

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INTENSITY OF STRONTIUM ACCUMULATION  
IN CERTAIN TISSUES AND ORGANS OF DIFFERENT SPECIES

Melnikova N.N., Klich L.V.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Among the heavy metals that pollute the environment, occupies a special place strontium. The aim of the study was the comparison of intensity strontium accumulation in tissues and organs of different species under the conditions of intoxication of the metal chloride.

The research was conducted in a scientific problem by laboratory animals of Department in Biochemistry, quality and safety of agricultural products on male white laboratory rats and rabbits 3 months of age, divided into groups: intact rats; rats which were administered for 14 days strontium chloride; intact rabbits; rabbits, which were administered for 14 days strontium chloride. Poisoning conducted by daily intraperitoneal administration strontium chloride at a rate of 60 mg/kg. Strontium content in organs and tissues were determined spektrohimičnym method using a mode of absorption in air-acetylene flame at the atomic spectrophotometer AAS-30, the company "Carl Zeiss".

It is analyzed the intensity strontium chloride accumulation in the liver, kidneys and bones of poisoned rats and rabbits. It is shown that the poisoning of animals strontium chloride causes an increase in the content of the element in the liver of rats and rabbits at 1.5 times in the kidneys of rats — 1.7 times in rabbits at — 1.5 times the bones in rats — 5.1 times in rabbits at — 5.5 times.

So when excess strontium entering the body with food and water rapidly accumulates in vital organs of animals of different species, as evidenced by similar processes significant accumulation of these elements in certain organs and tissues of rats and rabbits. It is identified differences such processes are explained features of metabolism in animals of different species.

**Keywords:** Strontium chloride, rats, rabbits, kidney, liver, bone.

УДК 619:615.1:615.9:636.5

ЕМБРИОТОКСИЧНІСТЬ НАНОКОМПОЗИТУ (AG, CU, FE І ДВООКИС MN)  
І СОЛЕЙ МЕТАЛІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ЇХ НАДХОДЖЕННЯ  
З КОРМОМ В ОРГАНІЗМ КУРЕЙ-НЕСУЧОК

Оробченко О.Л., Романько М.Є., Куцан О.Т., Бреславець В.О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,  
м. Харків, Україна e-mail: toxi-lab@ukr.net

В умовах хронічного токсикологічного експерименту встановлено, що введення курям-несучкам з кормом наноконкомпозиту металів (Ag, Cu, Fe і двоокис Mn) протягом 37 діб у дозі 4,0 мг/кг чинить токсичний вплив на розвиток ембріонів і, в результаті, призводить до їх загибелі на всіх стадіях інкубації та викликає у виведених курчат клінічні та патологоанатомічні зміни. Наночастинки металів введена курям-несучкам у біотичній дозі (0,3 мг/кг маси тіла) має перевагу над її макродисперсним аналогом (солями металів), що виявляється підвищенням запліднюваності яєць, виведенням кондиційного молодняку, а також маси виведених курчат. Тому дані наночастинки можна вважати перспективними потенційними компонентами кормових добавок адаптогенного типу.

**Ключові слова:** ембріотоксичність, наноконкомпозит металів, доза, кури-несучки, добові курчата.

Фізіологічно обґрунтована годівля тварин і птиці забезпечує отримання максимальної продуктивності згідно її генетичного потенціалу, а також економічної ефективності галузі. При цьому постійною проблемою залишається балансування мінеральних і біологічно активних речовин [1, 2]. У сучасній ветеринарній та гуманній медицині розроблені та апробовані перші наноматеріали, які відповідають усім вимогам щодо функціональних нанобіоматеріалів. Вони отримали загальну назву водних колоїдних розчинів наночастинок мікроелементів [3–7].

Попередні дослідження на білих щурах дали можливість встановити біотичну і токсичну дози наноконкомпозиту металів (НкМе), що складається з колоїдів наночастинок срібла, міді, заліза і двоокису марганцю, що послужило передумовою для проведення дослідів на продуктивних тваринах, а саме на курях-несучках. У результаті чого було встановлено механізм токсичної дії НкМе в дозі 4,0 мг/кг маси тіла в організмі курей-несучок, що проявляється еритроцитопенією, олігохромемією, імуносупресією, гепатотоксичним ефектом, витрачанням власних антиоксидантних ресурсів з частковим формуванням окиснювального стресу, посиленням інтенсивності клубочкової фільтрації, а також підвищенням виділення металів з організму. Композиційна суміш вищевказаних наночастинок у дозі 0,3 мг/кг маси тіла протягом 30 діб позитивно впливала на організм курей у порівнянні з солями металів, тому дані наночастинки можна вважати перспективними потенційними компонентами кормових добавок адаптогенного типу [8–9].

