

**Наночастицы металлов: биологические эффекты**

УДК 636.52/.58:636.087.72: 546.56-022.532

doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.903rus

**МОРФО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ У БРОЙЛЕРОВ ПРИ КОРРЕКЦИИ РАЦИОНА СОЛЯМИ И НАНОЧАСТИЦАМИ Cu\***Е.А. СИЗОВА<sup>1, 2</sup>, В.Л. КОРОЛЕВ<sup>1</sup>, Ш.А. МАКАЕВ<sup>1</sup>, Е.П. МИРОШНИКОВА<sup>2</sup>,  
В.А. ШАХОВ<sup>3</sup>

Рационы современных кроссов и пород сельскохозяйственных животных нуждаются в обязательной коррекции минеральной питательности, которая покрывается в основном за счет ионных форм, для которых *in vivo* характерны низкая биодоступность, прооксидантный эффект, высокая токсичность. Поэтому особый интерес представляют низкотоксичные источники эссенциальных химических элементов, в числе которых могут рассматриваться нанокристаллические формы металлов. Мы впервые изучили эффективность использования нанопрепаратов меди при выращивании цыплят-бройлеров. Представлена сравнительная характеристика продуктивного и биологического действия наночастиц (НЧ) меди и сернистой меди на цыплят-бройлеров кросса Смена 7 в возрасте 14-42 сут при различных способах введения в организм с оценкой гематологических и биохимических показателей, а также элементного состава тканей. При анализе морфологических показателей крови было обнаружено увеличение числа эритроцитов и количества гемоглобина на фоне снижения численности тромбоцитов в группах, получивших наивысшую дозу наночастиц меди как перорально, так и внутримышечно. Сравнение биохимических показателей выявило усиление пластических процессов в организме и, как следствие, ускоренный рост в экспериментальных группах. Максимальную разницу по содержанию общего белка с контролем (33,6 %,  $p < 0,05$ ) отмечали при дозе 2,0 мг/кг живой массы, что повышало обеспеченность белкового синтеза. Значимые различия в концентрации альбуминов в пользу групп, получавших Cu НЧ в дозах 2,0 и 0,2 мг/кг, наблюдали у 28-суточных цыплят. Замена сернистой меди в питании птицы на наночастицы меди сопровождалась повышением интенсивности роста. К окончанию эксперимента масса цыплят-бройлеров в I группе превышала K<sub>1</sub> (основной рацион — ОР) на 13,5 % ( $p < 0,01$ ) и K<sub>2</sub> (ОР без CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O) на 23,8 % ( $p < 0,001$ ). Доза Cu НЧ 0,7 мг/кг комбикорма оказалась недостаточной для покрытия потребности птицы в меди и максимального ростостимулирующего эффекта, вследствие чего живая масса была ниже, чем в I группе, но достоверно выше, чем в K<sub>1</sub> (на 8,5 %,  $p < 0,01$ ) и K<sub>2</sub> (на 18,4 %,  $p < 0,01$ ). Таким образом, ростостимулирующий эффект зависит от формы источника меди. Препарат наночастиц меди с дозировкой 1,7 мг/кг корма при энтеральном введении и 0,2 мг/кг живой массы при 2-кратном внутримышечном введении по действию превосходит препарат сернистой меди в составе комбикормов для цыплят-бройлеров.

**Ключевые слова:** наночастицы меди, цыплята-бройлеры, интенсивность роста, химические элементы, биохимические и морфологические показатели крови.

В современном животноводстве и птицеводстве рационы подлежат обязательной коррекции по минеральному составу, что определяется как повышением генетического потенциала (1), так и спецификой биогеохимических провинций (2, 3), влиянием компонентов рационов на доступность минеральных ингредиентов (4-6) и др. В основном источниками эссенциальных химических элементов служат ионные формы. Для них *in vivo* характерна низкая биодоступность, прооксидантный эффект, высокая токсичность (7). Этим, в частности, объясняется неоднозначное восприятие перспектив металлотерапии и особый интерес к низкотоксичным источникам эссенциальных химических элементов, в числе которых могут рассматриваться нанокристаллические формы металлов (8-10).

