

Вплив наночастинок цитрату цинку, селену і германію на показники антиоксидантної активності організму кролів за умов теплового стресу

М.О. Юзьвяк¹, Я.В. Лесик^{1,2}, Ю.Т. Салига¹

¹Інститут біології тварин НААН, Львів;

²Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка;

e-mail:maruk7991@gmail.com; e-mail:lesykyv@gmail.com; e-mail: yursalyha@yahoo.com

Підвищені температури негативно впливають на обмін речовин організму кролів, призводять до оксидативного стресу та їх загибелі. Для вирішення цієї проблеми у науковій практиці досліджують органічні сполуки мікроелементів, виготовлені методами нанотехнології, які характеризуються високою абсорбцією, біодоступністю та поверхневою активністю, що забезпечує взаємодію з клітинними структурами організму. Метою нашого дослідження було з'ясувати зміни показників антиоксидантного захисту організму кролів при вполюванні наночастинок цитратів цинку, селену і германію за умов помірного теплового стресу. Дослідження проводили на молодяку кролів-аналогів породи термонська біла від 35-ї до 78-ї доба життя. Кролів утримували в приміщенні віварію при підвищеній температурі від 27,8 до 28,9°C і відносній вологості від 83,4 до 87,7%. Кролі дослідних груп споживали той самий комбікорм і воду без обмежень, що й тварини контрольної групи, але протягом 24 год отримували з водою цитрати: I група – 60 мг/л цинку; II група – 300 мкг/л селену; III група – 62,5 мкг/л германію. Кров для дослідження відбирали на 14-ту добу підготовчого періоду та на 14-ту і 29-ту доби дослідного періоду. У вказані періоди визначали температурно-вологісний індекс для дотримання умов теплового стресу. Було встановлено, що додаткове вполювання цитрату цинку та селену характеризувалося позитивними змінами функціонування системи антиоксидантного захисту організму кролів: знижувався вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів, підвищилась активність супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіону і глутатіонпероксидази у крові кролів на 14-ту та 29-ту добу дослідження.

Ключові слова: кров; кролі; наночастинок; помірний тепловий стрес; антиоксидантна система; оксидативний стрес; каталаза; супероксиддисмутази; глутатіонова система; активні форми кисню.

ВСТУП

За умов теплового стресу кролі не здатні підтримувати баланс між утворенням і виведенням тепла з організму через густий волосяний покрив та відсутність потових залоз у шкірі [1, 2]. Оптимальна температура для кролів – від 18 до 21°C, а вологість – від 55 до 65% [3]. Для зменшення негативної дії підвищених температур (знижується продуктивна та імунна функції) значну увагу сучасних наукових досліджень зосереджено на можливості використання для цього мінеральних сполук, виготовле-

них за допомогою методів нанотехнології, у результаті чого отримують нанорозмірні частинки солей макро- та мікроелементів. Порівняно з органічними та неорганічними речовинами наночастинок мають широкий спектр біологічної дії і характеризуються високою поверхневою і каталітичною активністю, низькою токсичністю та адсорбуючими властивостями [4]. Селен відіграє ключову роль у функціонуванні низки антиоксидантних ензимів організму, контролює вміст пероксидів ліпідів та пероксиду водню, що утворюються під час метабо-

лічної активності [5]. Додавання цинку до раціону тварин сприяє підвищенню маси тіла, активності ензимів, покращує функціонування органів, імунної системи та метаболізм протеїнів і вуглеводів [6]. Германій посилює антиоксидантний захист організму, нейтралізуючи вільні радикали [7]. Органічний германій зменшує пероксидне окиснення ліпідів, захищає клітинні мембрани від пошкоджень, знижує вміст пероксидів ліпідів у плазмі крові, печінці й тканинах мозку [4]. Дослідженнями *in vitro* встановлено, що сполука Ge-132 (германоорганічна сполука) здатна поглинати активні форми кисню і запобігати пошкодженню клітин [7].

Метою нашого дослідження було з'ясувати вплив наночастинок цинку, селену і германію цитрату на показники антиоксидантної активності в організмі кролів за умов помірного теплового стресу.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на молодняку кролів-аналогів породи термонська біла (980 ± 50 г) у період з 35- до 78-добового віку у віварії Інституту біології тварин НААН України. Для адаптації тварин до нових умов підготовчий період тривав 14 днів. Дослідний період відбувався у два етапи по 14 і 15 днів за умов теплового стресу та випоювання наночастинок цитратів цинку, селену та германію. Кролів утримували в приміщенні з підвищеною температурою від 27,8 до 28,9°C та вологістю від 83,4 до 87,7%. Впродовж експерименту 4 год за добу підвищували температуру за допомогою регульованих електричних нагрівачів повітря, що створювало умови теплового стресу. Температурно-вологісні показники визначали за допомогою електронного аналізатора повітря (Патент № 127047) [8] та термогігрометра Trotec BL30.