Ураховуючи токсичну дію наночастинок вищевказаних металів на організм птиці не виключена можливість негативної їх дії на розвиток курячих ембріонів, що і стало **метою** нашої подальшої роботи, а саме: вивчити ембріотоксичність наноконкомпозиту (Ag, Cu, Fe і двоокис Mn) і солей металів за умов тривалого їх надходження з кормом в організм курей-несучок.

**Матеріали та методи.** Дослід був проведений в умовах віварію ННЦ «ІЕКВМ» на півнях ( $n = 4$ ) та курях-несучках ( $n = 24$ ) кросу Хайсекс Уайт, віком 365 днів, масою 1,2–1,6 кг. За принципом аналогів було сформовано 4 групи птиці зі статевим співвідношенням півнів до курей 1:6.

Експериментальні дослідження на птиці були проведені з урахуванням основних принципів біоетики, норм утримання, догляду та годівлі.

Композиційну суміш з наночасток металів було складено на підставі отриманих нами результатів дослідження з урахуванням їх біобезпеки, а саме: генотоксичності, мутагенності і загальної токсичності – в умовах *in vitro*. Дослідний зразок наноконструкції металів містив наночастинки Аргентуму ( $31,5 \pm 0,9$  нм), Феруму ( $100,0 \pm 10,0$  нм), Купруму ( $70,0 \pm 4,0$  нм) і двоокису мангану ( $50,0 \pm 3,0$  нм) в аліквотному співвідношенні з кінцевою концентрацією  $100 \text{ мкг/см}^3$  за кожним металом. Концентрація відповідних металів в іонній (макродисперсній) формі в розчині суміші солей –  $\text{AgNO}_3$ ,  $(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$ ,  $(\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$  і  $(\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ , відповідала  $100 \text{ мкг/см}^3$  по металу.

Дослідні зразки наночасток металів отримували методом хімічної конденсації шляхом відновлення відповідних солей металів у водному середовищі [10]. Середній розмір зразків наночасток металів обраховували методом лазерно-кореляційної спектроскопії (ЛКС). Вимірювання проводили на лазерно-кореляційному спектрометрі Zetasizer-3 («Malvern Instruments Ltd», Великобританія) [11].

Після витримування експериментальних курей всіх груп на стандартному раціоні протягом 15 днів (вирівнювальний період), курям контрольної групи додатково в комбікорм вводили фізіологічний розчин, птиці дослідних груп протягом 37 днів щодня задавали добавки до комбікорму: I групі – розчин суміші солей металів в дозі  $0,3 \text{ мг/кг}$  маси тіла, II – НкМе у біотичній дозі ( $0,3 \text{ мг/кг}$  маси тіла) і III – НкМе в токсичній дозі ( $4,0 \text{ мг/кг}$  маси тіла).

Починаючи з 30-ї доби від птиці кожної групи протягом тижня збирали знесені яйця та закладали їх на інкубацію. У критичні періоди інкубації (на 7, 11, 14 та 18 добу) проводили спостереження за розвитком ембріонів методом овоскопії [12], а відходи інкубації – піддавали патологоанатомічному розтину. Після вилуплення проводили клінічний огляд добових курчат та зважували їх.

Результати досліджень статистично оброблені із використанням пакета програм Microsoft Excel, вірогідність отриманих даних оцінювали за критерієм Стьюдента.

**Результати дослідження.** За весь період спостереження загибелі птиці не було зафіксовано. Загальний стан організму курей і півнів як контрольної, так і дослідних (I–III) груп протягом 37 днів був задовільним, птиця була рухливою та адекватно реагувала на зовнішні подразники. Споживання корму і води не відрізнялося в дослідних і контрольній групах.

За останній тиждень експерименту була зібрана і закладена в інкубатор наступна кількість яєць: від контрольної групи – 35, від I дослідної – 36, від II дослідної – 32 і від III – 36 яєць.

Незапліднені яйця та з патологією були вилучені із інкубатора та піддані розтину: у контрольній групі виявлено незапліднених яєць – 11,4 %, з кров'яним кільцем – 5,7 %, у I дослідній групі 11,1 % яєць були незапліднені, з кров'яним кільцем – 8,3 %, у II дослідній групі незапліднених яєць не було, з кров'яним кільцем – 6,3 %, у III дослідній групі на розтині виявлено по 2,8 % незапліднених і яєць з кров'яним кільцем. Отже, заплідненість яєць у контрольній групі склала 88,6 %, у I дослідній – 88,9 %, у II дослідній – 100 %, і у III – 97,2 % (табл. 1).

