

Мар'ян Осипович Юзьвяк,

аспірант

Інститут біології тварин Національної академії аграрних наук України, Україна

orcid.org/0000-0002-6782-5416, e-mail: maruk7991@gmail.com

Ярослав Васильович Лесик,

доктор ветеринарних наук, професор кафедри біології та хімії

Дрогобицький державний педагогічний університет, Україна

orcid.org/0000-0002-7845-7006, Scopus Author ID: 57413277700,

Web of Science Researcher ID: GNP-7066-2022, e-mail: lesykyv@gmail.com

ВПЛИВ ЦИНКУ, СЕЛЕНУ ТА ГЕРМАНІЮ ЦИТРАТІВ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ КРОЛІВ ЗА УМОВ ТЕПЛОВОГО СТРЕСУ

Анотація. Глобальні зміни клімату та підвищення температури довкілля у багатьох регіонах світу сприяє тепловому стресу ссавців, що призводить до порушень гомеостатичних процесів їхнього організму. Кролі не мають потових залоз і не можуть ефективно регулювати температуру свого тіла. Останнім часом використання методу нанотехнологій для отримання органічних сполук наномікроелементів у годівлі тварин для пом'якшення негативної дії підвищених температур довкілля стало предметом особливої уваги. Особливі властивості наночастинок, які характеризуються високою біодоступністю, поверхневою активністю, каталітичними та адсорбційними властивостями, дозволяють легко взаємодіяти з мембранами клітин організму ссавців. Отже, метою дослідження було з'ясування впливу цинку цитрату, селену цитрату та германію цитрату, виготовлених методами нанотехнологій, на біохімічні показники крові кролів після відлучення за умов теплового стресу. Дослідження проводили на молодяку кролів-аналогів породи Термонська біла з 35- до 78-добового віку. Під час проведення експерименту в приміщенні за допомогою електричних регульованих нагрівачів з 12 до 16 години підвищували температуру від 28,9 до 30°C. Тварин для дослідження формували у контрольну та I, II і III дослідні групи по 6 тварин. Контрольній групі згодовували гранульований комбікорм та давали пити воду з необмеженим доступом. Кролі I, II і III дослідних груп споживали гранульований комбікорм, як і в контролі, проте протягом доби з водою отримували цитрати мікроелементів: I дослідна група – цинку цитрат – 60 мг Zn/л (12 мг Zn/кг маси тіла); II група – селену цитрат – 300 мкг Se/л (60 мкг Se/кг маси тіла); III група – германію цитрат – 62,5 мкг Ge/л (12,5 мкг Ge/кг маси тіла). Досліджували біохімічні показники крові кролів на 14 добу підготовчого періоду та на 14 і 29 добу випоювання добавок у дослідному періоді за умов теплового стресу. Експериментальні дані розраховували дисперсійним аналізом (ANOVA). Для виявлення статистичних відмінностей між контрольною та дослідними групами використовували апостеріорний критерій – метод Tukey HSD, відмінності вважали достовірними при $P \leq 0,05$.

Встановлено, що додавання до раціону кролів цитратів мікроелементів по-різному вплинуло на пом'якшення негативного впливу підвищених температур довкілля. Зокрема, випоювання цинку цитрату за умов теплового стресу позначилося нижчим рівнем креатиніну ($p < 0,05$), зниженням активності аспартатамінотрансферази ($p < 0,01$) і аланінамінотрансферази ($p < 0,05$) та зниженням вмісту холестеролу ($p < 0,001$) на 29 добу дослідження. Застосування у раціоні тварин селену цитрату призвело до підвищення

вмісту альбуміну ($p < 0,05$), зниження рівня креатиніну ($p < 0,05$), зниження активності аспаргатамінотрансферази ($p < 0,01$), аланінамінотрансферази ($p < 0,05$) та зменшенням вмісту холестеролу ($p < 0,01$) на завершальному етапі дослідження. Додавання до води германію цитрату позначилося підвищенням вмісту холестеролу ($p < 0,05$) на 29 добу дослідження.

Ключові слова: кролі, кров, цинку цитрат, селену цитрат, германію цитрат, ензими, протеїн, тепловий стрес.