Кролів розподілили на 4 групи по 6 тварин: контрольна та 3 дослідні. Тварини

дослідних груп споживали збалансований гранульований комбікорм, проте протягом доби з водою отримували цитрати мікроелементів: I група – цинку (60 мг/л), II – селену – (300 мкг/л), III – германію (62,5 мкг/л). Використання окремих поїлок для кожної тварини та розміщення тварин індивідуально дало змогу контролювати кількість спожитої води та сполуки мікроелементів. Розчини наночастинок цитрату цинку, селену і германію для дослідження виготовлені ТОВ «Наноматеріали та нанотехнології», м. Київ (Патент № UA 38391) [9]. Розміри наночастинок становили: цинку – 47,0–95,1 нм, германію – 37,2–52,2 нм, селену – 20 до 40 нм (вимірювали в Інституті проблем матеріалознавства імені Францевича НАН України).

Показники крові кролів досліджували на 14-ту добу підготовчого періоду та на 14-ту і 29-ту доби дослідження за умов помірного теплового стресу. На 14-ту добу підготовчого періоду у кролів проводили відбір крові для дослідження біологічного матеріалу без дії підвищеної температури, вологості та за відсутності добавок у раціоні. Наші результати стали основою для подальшого порівняння з показниками тварин, яких піддавали впливу підвищених температур. У кролів відбирали зразки цільної крові з крайової вушної вени в пробірці з антикоагулянтом етилендіамінететраацетатом (ЕДТА) у якій визначали вміст гідропероксидів ліпідів, ТБК-активних продуктів, активність супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіону, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази [10, 11].

Дозвіл на проведення досліджень отримано від Комісії з біоетики Інституту біології тварин НААН України м. Львова (протокол № 155 від 02.09.2024). Усі маніпуляції з дослідними тваринами здійснювали відповідно до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та правил «Європейської

конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Межі комфортних умов утримання кролів визначали за температурно-вологісним індексом (ТВІ). Середньодобову температуру повітря та відносну вологість за формулою [2]:

$$TBI = T - ((0,31 - 0,31 \cdot B/100) \cdot (T - 14,4)),$$

де: ТВІ – індекс температури і вологості; Т – температура (°C); В – відносна вологість (%). Отримані значення ТВІ були класифіковані, де <27,8 °C – відсутність теплового стресу; 27,8–28,9 °C – помірний тепловий стрес; 28,9–30,0 °C – сильний тепловий стрес; >30,0 °C – дуже сильний тепловий стрес [2].

Одержані результати обробляли статистично за допомогою програмного пакета Statistica 7.0 (Statsoft, США) та Microsoft EXCEL та представлено у вигляді середнього значення (M) ± стандартного відхилення (SD). Результати розраховували дисперсійним аналізом (ANOVA). Для визначення статистичних відмінностей між контрольною та дослідними групами використовували апостеріорний метод Тьюкі, відмінності вважалися достовірними при $P \leq 0,05$ [12].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середня вологість і температура повітря віварію, де утримували кролів під час підготовчого періоду дослідження, становила 59% і 19,7 °C. Отримане значення ТВІ відповідало 19,0, що свідчить про відсутність теплового стресу впродовж підготовчого періоду експерименту.

Середня температура у приміщенні за 14 діб дослідного періоду була 28,8 °C, вологість – 85,7%, ТВІ – 28,2. На 29-ту добу середні значення вологості та температури сягали 86,1% та 28,7 °C відповідно, ТВІ – 28,1, що згідно з формулою вказує на помірний тепловий стрес у завершальному періоді застосування добавок (рисунок).