С уникальными свойствами наноматериалов связывают возможно-

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-36-00023). Химический состав образцов изучали по стандартизированным методикам в лаборатории «Агроэкология техногенных наноматериалов» и Испытательном центре ФГБНУ Всероссийского НИИ мясного скотоводства (аттестат аккредитации RA. RU.21ПФ59 от 02.12.15). Анализ химических элементов выполнен в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва (аттестат аккредитации ГСЭН.RU.ЦАО.311, Регистрационный номер в Государственном реестре РОСС RU. 0001.513118).

сти их широкого применения в медицине и биологии (11, 12) вследствие низкой токсичности и высокой биодоступности при размерности около 100 нм (13). Уникальные свойства наноматериалов объективно определили появление новых источников микроэлементов на основе наночастиц, целесообразность использования которых в составе рационов для животных и птиц продемонстрирована в ряде работ (14, 15).

Мы впервые оценили эффективность разных форм меди (сернокислая соль и нанокристаллический препарат) при выращивании птицы, выявив тенденцию к усилению эритропоэза, альбуминсинтезирующей функции печени и интенсивности роста при включении наночастиц Cu в рацион.

Цель исследования — сравнительная оценка препарата наночастиц и минеральной соли меди по биодоступности и влиянию на рост, развитие, гематологические и биохимические показатели у цыплят-бройлеров.

*Методика.* Наночастицы Cu (Cu НЧ) синтезировали методом высокотемпературной конденсации (установка Миген-3, Институт энергетических проблем химической физики РАН, г. Москва) согласно описанию (16). Материаловедческая аттестация препаратов включала электронную сканирующую и просвечивающую микроскопию на JSM 7401F и JEM-2000FX («JEOL», Япония). Рентгенофазовый анализ выполняли на дифрактометре ДРОН-7 (НПО «Буревестник», Россия). Размер (d) полученных наночастиц  $103 \pm 2$  нм. Лиозолы наночастиц в физрастворе готовили на ультразвуком диспергаторе УЗДН-2Т («НПП Академприбор», Россия) (35 кГц, 300/450 Вт, 10 мкА) с последующей УФ-стерилизацией.

Исследования провели на цыплятах-бройлерах кросса Смена 7 (виарий Оренбургского государственного университета). Содержание птицы и процедуры при выполнении экспериментов соответствовали требованиям, предусмотренным национальным регламентом (Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press, Washington, D.C., 1996)». Суточные цыплята ( $n = 270$ ) были пробиркованы и помещены в одинаковые условия. В возрасте 2 нед на основании индивидуальных ежесуточных взвешиваний и учета затрат корма их разделили (по принципу пар-аналогов) на три контрольные и пять опытных групп (по  $n = 30$ ). Птица получала полнорационный комбикорм согласно рекомендациям Всероссийского научно-исследовательского и технологического института птицеводства (17, 18). В стартовом ОР содержание меди составило 11,79 мг/кг, в ростовом — 9,51 мг/кг, в том числе за счет введения сульфата меди (1,7 мг/кг) (18). В контроле использовали только основной рацион (ОР,  $K_1$ ), ОР, лишенный  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  ( $K_2$ ) и ОР с 2-кратными внутримышечными инъекциями физиологического раствора бройлерам в возрасте 14 и 28 сут ( $K_3$ ). Рационы по группам были следующими: в I группе — ОР без  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  с добавкой наночастиц Cu в дозе 1,7 мг/кг корма, во II — ОР без  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  с наночастицами Cu в дозе 0,7 мг/кг корма (пероральное поступление наночастиц); в III — ОР без  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , наночастицы Cu (2 мг/кг живой массы) вводили в мышцы бедра, IV — ОР без  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , наночастицы Cu (0,2 мг/кг) вводили в мышцы бедра, V — ОР без  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , наночастицы Cu (0,02 мг/кг живой массы) вводили в мышцы бедра (парентеральное поступление 2-кратно в возрасте 14 и 28 сут). Всех цыплят поили дистиллированной водой. Состав ОР (г/кг) в период с 14-х по 28-е сут: зерно пшеницы — 320, ячменя — 10, жмых подсолнечный — 184, шрот соевый — 200, рыбная мука — 40, масло растительное — 60, зерно кукурузы — 163, отруби пшеничные — 10, известняка — 10, соль поваренная — 3; с 28-х по 42-е сут: зерно пшеницы — 182, ячменя — 50, жмых подсолнечный — 180, шрот сое-