ВСТУП

Підвищені температури довкілля негативно впливають на здоров'я тварин та спричиняють економічні збитки у кролівництві [1]. Тепловий стрес – це стан, за якого кролі не можуть підтримувати баланс між утворенням та виділенням тепла [2]. Термонеїтральна зона для кролів охоплює температурний діапазон від 18 до 21°C з оптимальною вологістю у межах від 55 до 65% [3; 4]. Підвищена температура довкілля порушує ендокринну регуляцію організму, знижує імунну та репродуктивну функцію, що призводить до збільшення кількості загибелі кролів [4]. Використання мінеральних кормових добавок у вигляді неорганічних солей підвищує продуктивність тварин, проте через погану біодоступність та низьку засвоюваність організмом може забруднювати довкілля [5]. На даний час розробляються різноманітні добавки на основі органічних речовин для зниження негативного впливу оксидативного стресу на організм кролів різних вікових груп [6]. Наносполуки мікроелементів розмірами від 1 до 100 нм мають широкий спектр біологічної дії та у фізіологічно обґрунтованих кількостях не є токсичними [7]. Додавання до раціону тварини мікроелементів у формі наночастинок є ефективнішим, ніж у формі солей, оскільки вони легко засвоюються у травному тракті тварин [8; 9]. У дослідженнях встановлено, що додавання до раціону кролів цинку оксиду розміром менше 100 нм сприяє збільшенню швидкості поглинання та засвоюваності організмом корисних речовин [10; 11; 12]. Застосування наночастинок оксиду цинку підвищує продуктивність кролів, коефіцієнт засвоюваності кормів, стимулює синтез тестостерону, пригнічує окиснення макромолекул ДНК та протеїнів [13]. Випоювання наночастинок селену у раціоні кролів знижує рівень перекисного окиснення ліпідів, зменшує пошкодження ДНК сперми, покращує якість характеристики сперматозоїдів, підвищує середньодобові прирости, стимулює антиоксидантні ензими за впливу підвищеної температури довкілля [1]. Додавання до раціону кролів наночастинок германію проявляє інгібуючу дію на перекисне окиснення ліпідів, покращує імунологічні показники, стимулює клітинний метаболізм [14; 15]. З огляду на сказане вище метою дослідження було з'ясування впливу цинку цитрату, селену цитрату та германію цитрату, виготовлених методами нанотехнологій, на біохімічні показники крові кролів після відлучення за умов теплового стресу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили у віварії Інституту біології тварин НААН м. Львів. Тварини утримувались у приміщенні з регульованим мікрокліматом у сітчастих клітках розміром 50×120×30 см. Дослідження проводили на молодняку кролів-аналогів з 35- до 78-добового віку породи Термонська біла. Протягом дослідного періоду в приміщенні з 12 до 16 години підвищували температуру за допомогою електричних регульованих

нагрівачів від 28,9 до 30°C. Температуру та вологість контролювали за допомогою термогігрометра з реєстрацією даних Trottec BL30. Вологість та температуру вимірювали Електронним аналізатором повітряного середовища (Патент № 127047) [16]. Температуру в приміщенні контролювали за температурно-вологісним індексом. Тварин для дослідження відбирали у контрольну та I, II і III дослідні групи по 6 тварин середньою масою тіла 1200±50 г. Кролів контрольної групи утримували на основному раціоні зі згодовування стандартного збалансованого гранульованого комбікорму і води без обмеження. Кролі I, II і III дослідних груп споживали гранульований комбікорм, як і в контролі, проте протягом 24 годин з водою вони отримували цитрати мікроелементів. I дослідна група – цинку цитрат – 60 мг Zn/л (12 мг Zn/кг маси тіла); II група – селену цитрат – 300 мкг Se/л (60 мкг Se/кг маси тіла); III група – германію цитрат – 62,5 мкг Ge/л (12,5 мкг Ge/кг маси тіла). Розчини для дослідження виготовлені ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології» м. Київ (Патент № 38391) [17]. Дозвіл на проведення досліджень отримано від Комісії з біоетики Інституту біології тварин НААН м. Львова (протокол № 147 від 08.04.2024 р.). Усі маніпуляції з піддослідними тваринами ми проводили відповідно до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та правил «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.). Досліджували показники крові кролів на 14 добу підготовчого періоду та 14 і 29 доби випоювання добавок у дослідному періоді за умов теплового стресу. Зразки цільної крові відбирали з крайової вушної вени у 6 тварин з групи у пробірки з 1% гепарином для біохімічних досліджень і визначали вміст загального протеїну, альбуміну, активність аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспаргатамінотрансферази (АСТ), активність лужної фосфатази (ЛФ), вміст триацилгліцеролів, холестеролу, загального кальцію та неорганічного фосфору за допомогою біохімічного аналізатора *Hymalyzer 2000* [18].

Обчислення результатів дослідження проводили з використанням пакету програм STATISTICA 7.0 (Statsoft, США). Експериментальні дані виражали як середнє значення (M) ± та середньоквадратичне відхилення (SD). Отримані результати дослідження перевірили на гомогенність дисперсії вибірок за критерієм Лівена. Результати розраховували дисперсійним аналізом (ANOVA). Для виявлення статистичних відмінностей між контрольною та дослідними групами використовували апостеріорний критерій – метод Tukey HSD, відмінності вважали достовірними при $P \leq 0,05$ [19].