Отже, максимальну заплідненість яєць спостерігали за умов введення птиці біотичної дози ( $0,3 \text{ мг/кг}$  маси тіла) НкМе, дещо нижчою вона була за введення токсичної дози ( $4,0 \text{ мг/кг}$  маси тіла) і незначно вищою від контрольного показника була заплідненість яєць I дослідної групи, яким вводили в корм солі металів. Отримані дані свідчать про перевагу наночасток металів над їх макродисперсними аналогами.

На 11 добу інкубації завмерлі ембріони виявляли у 24,1 % яєць контрольної групи, тоді як у I, II і III дослідних групах даний показник складав 13,8; 10,0 і 11,7 % відповідно. Решта ембріонів розвивалася без патології: вони знаходилися в центрі яйця, замикання алантоїсу відбулося в усіх ембріонів своєчасно. Зниження відсотку патології ембріонів у дослідних групах на даному терміні свідчить про позитивний вплив металів введених у макро- та нанодисперсних формах з перевагою останніх (навіть за введення токсичної дози). Слід відмітити, що серед патології завмерлих ембріонів III дослідної групи переважали крововиливи в різних ділянках тіла.

Враховавши відсоток «задохликів»: у контролі – 13,6 %, у I, II і III дослідних групах відповідно – 8,0; 11,1 і 10,0 %, виводимість яєць склала по групах – 86,4; 92,0; 88,9 та 90,0 % (табл. 1).

У III дослідній групі, кури якої отримували токсичну дозу НкМе, встановлено виведення 37,0 % курчат з патологіями опорно-рухового апарату (рис. 1 з). На розтині у курчат спостерігали недорозвинення органів ШКТ (рис. 1 а, г); збільшення розмірів жовткового мішка (рис. 1 б); ектопію (незакриту черевну порожнину) (рис. 1 в, д); набряки підшкірної клітковини (рис. 1 е); крововиливи в різних ділянках тіла та внутрішніх органах (рис. 1 і, ж).

У I дослідній групі відсоток виведення некондиційних курчат складав 4,3 %, але патологія проявлялася лише у вигляді ектопії (незакритої черевної порожнини). У контролі та II дослідній групі (НкМе в біотичній дозі) некондиційного молодняка не виявлено.

Маса добових курчат I дослідної групи (отримані від курей, яким вводили солі металів) була вірогідно нижче за контроль на 8,6 %, тоді як у курчат, отриманих від курей, яким вводили НкМе у біотичній (II дослідна група) та токсичній дозі (III дослідна група) маса вірогідно перевищувала контроль на 9,2 і 6,9 %. Отримані дані свідчать про перевагу наноформи металів у біотичній дозі над її макродисперсним аналогом.

Таблиця 1 – Результати визначення ембріотоксичної дії експериментального зразка НкМе та солей металів

Показники		Групи курей та дози	Контроль (Фізіологічний розчин NaCl)	Дослідні		
				I Суміш солей Ме, 0,3 мг/кг маси тіла	II НкМе, 0,3 мг/кг маси тіла	III НкМе, 4,0 мг/кг маси тіла
Закладено у інкубатор			35	36	32	36
7 доба інкубації	Незапліднені		4	4	0	1
	Кров'яні кільця		2	3	2	1
11 доба інкубації Завмерлі ембріони			7	4	3	4
18–21 доба інкубації «задохлики»			3	2	3	3
Загальний вивід курчат, особ.			19	23	24	27
Заплідненість яєць, %			88,6	88,9	100,0	97,2
Вивід некондиційного молодняку (виродків та калік), особ./%			0/0	1/4,3	0/0	10/37,0
Вивід кондиційного молодняку, особ./%			19/100,0	22/95,7	24/100,0	17/63,0
Виводимість яєць, %			86,4	92,0	88,9	90,0
Маса курчат, г			43,11±0,84	39,40±0,96**	47,08±0,62***	46,07±0,83*

Примітки: \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$  – відносно контролю