вый — 75, рыбная мука — 45, масло растительное — 45, зерно кукурузы — 400, отруби пшеничные — 10, известняк — 10, соль поваренная — 3.

Подопытную птицу ежедневно индивидуально взвешивали. Кровь брали из подкрыльцовой вены утром натошак перед убоем в 28- и 42-суточном возрасте. Образцы для изучения морфологических показателей помещали в вакуумные пробирки с антикоагулянтом (EDTA), для биохимического анализа — в пробирки с активатором свертывания (тромбин). Морфологические показатели определяли на автоматическом гематологическом анализаторе URIT-2900 Vet Plus («URIT Medial Electronic Co., Ltd», Китай). Биохимический анализ сыворотки крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе CS-T240 («DIRUI Industrial Co., Ltd», Китай) с использованием коммерческих наборов для ветеринарии (ДиаВет-Тест, ЗАО «ДИАКОН-ДС», Россия; «Randox Laboratories Ltd», Великобритания). Сыворотку крови исследовали не позднее 2 ч после отбора проб.

При определении пула Cu в организме в начале и в конце учетного периода после убоя цыплят в возрасте 28 и 42 сут формировали средние пробы мышечной ткани, кожи, внутренних органов (ткани желудочно-кишечного тракта, сердца, легких, печени, почек, селезенки, половых органов), костной ткани и центральной нервной системы, внутреннего жира ( $n = 15$ ). Пробы замораживали и хранили при  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Общий пул химического элемента устанавливали суммированием показателей по органам и тканям. Элементный состав биосубстратов и комбикормов исследовали методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (Optima 2000 V, «Perkin Elmer», США) и масс-спектрометрии (Elan 9000, «Perkin Elmer», США). Озоление биосубстратов проводили с помощью микроволновой системы разложения Multiwave-3000 («Anton Paar», Австрия).

При расчете биодоступности меди из различных источников (наночастицы, соль) исходили из допущения, что коэффициент трансформации меди из кормов ОР (без учета сульфата меди) остается неизменным во всех опытных и контрольных группах. Коэффициент трансформации меди (18) из кормов ОР (без учета сульфата меди) рассчитывали на основании величины совокупного поступления Cu с кормами и прироста пула Cu в организме в группах  $K_1$  (ОР) и  $K_2$  (ОР, лишенный  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).