РЕЗУЛЬТАТИ

Дослідження біохімічних показників крові кролів, що характеризують активність метаболізму та фізіологічний стан організму, показало позитивну динаміку за випоювання цинку цитрату, селену цитрату та германію цитрату. Випоювання селену цитрату кролям II дослідної групи у їх крові підвищило вміст альбуміну на 14,6% ($p < 0,05$) на 29 добу експерименту (табл. 1). Вплив теплового стресу збільшує в'язкість крові через надмірну втрату води, яка виникає внаслідок гіпервентиляції та втрати рідини через сечовипускання, спричиняючи дегідратацію у кроликів [20]. Альбумін, синтезуючись у печінці, потрапляє в плазму, забезпечує обмін рідини між кров'ю та міжклітинним простором і виконує функцію транспортного протеїну крові [21]. Під час стресу відбувається регулювання внутрішньосудинного колоїдно-осмотичного

тиску. Високий рівень альбуміну сприяє нормальній густині крові, що забезпечує фізіологічні процеси кровообігу, газообміну й живлення тканин. Застосування добавок цитратів мікроелементів у крові тварин I і II дослідних груп відзначилося нижчим рівнем креатиніну, відповідно на 7,5% ($p < 0,05$) і 7,4% ($p < 0,05$), порівняно з контролем на завершальному періоді дослідження. Креатинін є кінцевим продуктом метаболізму протеїнів, що утворюється в м'язах через розпад креатину, а згодом виводиться з організму через нирки. Рівень креатиніну в крові використовується як показник функціонування нирок, оскільки його концентрація залежить від швидкості фільтрації через нирки [22]. На нашу думку, нижчий рівень креатиніну за випоювання цинком цитратом і селеном цитратом в умовах теплового стресу свідчить про покращення функціонування нирок та системи виділення організму кролів, що характеризується підвищеним вмістом кальцію та мінералів у сечі.

Таблиця 1

Вміст загального протеїну, альбуміну, креатиніну та сечовини у крові кролів за випоювання цинку цитрату, селену цитрату та германію цитрату в умовах теплового стресу ($M \pm SD$, $n=6$)

| Показники | Група тварин | Період досліджень, вік/доба випоювання добавки | | |
|------------------------|--------------|--|------------------|--------------|
| | | Підготовчий період, 49/1 | Дослідний період | |
| | | | 63/14 | 78/29 |
| Загальний протеїн, г/л | К | 54,86±2,40 | 57,20±6,19 | 55,66±3,54 |
| | Д-1 | 55,10±3,87 | 55,55±2,17 | 52,88±1,10 |
| | Д-2 | 58,78±4,66 | 57,86±5,11 | 60,53±4,23 |
| | Д-3 | 57,00±2,19 | 58,33±3,86 | 58,03±1,70 |
| Альбумін, г/л | К | 37,03±4,39 | 45,81±8,43 | 39,16±2,51 |
| | Д-1 | 34,75±5,32 | 43,53±5,01 | 40,26±2,90 |
| | Д-2 | 44,53±9,07 | 47,33±3,06 | 44,90±4,88* |
| | Д-3 | 34,01±4,70 | 46,18±5,74 | 41,35±2,58 |
| Креатинін, мкмоль/л | К | 89,80±8,16 | 112,16±4,91 | 114,68±3,29 |
| | Д-1 | 96,81±6,18 | 109,43±3,93 | 105,97±4,20* |
| | Д-2 | 98,75±7,75 | 110,23±4,39 | 106,12±5,61* |
| | Д-3 | 92,03±7,36 | 106,36±5,38 | 108,63±6,04 |
| Сечовина, ммоль/л | К | 5,66±0,62 | 3,83±0,24 | 4,58±0,46 |
| | Д-1 | 6,18±0,67 | 3,60±0,46 | 4,25±0,64 |
| | Д-2 | 5,78±0,79 | 3,70±0,64 | 4,45±0,53 |
| | Д-3 | 6,33±0,13 | 3,76±0,54 | 4,40±0,17 |

Примітка: у цій та наступних таблицях статистично вірогідні різниці порівняно з контрольною групою: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Застосування у раціоні кролів цинку цитрату та селену цитрату знижує активність АСТ і АЛТ відповідно на 16,9 ($p < 0,01$) і 23,5% ($p < 0,01$) і на 13,0 ($p < 0,05$) і 18,5% ($p < 0,05$) на 29 добу дослідження порівняно з контрольною групою. Цинк є компонентом металоензимів, що підтримує структурну цілісність протеїнів. Завдяки активуючому впливу на ензими він взаємодіє з реакційними субстратами та бере участь у метаболічних процесах організму [13]. Дослідження на кроликах, проведені Abdel-

Wareth et al. у 2022 р. в умовах теплового стресу, свідчать про зниження активності АСТ та АЛТ за впоювання наноцинку оксиду у дозах 20, 40, 60 та 80 мг/кг маси [20]. Наночастинки селену характеризуються вищою швидкістю абсорбції, каталітичною активністю та меншою токсичністю [23]. Додавання до раціону кролів відповідної кількості селену є ключовим чинником для забезпечення антиоксидантної та імунної функцій кролів [24]. На нашу думку, зниження рівня аспаратамінотрансферази та аланінамінотрансферази у межах фізіологічних параметрів може свідчити про покращення функціонування печінки кролів за впоювання цинку цитрату та селену цитрату в умовах теплового стресу (табл. 2).