Отже, отримані значення ТВІ впродовж експерименту свідчать про відсутність

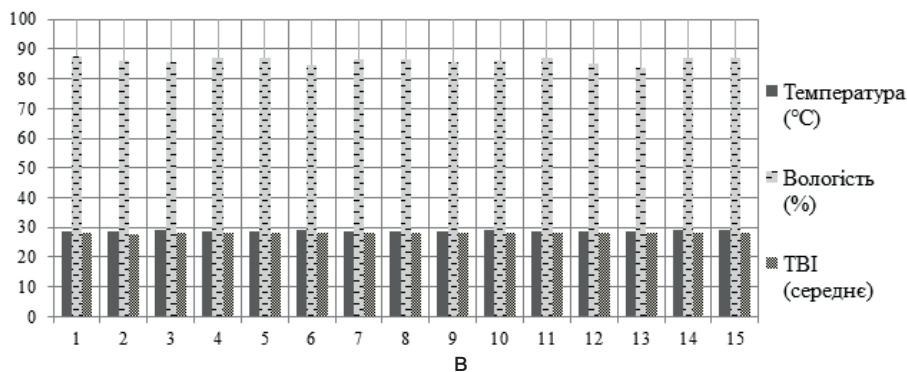
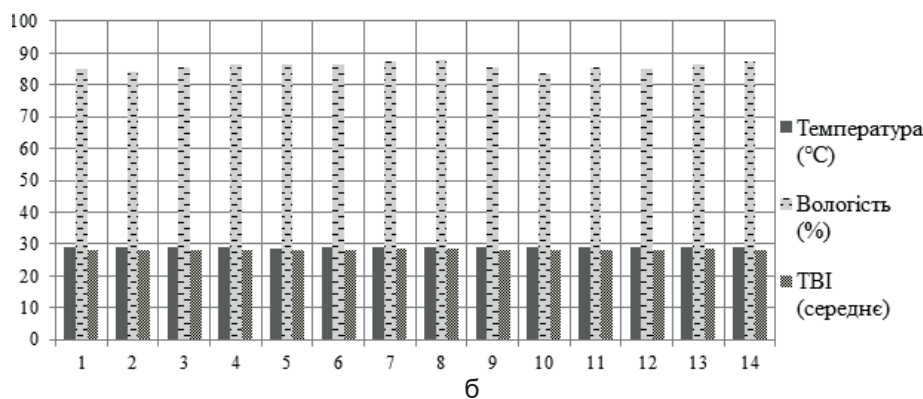
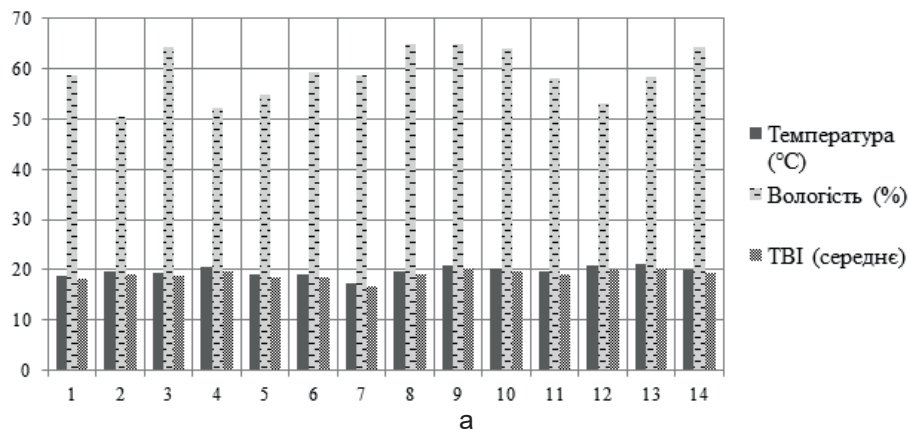
теплового стресу під час підготовчого етапу та його наявність за дослідний період.

Слід відмітити, що вміст гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів залежав від застосованої добавки і тривалості їх споживання тваринами. Так, вміст гідропероксидів ліпідів у крові кролів I дослідної групи знижувався на 71,7 і 51,5% на 14-ту і 29-ту добу дослідження відповідно, що є позитивним впливом застосування цитрату цинку на пом'якшення негативної дії високих температур (табл. 1). Цинк є важливим компонентом понад 300 ензимів і відіграє ключову роль у системі антиоксидантного захисту [13]. Він діє як антиоксидант за допомогою різних механізмів, витісняє іони Fe та Cu з мембрани клітин та протеїнів, що впливає на їх каталітичну дію у формуванні гідроксильних радикалів з пероксидом водню, взаємодіє з сульфгідрильними групами в біомолекулах і забезпечує захист від окисативних процесів [14]. Менш відчутні зміни у крові кролів отримано у результаті застосування цитрату селену: вміст гідропероксидів ліпідів знижувався на 63,0% лише на 14-ту добу застосування добавки порівняно з контрольною групою. Селен – частина активного центру глутатіонпероксидази, що знижує вміст ліпідних пероксидів та H_2O_2 , сприяє підвищенню біологічної цінності м'язової тканини промислових тварин і зменшує ризик окисних процесів на рівні клітини [6]. Гідропероксиди ліпідів є первинними продуктами пероксидного окиснення, що перетворюються у різні вторинні метаболіти і взаємодіють з протеїнами, ДНК та іншими клітинними компонентами. Серед вторинних продуктів окиснення – ТБК-активні продукти, які є маркером окисативного стресу в організмі [15].

Аналіз вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі крові тварин вказує за його зниження у всіх дослідних групах на першому етапі дослідження та менш виражені зміни на 29-ту добу експерименту. Так, у плазмі крові кролів трьох дослідних груп вміст ТБК-ак-

тивних продуктів був вірогідно нижчим на 22,3, 24,7 і 19,4% відповідно на 14-ту добу дослідження порівняно з контролем. Отримані нами зміни цього показника за умов уведення наносполук мікроелементів цинку, селену й германію, збігаються з даними інших наукових досліджень [10, 16, 17]. Доведено, що цинк впливає на активність транскрипційного фактора (NF-E2-Related Factor 2), який регулює експресію генів,