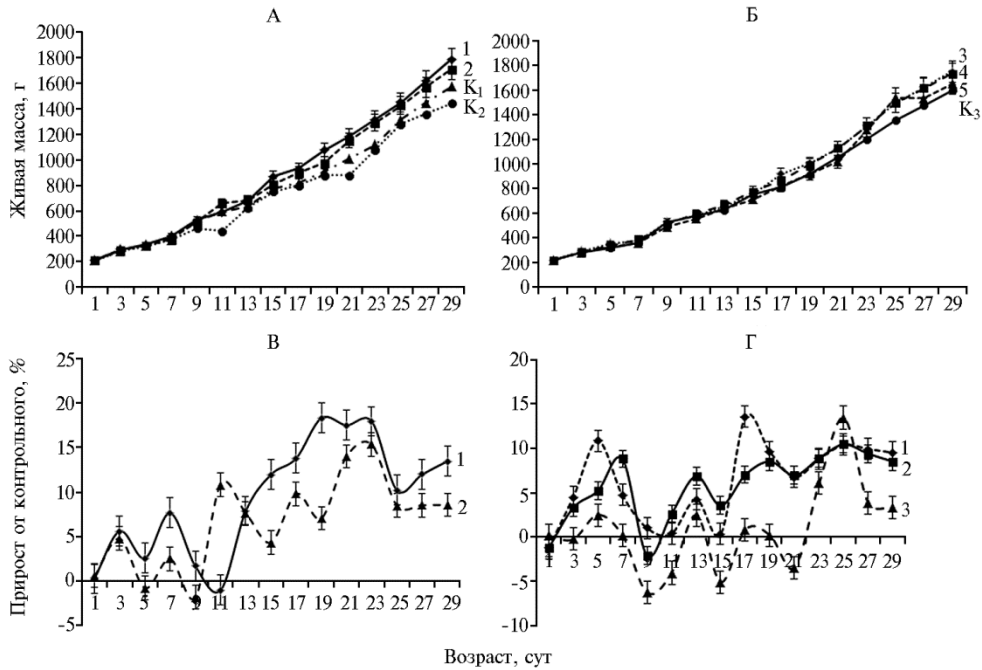
Данные представлены как среднее арифметическое ( $M$ ) и стандартная ошибка среднего ( $m$ ). Статистическую обработку проводили с использованием программного пакета Statistica 10.0 («StatSoft Inc.», США). Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Продуктивность бройлеров была связана с содержанием меди в рационе (рис. 1). Так, исключение из состава премикса сернокислой меди (группа  $K_2$ ) приводило к снижению массы тела на 8 % по сравнению с полноценным рационом ( $K_1$ ). В то же время внутримышечная инъекция физиологического раствора ( $K_3$ ) при нормировании рациона по меди не имела негативных последствий, и живая масса в этой группе была близка к значениям в  $K_1$  (различия в пределах погрешности).

Замена  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  на Cu НЧ сопровождалась более интенсивным ростом цыплят. К окончанию эксперимента их масса в I группе превышала  $K_1$  на 13,5 % ( $p < 0,01$ ) и  $K_2$  на 23,8 % ( $p < 0,001$ ). Доза Cu НЧ 0,7 мг/кг комбикорма оказалась недостаточной для покрытия потребности птицы в меди и максимального ростостимулирующего эффекта, вследствие чего живая масса была ниже, чем в I группе, но достоверно выше, чем в  $K_1$  (на 8,5 %,  $p < 0,01$ ) и  $K_2$  (на 18,4 %,  $p < 0,01$ ).

Сходный ростостимулирующий эффект получили при увеличении парентеральной дозы Cu НЧ (от 0,02 мг/кг до 2 мг/кг). Вероятно, доза

0,02 мг/кг не покрывала потребностей птицы в этом элементе, о чем могли свидетельствовать результаты взвешиваний. К окончанию эксперимента при поступлении Cu НЧ с кормом (1,7 мг/кг) разница по живой массе относительно контроля K<sub>1</sub> составила 13,5 %, при внутримышечном введении (2 мг/кг) — 9,5 % в сравнении с K<sub>3</sub>.



**Рис. 1.** Динамика роста (А, Б) и относительный прирост живой массы (В, Г) у цыплят-бройлеров кросса Смена 7 при введении наночастиц Cu (НЧ Cu) с кормом (А, В) или внутримышечно (Б, Г): 1, 2, 3, 4, 5 — группы I, II, III, IV и V (описание см. в разделе «Методика»); K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub> и K<sub>3</sub> (контроли) — соответственно основной рацион (ОР), ОР без CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O и ОР с внутримышечными инъекциями физиологического раствора. Для прироста приведены значения относительно K<sub>1</sub> (В, скармливание НЧ Cu) и K<sub>3</sub> (Г, внутримышечное поступление). К окончанию срока наблюдений различия между I и II группами и K<sub>1</sub>, I группой и K<sub>2</sub>, а также III и IV группами и K<sub>3</sub> достоверны при  $p < 0,05$ , между II группой и K<sub>2</sub> — достоверны при  $p < 0,01$  ( $M \pm m$ ,  $n = 30$ , опыт в условиях вивария).