Таблиця 2

Рівень активності амінотрансферази та лужної фосфатази у крові кролів за впоювання цинку цитрату, селену цитрату та германію цитрату в умовах теплового стресу (M±SD, n=6)

| Показники | Група тварин | Період досліджень, вік/доба впоювання добавки | | |
|-----------------------|--------------|---|------------------|--------------|
| | | Підготовчий період, 49/1 | Дослідний період | |
| | | | 63/14 | 78/29 |
| АСТ, од/л | К | 16,45±1,73 | 16,23±2,63 | 20,41±2,01 |
| | Д-1 | 20,31±3,79 | 14,93±1,77 | 16,96±1,01** |
| | Д-2 | 16,45±2,32 | 15,83±2,89 | 17,75±0,67* |
| | Д-3 | 21,20±5,79 | 15,21±1,57 | 18,35±1,51 |
| АЛТ, од/л | К | 55,36±8,52 | 71,61±7,41 | 73,13±6,92 |
| | Д-1 | 58,36±7,81 | 65,35±4,35 | 55,88±6,09** |
| | Д-2 | 51,43±9,43 | 70,95±7,49 | 59,56±7,20* |
| | Д-3 | 61,11±9,24 | 68,45±8,09 | 72,91±6,55 |
| Лужна фосфатаза, од/л | К | 404,23±69,29 | 325,70±36,90 | 317,85±34,40 |
| | Д-1 | 441,81±65,50 | 312,92±33,47 | 300,23±42,87 |
| | Д-2 | 462,05±47,02 | 308,72±32,90 | 305,38±58,99 |
| | Д-3 | 433,37±46,38 | 276,87±37,47 | 293,95±56,44 |

Вміст холестеролу у крові кролів I, II і III дослідних груп вірогідно зменшувався щодо контрольної групи на 27,3% (p<0,001), 17,8% (p<0,01) і 15,4% (p<0,05) на 29 добу дослідження порівняно з контролем (табл. 3). Зниження загального рівня холестеролу за впоювання цинку цитрату може бути пов'язане з тим, що Цинк зменшує ліполіз у жировій тканині й призводить до розпаду триацилгліцеролів, що зберігаються в жировій тканині [25]. Додавання селену цитрату в умовах теплового стресу сприяє захисту від окисного пошкодження та збереженню структурної цілісності клітин і клітинних органел за умов теплового стресу [1]. У ході проведення досліджень встановлено, що германій цитрат проявляє інгібуючу дію на перекисне окиснення ліпідів в організмі [26].

Холестерол є основним компонентом клітинних структур та органел, підтримуючи структурну цілісність і проникність клітини, бере участь у синтезі гормонів. Холестерол в організмі переміщується спеціальним протеїном – аполіпротеїном. У результаті утворюються ліпопротеїди ліпопротеїди різної щільності. Ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ) транспортують надлишковий холестерол з клітин та тканин

Вміст холестеролу, триацилгліцеролів, загального кальцію та неорганічного фосфору у крові кролів за випоювання цинку цитрату, селену цитрату та германію цитрату в умовах теплового стресу (M±SD, n=6)

| Показники | Група тварин | Період досліджень, вік/доба випоювання добавки | | |
|------------------------------|--------------|--|------------------|--------------|
| | | Підготовчий період, 49/1 | Дослідний період | |
| | | | 63/14 | 78/29 |
| Триацилгліцероли, ммоль/л | К | 0,87±0,10 | 0,43±0,11 | 0,49±0,07 |
| | Д-1 | 0,70±0,15 | 0,37±0,05 | 0,42±0,08 |
| | Д-2 | 0,69±0,17 | 0,38±0,10 | 0,39±0,09 |
| | Д-3 | 0,71±0,12 | 0,39±0,03 | 0,44±0,06 |
| Холестерол, ммоль/л | К | 0,57±0,19 | 0,74±0,03 | 0,84±0,08 |
| | Д-1 | 0,62±0,10 | 0,65±0,10 | 0,61±0,05*** |
| | Д-2 | 0,69±0,15 | 0,71±0,07 | 0,69±0,04** |
| | Д-3 | 0,65±0,10 | 0,73±0,12 | 0,71±0,06* |
| Загальний кальцій, ммоль/л | К | 3,01±0,25 | 3,15±0,16 | 2,81±0,19 |
| | Д-1 | 2,83±0,17 | 3,01±0,22 | 2,80±0,12 |
| | Д-2 | 2,80±0,16 | 2,95±0,1 | 2,70±0,20 |
| | Д-3 | 3,01±0,23 | 3,10±0,21 | 2,83±0,25 |
| Неорганічний фосфор, ммоль/л | К | 1,98±0,13 | 1,85±0,25 | 1,95±0,12 |
| | Д-1 | 1,91±0,23 | 1,80±0,22 | 1,90±0,17 |
| | Д-2 | 2,00±0,20 | 2,16±0,53 | 1,83±0,15 |
| | Д-3 | 1,95±0,22 | 2,23±0,20 | 1,83±0,24 |

до печінки, де перетворюють його на жовчні кислоти, які потім виводяться з організму [27]. Таким чином, ЛПВЩ проявляють антиоксидантні властивості та захищають від окисного пошкодження клітини організму [28].

