ, 2017. – С. 166 – 169.
12. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях : [метод. рекомендации] / Н. И. Габриэлян, Э. Р. Левицкий, А. А. Дмитриев [и др.]. – М., 1985. – 22 с.
13. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега [та ін.]. За ред. І. Я. Коцюмбаса. – Львів: Тріада плюс, 2006. – 360 с.
14. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes. Coun. of Europe, Strasbourg. 1986. – 53 pp.
15. Сучасні проблеми біоетики / відп. ред. Ю. І. Кундієв. – К: Академперіодика, 2009. – 278 с.
16. Коросов А. В. Компьютерная обработка биологических данных / А. В. Коросов, В. В. Горбач // Петрозаводск: изд-во ПетрГУ,

**Рецензент** – В. О. Величко, д. вет. н., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.