Морфологические показатели крови на фоне замены сернокислой меди наночастицами Cu в рационе и при их внутримышечных инъекциях имели ряд особенностей (табл. 1).

**1. Динамика морфологического состава крови у цыплят-бройлеров кросса Смена 7 при разных дозах и способах поступления наночастиц (НЧ) Cu и солей Cu ( $M \pm m$ ,  $n = 15$ , опыт в условиях вивария)**

Группа	Гематокрит, %	Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л
На 28-е сут			
<i>Поступление с кормом</i>			
I (ОР без CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O, Cu НЧ 1,7 мг/кг)	25,0 $\pm$ 0,41 <sup>a</sup>	2,05 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	110,0 $\pm$ 2,62 <sup>a</sup>
II (ОР без CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O, Cu НЧ 0,7 мг/кг)	23,4 $\pm$ 1,10 <sup>a</sup>	2,93 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	102,7 $\pm$ 4,71 <sup>a</sup>
<i>Парентеральное поступление (инъекции)</i>			
III (ОР без CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O, Cu НЧ 2 мг/кг)	25,9 $\pm$ 1,20 <sup>ac</sup>	3,04 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	102,3 $\pm$ 5,82 <sup>a</sup>
IV (ОР без CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O, Cu НЧ 0,2 мг/кг)	25,5 $\pm$ 0,27 <sup>ac</sup>	3,01 $\pm$ 0,03 <sup>ac</sup>	103,2 $\pm$ 1,90 <sup>a</sup>
V (ОР без CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O, Cu НЧ 0,02 мг/кг)	23,7 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>	2,89 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup>	94,5 $\pm$ 4,75
K <sub>1</sub> (ОР)	18,5 $\pm$ 1,03	2,83 $\pm$ 0,14	96,0 $\pm$ 4,84
K <sub>2</sub> (ОР без CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	22,3 $\pm$ 1,68	2,50 $\pm$ 0,09	86,2 $\pm$ 8,80
K <sub>3</sub> (ОР с 2-кратным введением физраствора)	21,3 $\pm$ 0,88	2,75 $\pm$ 0,08	93,0 $\pm$ 4,76
На 42-е сут			
<i>Поступление с кормом</i>			
I (ОР без CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O, Cu НЧ 1,7 мг/кг)	28,4 $\pm$ 0,43 <sup>ab</sup>	3,29 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>	125,5 $\pm$ 4,18 <sup>ab</sup>
II (ОР без CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O, Cu НЧ 0,7 мг/кг)	21,9 $\pm$ 2,47	2,91 $\pm$ 0,02	102,0 $\pm$ 9,80

Парентеральное поступление (инъекции)			
III (ОР без $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , $\text{Cu}$ НЧ 2 мг/кг)	27,55±1,43	3,23±0,12	118,2±7,30
IV (ОР без $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , $\text{Cu}$ НЧ 0,2 мг/кг)	26,6±0,49	3,22±0,06	117,0±2,62
V (ОР без $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , $\text{Cu}$ НЧ 0,02 мг/кг)	28,4±0,69 <sup>b</sup>	3,41±0,06 <sup>b</sup>	128,2±2,44 <sup>b</sup>
K <sub>1</sub> (ОР)	23,9±0,98	3,98±0,12	119,3±3,36
K <sub>2</sub> (ОР без $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )	22,5±0,62	3,13±0,06	110,3±2,49
K <sub>3</sub> (ОР с 2-кратным введением физраствора)	24,6±0,57	3,68±0,11	120,3±3,01

Примечание. ОР — основной рацион; <sup>a</sup> — различия с K<sub>1</sub> достоверны при  $p < 0,05$ , <sup>b</sup> — различия с K<sub>2</sub> достоверны при  $p < 0,05$ , <sup>c</sup> — различия с K<sub>3</sub> достоверны при  $p < 0,05$ .