Отже, випоювання кролям цинку цитрату (12 мг Zn/кг маси тіла) та селену цитрату (60 мкг Se/кг маси тіла) за умов теплового стресу відзначилося вираженими позитивними змінами біохімічних показників крові кролів протягом дослідження. Додавання до раціону кролів германію цитрату (12,5 мкг Ge/кг) трохи знижувало негативну дію підвищених температур довкілля на їхній організм.

ВИСНОВКИ

Отже, випоювання кролям цинку цитрату за умов теплового стресу позначилося у їхній крові нижчим рівнем креатиніну ($p<0,05$), зниженням активності АСТ ($p<0,01$), АЛТ ($p<0,05$) та зниженням вмісту холестеролу ($p<0,001$) на 29 добу дослідження. Застосування у раціоні тварин селену цитрату призвело до підвищення у крові вмісту альбуміну ($p<0,05$), зниження рівня креатиніну ($p<0,05$), зниження активності АСТ ($p<0,01$) і АЛТ ($p<0,05$) та зниження вмісту холестеролу ($p<0,01$) на завершальному етапі дослідження. Додавання до води германію цитрату позначилося у крові вищим вмістом холестеролу ($p<0,05$) на 29 добу експерименту.

ЛІТЕРАТУРА

1. El-Ratel I.T., Elbasuny M. E., El-Nagar H. A., Abdel-Khalek A. K. E., El-Raghi A.A., El Basuini M.F., El-Kholy K.H., Fouda, S.F. The synergistic impact of Spirulina and selenium nanoparticles mitigates the adverse effects of heat stress on the physiology of rabbit bucks. *PLoS One*, 2023 18 (7). doi.org/10.1371/journal.pone.0287644.
2. Oladimeji A.M., Johnson T.G., Metwally K., Farghly M., Mahrose K. M. Environmental heat stress in rabbits: implications and ameliorations. *Int J. Biometeorol*, 2022. 66 (1). P. 1–11. DOI: 10.1007/s00484-021-02191-0.
3. Marai I.F.M., Ayyat M.S., Abd El-Monem U.M. Growth performance and reproductive traits at first parity of New Zealand White female rabbits as affected by heat stress and its alleviation under Egyptian conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 2001 33 (6). PP. 451–462. DOI: 10.1023/a:1012772311177.
4. Liang Z.L., Chen F., Park S., Balasubramanian B., Liu W.C. Impacts of Heat Stress on Rabbit Immune Function, Endocrine, Blood Biochemical Changes, Antioxidant Capacity and Production Performance, and the Potential Mitigation Strategies of Nutritional Intervention. *Frontiers in Veterinary Science*, 2022, 9. DOI: 10.3389/fvets.2022.906084.
5. Michalak I., Dziergowska K., Alagawany M., Farag M.R., El-Shall N.A., Tuli H.S., Emran T.B., Dhama K. The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry. *Veterinary Quarterly*. 2022. 42 (1). PP. 68–94. DOI: 10.1080/01652176.2022.2073399.
6. Sheiha A.M., Abdelnour S.A., Abd El-Hack M.E., Khafaga A.F., Metwally, K.A., El-Saadony, M.T. Effects of dietary biological or chemical-synthesized nano-selenium supplementation on growing rabbits exposed to thermal stress. *Animals*, 2022. 10 (3), 430. DOI: 10.3390/ani10030430.
7. Shi L, Yang R, Yue W, Xun W, Zhang C, Ren Y, et al. Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. *Anim Reprod Sci*. 2010.118(2–4).PP. 248 –254. DOI:10.1016/j.anireprosci.2009.10.003.
8. Hassan F., Mahmoud R., El-Araby I. Growth Performance, Serum Biochemical, Economic Evaluation and IL6 Gene Expression in Growing Rabbits Fed Diets Supplemented with Zinc Nanoparticles. *Zagazig Vet J*, 2017. 45. PP. 238 – 249. DOI: 10.21608/ZVJZ.2017.7949.
9. Konkol D., Wojnarowski, K. The Use of Nanominerals in Animal Nutrition as a Way to Improve the Composition and Quality of Animal Products. *Journal of Chemistry*, 2018. PP. 1–7. DOI:10.1155/2018/5927058.
10. Bunglavan S.J., Garg A.K., Dass R.S., Shrivastava S. Use of nanoparticles as feed additives to improve digestion and absorption in livestock. *Livest. Res. Int*, 2014. 2. PP. 36–47.
11. Lesyk Y.V., Iuchka I.V., Bosanevych N.O., Denys H.H., Grabovska O.S. Resistance of the rabbit organism under effect of different amounts of nano zinc citrate and its combination with cobalt and chrome citrate. *Biol. Tvarin*. 2019. 21 (4), PP. 51–57. DOI: 10.15407/anim-biol21.04.051.
12. Sallam A.E., Mansour A.T., Alsaqufi A., Salem M., El-Feky M. Growth performance, anti-oxidative status, innate immunity, and ammonia stress resistance of *Siganus rivulatus* fed diet supplemented with zinc and zinc nanoparticles. *Aquac. Rep*, 2020. 18:100410. DOI:10.1016/j.aqrep.2020.100410.
13. Chrastinová L., Čobanová K., Chrenková M., Poláčiková M., Formelová Z., Lauková A., Ondruška E., Simonová P.M., Stropfová V., Mlyneková Z., et al. Effect of dietary zinc supplementation on nutrients digestibility and fermentation characteristics of caecal content in physiological experiment with young rabbits. *Slovak J. Anim. Sci*. 2016. 49. P. 23–31.
14. Zheng H.P. Physiological Function of Organic Germanium and Its Application in Food. *Studies of Trace Elements and Health*, 2011. 28. PP. 65–67.