що кодують такі антиоксидантні протеїни та ензими, як відновлений глутатіон та супероксиддисмутаза, а також ензими детоксикації, зокрема глутатіон-S-трансферазу-1 і гемеоксигеназу-1. Ця регуляція відбувається через зв'язування з елементом, чутливим до антиоксидантів, у промоторній ділянці цільових генів [18]. Додаткове споживання кролями цинку у кількості 0,5% сухої речовини раціону знижувало вміст ТБК-ак-



Температурно-вологісний індекс (ТВІ) впродовж підготовчого (а) і дослідного періоду: 14 діб (б) та 15 діб (в)

тивних продуктів у їх плазмі крові [6]. Селен впливає на регуляцію енергетичного обміну, процеси анаболізму та забезпечує репродуктивну функцію [13]. Додавання до раціону кролів цитрату селену в кількості 25 та 50 мкг/кг корму знижувало вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові при дії теплового стресу [19]. Додавання органічного селену в дозі 0,3 мг/кг раціону знижувало концентрацію ТБК-активних продуктів у плазмі сперми кролів [13]. Слід зазначити, що цитрат германію у крові кролів за вмістом гідропероксидів ліпідів не позначився вірогідними різницями стосовно контролю, можливо він є більше активний на рівні організму зі стимуляції системи імунобіологічного захисту. Встановлено, що випоювання самицям щурів та їх приплоду цитрату германію у дозах 20, 200, 2000 мкг/кг зумовлювало зміни показників імуніфізіологічного стану організму та імунної системи. Це характеризувалося вищим вмістом імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів, сіалових кислот та мало стимулювальний вплив на гуморальну ланку імунної системи [16].

Підтвердженням отриманих змін первинних і вторинних продуктів пероксидного окис-

нення ліпідів у крові кролів за умов впливу підвищених температур є активність ензимів антиоксидантного захисту. Так, активність супероксиддисмутази в еритроцитах крові кролів I дослідної групи зростала на 59,5% на 29-ту добу дослідження стосовно контролю (табл. 2). Супероксиддисмутаза є важливим антиоксидантним ензимом, що захищає клітини від активних форм кисню. Супероксид-аніон (O_2^-) – сильний окисник і його надмірна кількість може викликати каскад реакцій, що призводить до ушкодження ДНК, ліпідів та протеїнів [11]. Супероксиддисмутаза має активний центр, що містить іони Cu та іони Zn. У реакції дисмутації ензим перетворює два аніони (O_2^-) на кисень і H_2O_2 . [4]. Цинк регулює активність глутатіонпероксидази та є кофактором супероксиддисмутази [20]. Він –індуктор металотіонеїну та зв'язується з ним. За умов оксидативного стресу цинк вивільняється з комплексу з металотіонеїном, де перерозподіляється в клітинах і виконує свої антиоксидантні функції [21]. Фактор транскрипції металів (MTF-1) має важливе значення в регуляції клітинних відповідей на окисний стрес, оскільки є цинкзалежним транскрипційним фактором, що активує

Таблиця 1. Продукти пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові кролів ($M \pm SD$, $n = 6$)

Показники, групи тварин	Період досліджень		
	підготовчий	дослідний	
		14-та доба	29-та доба
Гідропероксида ліпідів			
контроль	0,685±0,056	1,383±0,206	1,590±0,173
цинку цитрат	0,823±0,097	0,399±0,064***	0,773±0,060***
селену цитрат	0,895±0,179	0,513±0,052***	1,383±0,242
германію цитрат	0,879±0,194	1,201±0,118	1,438±0,112
ТБК-активні продукти			
контроль	1,552±0,189	1,704±0,222	2,016±0,258
цинку цитрат	1,349±0,245	1,323±0,125**	1,795±0,129
селену цитрат	1,331±0,177	1,283±0,097***	1,817±0,318
германію цитрат	1,473±0,163	1,373±0,145**	1,764±0,226

Примітка: у цій та наступних таблицях статистично вірогідні різниці порівняно з контрольною групою: $P \leq 0,05^*$; $P \leq 0,01^{**}$; $P \leq 0,001^{***}$

Таблиця 2. Активність антиоксидантних ензимів у еритроцитах крові кролів ($M \pm SD$, $n = 6$)

Показники, групи тварин	Період досліджень		
	підготовчий	дослідний	
		14-та доба	29-та доба
Супероксиддисмутаза			
контроль	7,169 $\pm$ 0,984	6,272 $\pm$ 1,242	5,597 $\pm$ 1,550
цинку цитрат	7,051 $\pm$ 1,373	7,125 $\pm$ 1,072	8,922 $\pm$ 0,911**
селену цитрат	6,836 $\pm$ 1,012	7,766 $\pm$ 1,116	7,480 $\pm$ 1,411
германію цитрат	6,977 $\pm$ 1,411	6,961 $\pm$ 1,121	7,155 $\pm$ 1,436
Каталаза			
контроль	100,738 $\pm$ 5,399	82,814 $\pm$ 8,122	78,950 $\pm$ 5,739
цинку цитрат	101,710 $\pm$ 7,941	111,630 $\pm$ 17,288**	109,129 $\pm$ 11,947***
селену цитрат	102,354 $\pm$ 5,591	103,204 $\pm$ 9,855*	101,320 $\pm$ 9,617*
германію цитрат	102,804 $\pm$ 4,509	97,980 $\pm$ 9,716	89,336 $\pm$ 15,013