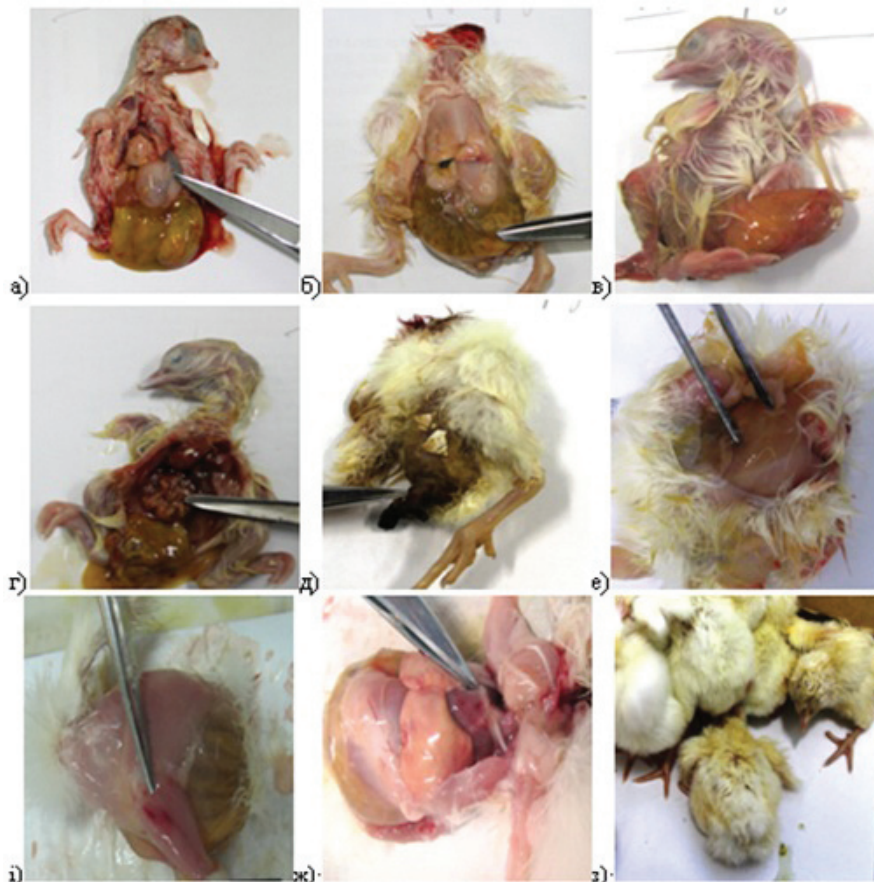


Рис. 1. Патології ембріонів на останній стадії інкубації та добових курчат за умов дії експериментального зразка НкМе у токсичній дозі. а), г) недорозвинення органів ШКТ; б) збільшення розмірів жовткового мішка; в), д) ектопія (незакрита черевна порожнина); е) набряки підшкірної клітковини; і), ж) крововиливи в різних ділянках тіла та внутрішніх органах; з) каліцтва у молодняку.

**Висновки.** 1. Уведення курям-несучкам з кормом НкМе (Ag, Cu, Fe і двоокис Mn) протягом 37 діб у дозі 4,0 мг/кг чинить ембріотоксичний вплив, особливостями якого є загибель ембріонів на всіх стадіях інкубації, викликає у виведених курчат клінічні та патологоанатомічні зміни, а саме: патології опорно-рухового апарату, недорозвинення органів ШКТ; збільшення розмірів жовткового мішка; ектопію (незакриту черевну порожнину); набряки підшкірної клітковини; крововиливи в різних ділянках тіла та внутрішніх органах, що призводить до підвищення живої маси виведених курчат.

2. Наноформа металів у біотичній дозі (0,3 мг/кг маси тіла) має перевагу над її макродисперсним аналогом (солями металів), що виявляється підвищенням запліднюваності яєць (100,0 проти 88,9 %), виведення кондиційного молодняку (100,0 проти 95,7 %) та маси виведених курчат на 16,3 %. Тому дані наночастки можна вважати перспективними потенційними компонентами кормових добавок адаптогенного типу.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідити гематологічні та біохімічні показники крові добових курчат і розподіл металів у їх організмі.