15. Fedoruk R.S., Kovalchuk I.I., Mezentseva L.M., Tesarivska U.I., Pylypets A.Z., Kaplunenko V.H. Germanium compounds and their role in animal body. *Biol. Tvarin*, 2022. 24 (1). PP. 50–60. DOI:10.15407/animbiol24.01.050.
16. Патент України на корисну модель № 127047. МПК (2006): G01N 27/416 (2006.01), G01N 27/27 (2006.01), G01N 19/10 (2006.01), G01N 33/00, H04Q 9/00, G01L 9/00. Аналізатор повітряного середовища електронний / Небилиця М.С., Онищенко Р.О., Ващенко О.В., Бойко О.В. Опубл. 29.03.2023, бюл. № 13.
17. Патент України на корисну модель No 38391. МПК (2006): C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, C07C 53/126 (2008.01), C07C 53/10 (2008.01), A23L 1/00, B82B 3/00. Спосіб отримання карбоксилатів металів. Нанотехнологія отримання карбоксилатів металів / Косінов М.В., Каплуненко В.Г. Опубл. 12.01.2009. Бюл. No 1/2009.
18. Влізлю В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник СПОЛОМ, 2012. 764 с.
19. Petrovska I., Salyha Y., Vudmaska I. Statistical methods in biological research: educational and methodological manual (p. 172) [Review of Statistical methods in biological research: educational and methodological manual]. *Agrarian Science*, 2022.
20. Abdel-Wareth A.A.A., Amer S.A., Mobashar M., El-Sayed H.G.M. Use of zinc oxide nanoparticles in the growing rabbit diets to mitigate hot environmental conditions for sustainable production and improved meat quality. *BMC Veterinary Research*. 2022. 18 (1). P. 354. DOI: 10.1186/s12917-022-03451-w.
21. Wu G. Functional amino acids in growth, reproduction, and health. *Adva. Nutr*, 2010. 1. PP. 31–37.
22. Melillo A. Rabbit Clinical Pathology. *Journal of Exotic Pet Medicine*. 2007. 16 (3). PP. 135–145. DOI:10.1053/j.jepm.2007.06.002.
23. Wang H.L., Zhang J.S., Yu H.Q. Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: comparison with selenomethionine in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, 2007. 42 (10). PP. 1524–1533. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.013.
24. Alagawany M., Qattan S.Y.A., Attia Y.A., El-Saadony M.T., Elnesr S.S., Mahmoud M.A., et al. Use of Chemical Nano-Selenium as an Antibacterial and Antifungal Agent in Quail Diets and Its Effect on Growth, Carcasses, Antioxidant, Immunity and Caecal Microbes. *Animals*, 2021. 11 (11). P. 3027. DOI: 10.3390/ani11113027.
25. Dieck H.T, Döring F., Fuchs D., Roth H-P., Daniel H. Transcriptome and proteome analysis identifies the pathways that increase hepatic lipid accumulation in zinc-deficient rats. *J Nutr*. 2005;135(2):199–205.
26. Nakyinsige K., Sazili A.Q., Aghwan Z.A., Zulkifli I., Goh Y.M., Fatimah A.B. Changes in blood constituents of rabbits subjected to transportation under hot, humid tropical conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2013. 26 (6). PP. 874–878. DOI: 10.5713/ajas.2012.12652.
27. Navab M., Yu R., Gharavi N., et al. High-density lipoprotein: Antioxidant and anti-inflammatory properties. *Current Atherosclerosis Reports*, 2007. 9. PP. 244–248. DOI: 10.1007/s11883-007-0026-3.
28. Brites F., Martin M., Guillas I., Kontush A. Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clinical*, 2017. 8. PP. 66–77. DOI: 10.1016/j.bbacli.2017.07.00.