експресію генів металотіонеїну і захищає клітини від оксидативного стресу. Він чутливий до окисно-відновного стану клітини і стимулює експресії цільових генів, включаючи ген селенопротеїну, що кодує антиоксидантний глутатіонзв'язуючий протеїн, здатний нейтралізувати вільні радикали [6]. Зважаючи на наведене вище, можливо цитрат цинку внаслідок біологічних особливостей наносполуки краще впливає на перебіг системи антиоксидантного захисту в організмі кролів, зокрема на активність супероксиддисмутази в умовах підвищених температур, що сприяло отриманому позитивному результату.

При вживанні цитрату цинку та селену в еритроцитах крові кролів встановлено підвищення активності каталази на 34,7 і 38,1% і 24,6 і 28,3% відповідно на 14-ту і 29-ту доби дослідження порівняно з контролем. Каталаза є тетрамером, що складається з чотирьох ідентичних субодиниць пептидного ланцюга, кожна з яких містить гемову групу порфірину в активному центрі [14]. Цей ензим вступає в реакцію з H_2O_2 і відновлює до нерадикальних продуктів води та кисню [22]. Каталаза є частиною ензимів II фази, що беруть участь у захисті клітини від оксидативного стресу і використовують загальний фактор транскрипції та шлях

експресії генів. Транскрипційна активація генів II фази відповідає за детоксикацію та захист від оксидативного стресу, котрий відбувається через взаємодію Nrf2 з елементами антиоксидантної відповіді у промоторах цих генів і активується при дії оксидативного стресу або токсичних речовин [18]. Взаємодія Nrf2 з елементами антиоксидантної відповіді регулює транскрипцію генів, що кодує антиоксидантні ензими глутатіон-S-трансферази, каталази та глутатіонпероксидази. Активує антиоксидантний захист і зменшує ушкодження клітин активними формами кисню. Nrf2 впливає на експресію каталази, активуючи гени, що кодують її [23]. Цинк посилює активність ERK1/2 (Extracellular signal-regulated kinases), що призводить до дисоціації NRF2 від KEAP1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) і транслокації NRF2 в ядро, регулюючи антиоксидантні гени. У ядрі Nrf2 взаємодіє з елементами антиоксидантної відповіді у промоторах генів і підвищує експресію антиоксидантних ензимів, включаючи каталазу [18]. Селен є селенопротеїном глутатіонпероксидази, що відіграє роль основного ензиму детоксикації II фази, здатної знижувати вміст пероксидного окиснення ліпідів [1]. Встановлено, що селен, зв'язаний з трансдукційним шляхом Nrf2, який

є регулятором окисно-відновного гомеостазу і ключовим фактором транскрипції і впливає на антиоксидантні та детоксикаційні ензимні гени [5]. Встановлено, що додавання до раціону 0,24 мг/кг корму селену підвищило активність глутатіонпероксидази та каталази у сироватці крові [19]. Додавання органічного Se в дозі 0,3 мг/раціон підвищило активність глутатіонпероксидази у кролів [13]. Таким чином, випоювання цитрату цинку та селену у разі помірного теплового стресу підвищувало активність супероксиддисмутази та каталази, можливо активуючи шлях Nrf2. Ці мікроелементи стимулюють експресію генів, що кодують антиоксидантні ензими, забезпечуючи ефективний захист клітин від оксидативного стресу.

Активність глутатіонпероксидази у крові при випоюванні цитрату селену щодо контрольної групи була вірогідно вищою на 53,1 і 58,2% відповідно на 14-ту та 29-ту добу дослідження (табл. 3). Глутатіонпероксидаза є тетрамерним ензимом, у кожному мономері якого міститься один

атом селену в каталітичному центрі [24]. Основним компонентом активного центру глутатіонпероксидази є селеноцистеїн, де сірка у цистеїні заміщена на селен (R-SeH). Під час каталітичного циклу глутатіонпероксидази, селенол (протеїн-Se-) взаємодіє з H_2O_2 до утворення селенової кислоти, що відновлюється до селенолу за участю двох молекул глутатіону, які окиснюються до дисульфіду, а H_2O_2 відновлюється до спирту [10]. Досліджено, що цілісність клітинних і субклітинних мембран залежить від активності глутатіонпероксидази, і антиоксидантний захист ензиму залежить від наявності достатньої кількості селену [19]. Вірогідні зміни активності глутатіонпероксидази відзначено за умов додаткового введення цитрату селену, що підтверджує його антиоксидантні властивості та краще засвоєння в організмі для виконання фізіологічних функцій. Про ефективніше засвоєння органічної сполуки селену підтверджено дослідженнями, де застосували наночастинки селену, розміром 20–60 нм