#### Список літератури

1. Miroshnichenko, I.V. Efficacy of manganese citrate compound feeds for broiler chickens [Текст] / I.V. Miroshnichenko, I.A. Boyko, S.A. Kornienko // *Advances in science and technology agriculture*. – 2008. – № 6. – P. 45-47.
2. Satyukova, L.P. The impact of macro- and microelements in the metabolic processes in the body poultry [Текст] / L.P. Satyukova, I.R. Smirnova // *Veterinary Medicine*. – 2014. – № 1. – P. 43-47.
3. West, J.L. Application of nanotechnology to biotechnology [Текст] / J.L. West, N.J. Halas // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2000. – Vol. 11. – P.215–217.
4. Bawa, R. Nanoparticle-based therapeutics in humans: a survey [Текст] / R. Bawa // *Nanotechnology Law & Business*. – 2008. Vol. 5, №. 2. – P.135–155.
5. Sahoo, S.K. The present and future of nanotechnology in human health care [Текст] / S.K. Sahoo, S. Parveen, J.J. Panda // *Nanomedicine*. – 2007. –№. 3. –P. 20–31.
6. Chekman, I.S. Nanopharmacology. [Текст] / I.S. Chekman. – Kiev : Zadruga. – 2011. – 424 p.
7. Eleseev, A.A. Functional Nanomaterials [Текст] / A.A. Eleseev, A.V. Lukashin. – Moscow: FIZMATLIT. – 2010. – 456 p.
8. Оробченко, А.Л. Экспериментально-теоретическое обоснование применения нанокompозита металлов (Ag, Cu, Fe и двуокись Mn) для кур-несушек при условии хронического поступления с кормом (обобщение экспериментальных исследований) [Текст] / А.Л. Оробченко, М.Е. Романько, А.Т. Куцан // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2014. – № 12. – С. 32-40.
9. Деклараційний патент України на корисну модель № 92804 МПК (2014.01) В01J 13/00, С01G 49/00, С10L 10/00 [Текст] / Нанокompозит металів, як потенційний компонент біопрепаратів і кормових добавок для тварин / Романько М.Е., Оробченко О.Л., Куцан О.Т., Ушкалов В.О.; заявник і власник патенту Романько М.Е., Оробченко О.Л., Куцан О.Т., Ушкалов В.О.; заявл. 17.02.2014. – u201401499; опубл. 10.09.2014, бюл. № 17. – 4 с.
10. Методические разработки к практикуму по коллоидной химии / под ред. А.В. Перцова. М.: Изд-во МГУ. – 1976. – 132 с.
11. Rawle, A. Basic principles of particle size analysis [Електронний ресурс] / A. Rawle // *Malvern Instruments Limited*. Режим доступу: [www.malvern.co.uk](http://www.malvern.co.uk).
12. Левченко В.І. Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин / В.І. Левченко [та ін.] – Біла Церква, 2004. – 608 с.

### EMBRYOTOXICITY NANOCOMPOSITE (AG, CU, FE AND DIOXIDE MN) AND METAL SALTS CHRONIC CONDITIONS THEY BECOME AVAILABLE IN THE DIET OF LAYING-HENS ORGANISM

**Orobchenko A.L., Romanko M.Ye., Kutsan A.T., Breslavets V.A.**

*National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkov, Ukraine*

*Essay. Prototype nanocomposite comprises nanoparticles of silver metal (31,5±0,9 nm), iron (100,0±10,0 nm), copper (70,0±4,0 nm) and manganese dioxide (50,0±3,0 nm) in relation to aliquot at a final concentration of 100 mg/sm<sup>3</sup> for each metal. The concentration of respective metals in ionic (makroparticulate) in the form of a mixed solution salts – AgNO<sub>3</sub>, (CuSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O), (MnSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O) and (FeSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O), responsible 100 mg/sm<sup>3</sup>. By analogy was formed 4 groups of birds cross Hajseks White males with sexual relationship rooster (n=4) to hens (n=24) 1: 6. In situations of chronic toxicological experiment found that introduction of a bird with food nanocomposite metals (Ag, Cu, Fe and dioxide Mn) for 37 days at a dose of 4,0 mg/kg body weight has a toxic effect on the development of embryos, which feature is their death at all stages of incubation, and causes hatched chicks clinical and pathological changes, namely: the pathology of musculoskeletal system, hypoplasia gastrointestinal tract; increase in the yolk sac; ectopia (uncovered abdomen); swelling of the subcutaneous tissue; hemorrhages in different areas of the body and internal organs, but leads to increased weight hatched chicks. Nanoforms metals Introduction laying hens in biotic dose (0,3 mg/kg body weight) has an advantage over its makroparticulate analogue (metal salts), manifested by increased fertility of eggs (100,0 vs. 88,9 %), withdrawal conditioned young (100,0 vs. 97,5 %), as well as mass hatched chicks by 16,3 %, so these nanoparticles can be considered promising potential components of feed additives adaptogenic type.*

**Keywords:** embryotoxicity, nanocomposite metal, dose, laying-hens, day-old chicks.