REFERENCES

1. Abdel-Wareth, A.A.A., Amer, S.A., Mobashar, M., & El-Sayed, H. G. M. (2022). Use of zinc oxide nanoparticles in the growing rabbit diets to mitigate hot environmental con-

- ditions for sustainable production and improved meat quality. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 354. doi.org/10.1186/s12917-022-03451-w
2. Alagawany, M., Qattan, S. Y. A., Attia, Y. A., El-Saadony, M. T., Elnesr, S. S., Mahmoud, M. A., et al. (2021). Use of Chemical Nano-Selenium as an Antibacterial and Antifungal Agent in Quail Diets and Its Effect on Growth, Carcasses, Antioxidant, Immunity and Caecal Microbes. *Animals*, 11(11), 3027. doi.org/10.3390/ani11113027
 3. Brites, F., Martin, M., Guillas, I., & Kontush, A. (2017). Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clinical*, 8, 66–77. doi.org/10.1016/j.bbacli.2017.07.001
 4. Bunglavan, S. J., Garg, A. K., Dass, R. S., & Shrivastava, S. (2014). Use of nanoparticles as feed additives to improve digestion and absorption in livestock. *Livestock Research for Rural Development*, 2, 36–47.
 5. Chrastinová, L., Čobanová, K., Chrenková, M., Poláčiková, M., Formelová, Z., Lauková, A., Ondruška, L., Simonová, P. M., Stropfová, V., & Mlyneková, Z., et al. (2016). Effect of dietary zinc supplementation on nutrients digestibility and fermentation characteristics of caecal content in physiological experiment with young rabbits. *Slovak Journal of Animal Science*, 49, 23–31.
 6. Dieck, H. T., Döring, F., Fuchs, D., Roth, H-P., & Daniel, H. (2005). Transcriptome and proteome analysis identifies the pathways that increase hepatic lipid accumulation in zinc-deficient rats. *The Journal of Nutrition*, 135(2), 199–205.
 7. El-Ratel, I. T., Elbasuny, M. E., El-Nagar, H. A., Abdel-Khalek, A. K. E., El-Raghi, A. A., El Basuini, M. F., El-Kholy, K. H., & Fouda, S. F. (2023). The synergistic impact of Spirulina and selenium nanoparticles mitigates the adverse effects of heat stress on the physiology of rabbit bucks. *PLoS One*, 18(7), e0287644. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287644.
 8. Fedoruk, R. S., Kovalchuk, I. I., Mezentseva, L. M., Tesarivska, U. I., Pylypets, A. Z., & Kaplunenko, V. H. (2022). Germanium compounds and their role in animal body. *Biology of Animals*, 24(1), 50–60. https://doi.org/10.15407/animbiol24.01.050
 9. Hassan, F., Mahmoud, R., & El-Araby, I. (2017). Growth Performance, Serum Biochemical, Economic Evaluation and IL6 Gene Expression in Growing Rabbits Fed Diets Supplemented with Zinc Nanoparticles. *Zagazig Veterinary Journal*, 45, 238–249. doi:10.21608/ZVJZ.2017.7949.
 10. Konkol, D., & Wojnarowski, K. (2018). The Use of Nanominerals in Animal Nutrition as a Way to Improve the Composition and Quality of Animal Products. *Journal of Chemistry*, 2018, 5927058. https://doi.org/10.1155/2018/5927058.
 11. Kosinov, M. V., & Kaplunenko, V. G. (2009). Nanotechnology of obtaining metal carboxylates (Patent of Ukraine for utility model No. 38391). Bulletin No. 1/2009.
 12. Lesyk, Y. V., Luchka, I. V., Bosanevych, N. O., Denys, H. H., & Grabovska, O. S. (2019). Resistance of the rabbit organism under effect of different amounts of nano zinc citrate and its combination with cobalt and chrome citrate. *Biology of Animals*, 21(4), 51–57. https://doi.org/10.15407/animbiol21.04.051.
 13. Liang, Z. L., Chen, F., Park, S., Balasubramanian, B., & Liu, W. C. (2022). Impacts of Heat Stress on Rabbit Immune Function, Endocrine, Blood Biochemical Changes, Antioxidant Capacity and Production Performance, and the Potential Mitigation Strategies of Nutritional Intervention. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. https://doi.org/10.3389/fvets.2022.906084.
 14. Marai, I. F. M., Ayyat, M. S., & Abd El-Monem, U. M. (2001). Growth performance and reproductive traits at first parity of New Zealand White female rabbits as affected by heat stress and its alleviation under Egyptian conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 33(6), 451–462. https://doi.org/10.1023/a:1012772311177.
 15. Melillo, A. (2007). Rabbit Clinical Pathology. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 16(3), 135–145. https://doi.org/10.1053/j.jepm.2007.06.002.