Таблиця 3. Активність глутатіонової ланки системи антиоксидантного захисту організму кролів ($M \pm SD$, $n = 6$)

Показники, групи тварин	Період досліджень		
	підготовчий	дослідний	
		14-та доба	29-та доба
Глутатіонредуктаза			
контроль	2,026±0,569	1,733±0,380	1,313±0,263
цинку цитрат	2,140±0,155	2,323±0,486	1,396±0,238
селену цитрат	2,558±0,582	1,539±0,359	1,156±0,281
германію цитрат	2,416±0,522	1,701±0,388	1,107±0,163
Відновлений глутатіон			
контроль	0,060±0,011	0,050±0,010	0,048±0,006
цинку цитрат	0,059±0,007	0,072±0,015**	0,078±0,011***
селену цитрат	0,060±0,012	0,083±0,005***	0,069±0,008**
германію цитрат	0,055±0,011	0,037±0,004	0,050±0,011
Глутатіонпероксидаза			
контроль	23,604±5,294	11,880±1,899	10,980±1,529
цинку цитрат	26,334±2,377	14,848±2,233	13,466±1,579
селену цитрат	18,820±1,663	18,205±1,336***	17,388±1,805***
германію цитрат	20,917±1,888	13,342±2,432	12,233±1,190

та Se-метіоніну у кількості 30 і 70 мкг Se/кг у раціоні мишей, що сприяли кращому накопиченню цього мікроелемента в крові, печінці та нирках [13]. Таким чином, підвищена активність глутатіонпероксидази при додаванні цитрату селену до раціону кролів за умов помірного теплового стресу, вказує на ефективне знешкодження вільних радикалів та пероксидів, що впливає на зменшення запальних процесів організму кролів.

При вживанні цитрату цинку спостерігали підвищений вірогідний вміст відновленого глутатіону на 44 і 66% та цитрату селену на 62,5 і 43,7% на 14-ту та 29-ту добу порівняно з контрольною групою тварин (табл. 3). Відновлений глутатіон – трипептид, що складається з амінокислот *L*- γ -глутамінової кислоти, *L*-цистеїну та гліцину і є внутрішньоклітинним антиоксидантом [25]. Вміст тіоловмісного амінокислотного залишку надає цьому не ензиматичному антиоксиданту окисно-відновні та каталітичні властивості, що дають змогу ефективно нейтралізувати вільні радикали. Регуляція відновленого глутатіону здійснюється Nrf2, який активується у відповідь на окисний стрес або на наявність токсичних речовин у клітині [18]. Відновлений глутатіон є косубстратом для ензиму глутатіонпероксидази, що знижує вміст пероксидів. У процесі цієї реакції він перетворюється на окиснений глутатіон і відновлюється за допомогою глутатіондисульфідредуктази з використанням НАДФН. Це дає можливість регулювати вміст трипептиду в клітинах і забезпечує захист від окисного стресу [24].

Вміст цинку в організмі регулюється двома групами протеїнів, що відповідають за його транспортування. Перша група – протеїни груп Zrt- і Irt-подібних транспортерів (ZIP), які допомагають підвищувати концентрацію цинку в цитозолі. Друга група – протеїни «транспортери цинку» (ZnT), що знижують концентрацію і переміщують цинк у клітини або за їх межі. Таким чином, ці групи протеїнів забезпечують баланс

мікроелемента в клітинах [14], однак його вміст в організмі залежить від сполуки, внесеної до раціону. Цинк впливає на експресію ензиму глутаматцистеїнової лігази, яка бере участь у синтезі відновленого глутатіону, що безпосередньо впливає на нейтралізацію вільних радикалів [7, 19]. У наших дослідженнях спостерігалися вірогідні зміни активності відновленого глутатіону у результаті його застосування, що може свідчити про певні компенсаторні властивості організму кролів у цьому мікроелементі на дію підвищених температур.

Антиоксидантний вплив наночастинок селену зумовлений їх взаємодією з селензалежними ензимами, зокрема глутатіонпероксидазою та тіоредоксинредуктазою. Селен – ключовий елемент у регуляції окисно-відновних процесів, оскільки є основним компонентом антиоксидантних ензимів [13]. Глутатіонпероксидаза відновлює і нейтралізує H_2O_2 та гідропероксиди ліпідів, використовуючи відновлений глутатіон, що окиснюється до глутатіондисульфіду. Ензим глутатіонпероксидаза перетворює останній знову у відновлений глутатіон, використовуючи НАДФН як джерело відновлення окисних форм сполук. При цьому глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа забезпечує підтримку клітинних запасів НАДФН [23].