16. Michalak, I., Dziergowska, K., Alagawany, M., Farag, M. R., El-Shall, N. A., Tuli, H. S., Emran, T. B., & Dhama, K. (2022). The effect of metal-containing nanoparticles on the health, performance and production of livestock animals and poultry. *Veterinary Quarterly*, 42(1), 68–94. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2073399>.
17. Nakyinsige, K., Sazili, A. Q., Aghwan, Z. A., Zulkifli, I., & Goh, Y. M., Fatimah, A. B. (2013). Changes in blood constituents of rabbits subjected to transportation under hot, humid tropical conditions. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(6), 874–878. doi.org/10.5713/ajas.2012.12652.
18. Navab, M., Yu, R., Gharavi, N., et al. (2007). High-density lipoprotein: Antioxidant and anti-inflammatory properties. *Current Atherosclerosis Reports*, 9, 244–248. <https://doi.org/10.1007/s11883-007-0026-3>.
19. Nebylytsia, M. S., Onyshchenko, R. O., Vashchenko, O. V., & Boyko, O. V. (2023). Electronic air environment analyser (Utility model patent of Ukraine No. 127047). *Bulletin* No. 13.
20. Oladimeji, A. M., Johnson, T. G., Metwally, K., Farghly, M., & Mahrose, K. M. (2022). Environmental heat stress in rabbits: implications and ameliorations. *International Journal of Biometeorology*, 66(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00484-021-02191-0>.
21. Petrovska, I., Salyha, Y., & Vudmaska, I. (2022). Statistical methods in biological research: educational and methodological manual [Review of Statistical methods in biological research: educational and methodological manual]. *Agrarian Science*, 172.
22. Sallam, A. E., Mansour, A. T., Alsaqfi, A., Salem, M., & El-Feky, M. (2020). Growth performance, anti-oxidative status, innate immunity, and ammonia stress resistance of *Siganus rivulatus* fed diet supplemented with zinc and zinc nanoparticles. *Aquaculture Reports*, 18, 100410. doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100410.
23. Sheiha, A. M., Abdelnour, S. A., Abd El-Hack, M. E., Khafaga, A. F., Metwally, K. A., & El-Saadony, M. T. (2022). Effects of dietary biological or chemical-synthesized nano-selenium supplementation on growing rabbits exposed to thermal stress. *Animals*, 10(3), 430. <https://doi.org/10.3390/ani10030430>.
24. Shi, L., Yang, R., Yue, W., Xun, W., Zhang, C., Ren, Y., et al. (2010). Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. *Animal Reproduction Science*, 118(2–4), 248–254. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.10.003>
25. Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., & Ratyck, I. B. (2012). Laboratory methods of research in biology, animal husbandry and veterinary medicine: SPOLOM reference book.
26. Wang, H. L., Zhang, J. S., & Yu, H. Q. (2007). Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: comparison with selenomethionine in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, 42(10), 1524–1533. doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.013.
27. Wu, G. (2010). Functional amino acids in growth, reproduction, and health. *Advances in Nutrition*, 1, 31–37.
28. Zheng, H. P. (2011). Physiological Function of Organic Germanium and Its Application in Food. *Studies of Trace Elements and Health*, 28, 65–67.

ABSTRACT

EFFECT OF ZINC CITRATE, SELENIUM CITRATE AND GERMANIUM CITRATE ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RABBIT BLOOD UNDER HEAT STRESS

Global climate change and increasing environmental temperatures in many regions of the world contribute to mammalian heat stress, which leads to disorders of homeostatic processes in their body. Rabbits do not have sweat glands and cannot effectively regulate their body temperature. In recent years, the use of nanotechnology in animal nutrition to mitigate the negative effects of high temperatures has become a subject of special attention. Nanoparticles are characterised by high bioavailability, surface activity, catalytic and adsorption properties, which allows them to easily interact with mammalian cells. Therefore, the purpose of our study was to determine the effect of zinc citrate, selenium citrate and germanium citrate, produced by nanotechnology, on the biochemical parameters of rabbit blood under heat stress. The study was conducted on young rabbits of the Thermon White breed from 35 to 78 days of age. During the experiment, the temperature in the room was increased from 28.9 to 30°C from 12 to 16 hours using electric adjustable heaters. Animals for the study were formed into control and experimental groups I, II and III of 6 animals each. The control group was fed pelleted feed and given water with unrestricted access. Rabbits in experimental groups I, II and III consumed pelleted feed as in the control group, but received trace element citrates with water during the day: Experimental group I – zinc citrate – 60 mg Zn/l or 12 mg Zn/kg body weight; group II – selenium citrate – 300 µg Se/l or 60 µg Se/kg body weight; group III – germanium citrate – 62.5 µg Ge/l or 12.5 µg Ge/kg body weight. The biochemical parameters of rabbits' blood were studied on day 14 of the preparatory period and on days 14 and 29 of supplementation in the experimental period under conditions of heat stress. The experimental data were calculated by analysis of variance (ANOVA). To identify statistical differences between the control and experimental groups, the a posteriori criterion was used – the Tukey HSD method, differences were considered significant at $P \leq 0.05$. It was established that the addition of trace element citrates to the diet of rabbits had a positive effect on mitigating the negative effects of elevated temperatures to varying degrees. In particular, zinc citrate feeding under conditions of heat stress was associated with a lower creatinine level ($p < 0,05$), a decrease in aspartate aminotransferase activity ($p < 0,01$), alanine aminotransferase ($p < 0,05$) and a decrease in cholesterol content ($p < 0,001$) on day 29 of the study. The use of selenium citrate in the diet of animals led to an increase in albumin content ($p < 0,05$), lower creatinine level ($p < 0,05$), decreased aspartate aminotransferase activity ($p < 0,01$), alanine aminotransferase ($p < 0,05$) and lower cholesterol content ($p < 0,01$) at the final stage of the study. The addition of germanium citrate to water resulted in a higher cholesterol content ($p < 0,05$) at the final stage of the study.

Key words: rabbits, blood, zinc citrate, selenium citrate, germanium citrate, enzymes, protein, heat stress.