Отже, вживання наночастинок цитрату цинку та селену підвищує вміст відновленого глутатіону в організмі кролів, що свідчить про покращення антиоксидантного захисту та зниження окисативного стресу. Цинк активує синтез відновленого глутатіону, регулюючи експресію відповідних ензимів, тоді як селен взаємодіє з ензимами та підсилює антиоксидантну дію.

ВИСНОВКИ

1. Застосування цитратних сполук наночастинок мікроелементів у раціоні кролів за умов помірного теплового стресу сприяло позитивним змінам функціонування систе-

ми антиоксидантного захисту з більш вираженим впливом цитрату цинку (60 мг/л) та селену (300 мкг/л). Це позначилося нижчим вмістом гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів у плазмі та вищою активністю супероксиддисмутази, каталази, відновленого глутатіону і глутатіонпероксидази у еритроцитах крові на 14-ту та 29-ту добу дослідження порівняно з контрольною групою.

2. Вплив германію цитрату в дозі 12,5 мкг/л на організм кролів за умов підвищених температур був менше вираженим порівняно з іншими сполуками наночастинок, за винятком зниження вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі крові кролів на 14-ту добу експерименту.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

М.О. Yuzviak¹, Y.V. Lesyk^{1,2}, Y.T. Salyha¹

EFFECT OF ZINC, SELENIUM AND GERMANIUM CITRATE NANOPARTICLES ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF RABBITS UNDER HEAT STRESS CONDITIONS

¹*Institute of Animal Biology, NAAS, Lviv;*

²*Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University,*

Drohobych; e-mail:maruk7991@gmail.com;

e-mail:lesykyv@gmail.com; e-mail: yursalyha@yahoo.com

Elevated temperatures negatively impact rabbits' metabolism, leading to oxidative stress and their death. To solve this problem, organic compounds of trace elements produced by nanotechnology, which are characterized by high absorption, bioavailability, and surface activity, which ensures interaction with the cellular structures of the body, are being studied in scientific practice. The aim of our study was to determine changes in the antioxidant defense of rabbits after feeding zinc, selenium and germanium citrate nanoparticles under moderate heat stress. The study was conducted on young rabbits of the Thermon White breed from the 35th to the 78th day of life. Rabbits were kept in a vivarium at an elevated temperature of 27.8 to 28.9 °C and relative humidity of 83.4 to 87.7 %.

Rabbits of experimental groups I, II, and III consumed the same feed and water without restrictions as the animals of the control group, but received water for 24 h: Group I - 60 mg/l zinc citrate; Group II - 300 µg/l selenium citrate; Group III - 62.5 µg/l germanium citrate. Blood for the study was taken on the 14th day of the preparatory period and the 14th and 29th days of the experimental period. During these periods, the temperature and humidity index were determined to comply with the conditions of heat stress. Thus, it was found that additional feeding of zinc citrate and selenium citrate was characterized by positive changes in the functioning of the antioxidant defense system of rabbits: it reduced the content of lipid hydroperoxides and TBA-active products, increased the activity of superoxide dismutase, catalase, reduced glutathione and glutathione peroxidase in the blood on the 14th and 29th day of the study.

Key words: blood; rabbits; nanoparticles; moderate heat stress; antioxidant system; oxidative stress; catalase; superoxide dismutase; glutathione system; reactive oxygen species.

REFERENCES

1. Moustafa K-EME, El-Hosseiny HM, Shaheen GF, El-Kotamy EM, Ghoniem AE, Younan GE, El-Nahrawy MM, Farag ME, Mohamed MS. Impact of different forms of selenium supplementation on growth and physiological performance of New Zealand white rabbits. *Trop Anim Health Prod.* 2024;56(4):131. doi:10.1007/s11250-024-03970-8.
2. Marai IFM, Habeeb AAM, Gad AE. Rabbit's productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livest Prod Sci.* 2002;78(2):71-90. doi:10.1016/S0301-6226(02)00091-X.
3. Oladimeji AM, Johnson TG, Metwally K, Farghly M, Mahrose KM. Environmental heat stress in rabbits: implications and ameliorations. *Int J Biometeorol.* 2022;66(1):1-11. doi:10.1007/s00484-021-02191-0.
4. Yuzviak M, Lesyk Y, Luchka I, Denys H, Salyha Y. The effects of zinc citrate, selenium citrate, and germanium citrate on hematological parameters of rabbits under heat stress. *Biol Stud.* 2024 Sep;18(3):69-86. doi:10.30970/sbi.1803.790.
5. Grossi S, Rossi L, De Marco M, Sgoifo Rossi CA. The effect of different sources of selenium supplementation on the meat quality traits of young Charolaise bulls during the finishing phase. *Antioxidants.* 2021;10:596. doi:10.3390/antiox10040596.
6. Hassan F, Mobarez S, Mohamed M, Attia Y, Mekawy A, Mahrose K. Zinc and/or selenium enriched spirulina as antioxidants in growing rabbit diets to alleviate the deleterious impacts of heat stress during summer season. *Animals.* 2021;11(3):756. doi:10.3390/ani11030756.
7. Lesyk Y, Boiko O, Bashchenko M, Honchar O, Ivanikiv N. Blood parameters of rabbits given different amounts of iodine citrate. *Sci Horizon.* 2022;25(5):40-47. doi:10.48077/scihor.25(5).2022.40-47.
8. Kosinov MV, Kaplunenko VG. Process for the preparation

- of metal carboxylates nanotechnology of metal carboxylates preparation. Patent of Ukraine for utility model No. 38391. Bull No. 1/2009.
9. Nebylytsia MS, Onyshchenko RO, Vashchenko OV, Boyko OV. Electronic air environment analyser. Utility model patent of Ukraine No. 127047. Bull No. 13.
10. Salyha N, Salyha Y. L-glutamic acid mitigates carbon tetrachloride-induced acute tissue injury by reducing oxidative stress in a rat model. *Curr Chem Biol.* 2022; 16(2): 130-7. doi:10.2174/2212796816666220408104856.
11. Salyha N. Effect of glutamic acid and cysteine on oxidative stress markers in rats. *Ukr Biochem J.* 2020;92:76-83. doi:10.15407/ubj92.06.165.
12. Petrovska I, Salyha Y, Vudmaska I. Statistical methods in biological doslidzhennykh doslidzhennykh. Kyiv: Ahrarna nauka; 2022. (In Ukrainian).
13. Hosny NS, Hashem NM, Morsy AS, Abo-Elezz ZR. Effects of organic selenium on the physiological response, blood metabolites, redox status, semen quality, and fertility of rabbit bucks kept under natural heat stress conditions. *Front Vet Sci.* 2020 Jun 12;7:290. doi:10.3389/fvets.2020.00290.
14. Qi Y, Li X, Guo S, He F, Liu R. Insights into the potential toxicity of Zn(II) to catalase and their binding mechanisms. *J Mol Liq.* 2024;394:123760. doi:10.1016/j.molliq.2023.123760.
15. Marreiro DD, Cruz KJ, Morais JB, Beserra JB, Severo JS, de Oliveira AR. Zinc and oxidative stress: current mechanisms. *Antioxidants (Basel).* 2017 Mar 29;6(2):24. doi:10.3390/antiox6020024.
16. Khrabko MI, Fedoruk RS, Dolaychuk OP. The effect of germanium citrate on the immunophysiological activity of the rat organism. *Physiol J.* 2017;63(2):65-72.
17. Abu Hafsa SH, Centoducati G, Hassan AA, Maggiolino A, Elghandour MMMY, Salem AZM. Effects of dietary supplementations of vitamin C, organic selenium, betaine, and pomegranate peel on alleviating the effect of heat stress on growing rabbits. *Animals.* 2024;14:950. doi:10.3390/ani14060950.
18. Basak P, Sadhukhan P, Sarkar P, Sil PC. Perspectives of the Nrf-2 signaling pathway in cancer progression and therapy. *Toxicol Rep.* 2017;4:306-18.
19. Sheiha AM, Abdelnour SA, Abd El-Hack ME, Khafaga AF, Metwally KA, Ajarem JS, Maodaa SN, Allam AA, El-Saadony MT. Effects of dietary biological or chemical-synthesized nano-selenium supplementation on growing rabbits exposed to thermal stress. *Animals.* 2020;10:430. doi:10.3390/ani10030430.
20. Yang F, Smith MJ, Siow RCM, Aarsland D, Maret W, Mann GE. Interactions between zinc and NRF2 in vascular redox signalling. *Biochem Soc Trans.* 2024 Feb 28;52(1):269-78. doi:10.1042/BST20230490.
21. Azadmanesh J, Borgstahl GEO. A review of the catalytic mechanism of human manganese superoxide dismutase. *Antioxidants.* 2018;7(2):25. doi:10.3390/antiox7020025.
22. Fedoruk RS, Kovalchuk II, Mezentseva LM, Tesarivska UI, Pylypets AZ, Kaplunenko VH. Germanium compounds and their role in animal body. *Anim Biol.* 2022;24(1):50-60. doi:10.15407/animbiol24.01.050.
23. Gaucher C, Boudier A, Bonetti J, Clarot I, Leroy P, Parent M. Glutathione: antioxidant properties dedicated to nanotechnologies. *Antioxidants.* 2018;7(5):62. doi:10.3390/antiox7050062.
24. Narayanankutty A, Job JT, Narayanankutty V. Glutathione, an antioxidant tripeptide: dual roles in carcinogenesis and chemoprevention. *Curr Protein Pept Sci.* 2019;20(9):907-17. doi:10.2174/1389203720666190206130003.
25. Li LJ, Ruan T, Lyu Y, Wu BY. Advances in effect of germanium or germanium compounds on animals—a review. *J Biosci Med.* 2017;5:56-73. doi:10.4236/jbm.2017.57006.

*Матеріал надійшов
до редакції 10.12.2024*