Так, число эритроцитов достигало максимума в группах, получивших наибольшую дозу  $\text{Cu}$  НЧ как перорально, так и внутримышечно. Например, в I группе разница с контролем составила 12,6 % ( $p < 0,001$ ) в 28-суточном и 75,0 % ( $p < 0,05$ ) в 42-суточном возрасте. Содержание гемоглобина (независимо от способа введения  $\text{Cu}$  НЧ) превышали таковые в контроле (с максимальной разницей 8,9 % в I группе). Алогичное воздействие наночастиц на гематологические показатели описано ранее (19).

## 2. Динамика биохимических показателей крови у цыплят-бройлеров кросса Смена 7 при поступлении наночастиц (НЧ) $\text{Cu}$ с кормом в разных дозах ( $M \pm m$ , $n = 15$ , опыт в условиях вивария)

Показатель	I группа	II группа	K <sub>1</sub>
На 28-е сут			
Общий белок, г/л	25,8±1,85	20,8±1,57	20,1±1,99
Альбумин, г/л	12,3±0,99*	8,8±0,54	10,2±0,81
Билирубин, мкмоль/л	3,29±0,070*	3,20±0,070*	2,13±0,080
АлАТ, Е/л	10,3±0,84	7,5±0,57	8,8±0,62
АсАТ, Е/л	277,5±6,06**	196,8±8,12	179,1±5,11
Мочевина, ммоль/л	1,10±0,011	1,13±0,070	1,25±0,020
Креатинин, ммоль/л	74,0±3,63	67,7±2,11	61,9±2,94
Холестерин, ммоль/л	3,28±0,042	2,57±0,027	2,98±0,011
Глюкоза, ммоль/л	11,13±0,120**	8,90±0,840*	6,11±0,500
Магний, ммоль/л	0,87±0,031	1,13±0,027	1,05±0,090
Кальций, ммоль/л	0,64±0,009	0,54±0,001*	1,62±0,091
Фосфор, ммоль/л	1,14±0,020	0,59±0,030	1,44±0,070
Железо, мкмоль/л	43,20±2,690	33,19±0,880*	60,20±3,140
На 42-е сут			
Общий белок, г/л	37,8±2,61	38,8±2,81	32,3±2,12
Альбумин, г/л	15,8±0,45	15,7±0,15	13,2±0,13
Билирубин, мкмоль/л	3,94±0,092	4,74±0,080	3,8±0,091
АлАТ, Е/л	9,50±0,620*	10,50±0,160*	7,9±0,320
АсАТ, Е/л	310,7±13,73	238,7±18,35	265,1±10,21
Мочевина, ммоль/л	1,34±0,090	1,49±0,020	1,12±0,020
Креатинин, ммоль/л	54,3±1,11*	55,8±2,60*	63,3±4,12
Холестерин, ммоль/л	3,30±0,016	2,90±0,029	3,13±0,015
Глюкоза, ммоль/л	8,95±0,440	9,09±0,110	11,09±0,970
Магний, ммоль/л	0,32±0,009	0,68±0,005	0,91±0,006
Кальций, ммоль/л	1,13±0,050	1,68±0,040	1,84±0,086
Фосфор, ммоль/л	1,03±0,030	1,70±0,070	1,62±0,090
Железо, мкмоль/л	21,7±1,64	28,5±1,16	23,1±1,15

Примечание. I и II группы — основной рацион (ОР) без  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  с добавкой  $\text{Cu}$  НЧ (соответственно 1,7 и 0,7 мг/кг); K<sub>1</sub> — ОР; АлАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспаратаминотрансфераза. \*, \*\* Различия с K<sub>1</sub> достоверны соответственно при  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ .

## 3. Динамика биохимических показателей крови у цыплят-бройлеров кросса Смена 7 при внутримышечном введении наночастиц (НЧ) $\text{Cu}$ в разных дозах ( $M \pm m$ , $n = 15$ , опыт в условиях вивария)

Показатель	III группа	IV группа	V группа	K <sub>3</sub>
На 28-е сут				
Общий белок, г/л	25,2±1,76	30,5±1,14*	38,5±1,70	19,5±0,18
Альбумин, г/л	14,8±0,76*	14,2±0,47*	15,2±0,83	9,2±0,11
Билирубин, мкмоль/л	1,13±0,010	2,78±0,190	1,46±0,080	1,91±0,050
АлАТ, Е/л	8,0±0,48	4,0±0,51**	8,5±0,62	9,8±0,72
АсАТ, Е/л	228,3±6,62	277,5±8,17**	191,2±4,40	183,6±9,36
Мочевина, ммоль/л	1,47±0,011	1,25±0,021	1,47±0,035	1,27±0,020
Креатинин, ммоль/л	71,3±4,14	69,5±3,11	72,5±3,49	62,8±3,54
Холестерин, ммоль/л	3,13±0,025	3,67±0,024**	3,87±0,034**	2,78±0,021
Глюкоза, ммоль/л	4,79±0,480	3,88±0,190	3,47±0,170	5,19±0,500
Магний, ммоль/л	0,50±0,060	0,78±0,020	0,94±0,025	1,02±0,018

Кальций, ммоль/л	1,20±0,032	0,92±0,03*	0,65±0,03	1,42±0,018
Фосфор, ммоль/л	1,88±0,090	1,14±0,050	2,47±0,080	1,34±0,017
Железо, мкмоль/л	96,49±1,65*	49,31±1,92	72,73±3,88	58,0±4,94
На 42-е сут				
Общий белок, г/л	44,5±1,33**	43,8±1,54**	40,3±1,99**	33,3±1,16
Альбумин, г/л	15,7±0,95	16,2±0,31	16,5±0,67	14,2±0,25
Билирубин, мкмоль/л	4,37±0,081	2,79±0,070	4,77±0,077	3,5±0,028
АлАТ, Е/л	10,83±0,35	15,33±0,60	10,33±0,61	6,9±0,27
АсАТ, Е/л	298,0±9,46	354,0±12,17	310,3±11,84	273,1±10,25
Мочевина, ммоль/л	1,46±0,090	0,81±0,080	1,09±0,090	1,32±0,020
Креатинин, ммоль/л	59,3±4,01	66,0±2,24	81,7±3,84	61,3±3,66
Холестерин, ммоль/л	3,33±0,037	2,95±0,046	2,53±0,027	2,93±0,018
Глюкоза, ммоль/л	10,10±0,140	14,79±0,150*	8,48±0,520	10,08±0,270
Магний, ммоль/л	0,65±0,012	0,78±0,020	0,81±0,020	0,86±0,076
Кальций, ммоль/л	1,73±0,040	1,81±0,020	1,77±0,040	1,74±0,015
Фосфор, ммоль/л	1,38±0,080	1,44±0,320	0,90±0,010	1,51±0,050
Железо, мкмоль/л	56,1±2,13	35,9±1,09	29,8±2,08	25,2±1,04

Примечание. III-V группы — основной рацион (ОР) без  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  с введением  $\text{Cu НЧ}$  (соответственно 2; 0,2 и 0,02 мг/кг);  $\text{K}_3$  — ОР с 2-кратным введением физраствора; АлАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспаргатаминотрансфераза.

\*, \*\* Различия с  $\text{K}_3$  достоверны соответственно при  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ .

Оценка биохимических показателей сыворотки крови выявила (табл. 2, 3), что наибольшее количество общего белка характерно для птицы, которой  $\text{Cu НЧ}$  вводили внутримышечно. При этом максимальную разницу с контролем (33,6 %,  $p < 0,05$ ) отмечали при дозе 2 мг/кг, что повышало обеспеченность белкового синтеза. Значимые различия в концентрации альбуминов в пользу групп, получавших  $\text{Cu НЧ}$  в дозах 2 и 0,2 мг/кг, наблюдали у 28-суточных цыплят. Поступление  $\text{Cu НЧ}$  в дозе 0,7 мг/кг с кормом в меньшей степени стимулировало образование альбумина в печени. Высокую активность обменных процессов у цыплят-бройлеров также подтвердила динамика концентрации мочевины и креатинина. Содержание креатинина (дегидратированная форма креатина, участвующая в обмене энергии в мышцах) (20) уменьшалось по сравнению с контролем на 8,96-11,41 % ( $p < 0,05$ ) при пероральном поступлении  $\text{Cu НЧ}$ , что вполне закономерно вследствие активного перехода креатинина в креатинфосфат и поступления в виде энергии в мышцы при активизации биохимических процессов. Сообщалось, что количество креатинина снижается на 12-27 % при включении в рацион бройлеров арабиногалактана, которое сопровождается интенсификацией обменных процессов (21).

Доза  $\text{Cu НЧ}$  в размере 0,7 мг/кг корма не компенсировала полное отсутствие сернокислой меди в рационе и не обеспечивала потребностей организма. Увеличение концентрации глюкозы в крови цыплят из групп, получавших медь с кормом, указывает на усиление синтетических и энергетических процессов, что приводит к усилению роста (особенно в 28-суточном возрасте).

Количество билирубина, образующегося в ретикулоэндотелиальной системе печени в результате катаболизма гемсодержащих белков, имело тенденцию к увеличению при поступлении меди в форме наночастиц на фоне повышения его количества в контрольных группах по мере роста птицы. У 42-суточных цыплят, получавших  $\text{Cu НЧ}$ , количество билирубина незначительно превышало контрольные показатели.

Вследствие метаболических сдвигов при поступлении наночастиц меди каталитическая активность аминотрансфераз отличалась от контрольных значений. Достоверное увеличение активности АлАТ установили у 42-суточных бройлеров при пероральном применении наночастиц в разных дозах — на 36,9 % ( $p < 0,05$ ) в I группе и на 51,3 % ( $p < 0,05$ ) во II группе. Внутримышечное введение приводило к более высокой активности ферментов — до разницы с контролем 56-120 % ( $p < 0,05$ ).

Пероральное поступление наночастиц меди в большей степени снижало количество Са по сравнению с внутримышечным. С возрастом содержание Са в крови увеличивалось, приближаясь к контрольным значениям. Известно, что избыточное поступление меди может тормозить абсорбцию железа (22). В наших опытах максимальную концентрацию железа в сыворотке крови наблюдали у 28-суточных цыплят, которым вводили Cu НЧ в высокой дозе (2 мг/кг). Время от инъекции до убоя (2 нед) обеспечивало пролонгированное высвобождение меди в кровеносное русло. В возрасте 42 сут бройлеры из этой группы сохраняли превосходство по содержанию железа, однако его количество по сравнению с таковым в возрасте 28 сут уменьшалось. У 28-суточных цыплят, получавших Cu НЧ с кормом, эти показатели были ниже контрольных значений (на 25 и 42 % соответственно в I и II группах).

Мы отмечали снижение количества жира у цыплят из опытных групп — например, на 4,5 % ( $p < 0,05$ ) в I группе, которое происходило на фоне увеличения содержания протеина (на 1,8 %,  $p < 0,05$ ) (табл. 4).

#### 4. Химический состав тканей у бройлеров кросса Смена 7, получавших наночастицы Cu ( $M \pm m$ , $n = 15$ , опыт в условиях вивария)

Показатель	K <sub>1</sub>	I группа	IV группа
Сухое вещество (СВ)	41,6±0,53	37,3±0,45 <sup>ab</sup>	40,7±0,82 <sup>b</sup>
Протеин	16,2±0,67	18,0±0,16 <sup>ab</sup>	16,8±0,32 <sup>b</sup>
Жир	22,6±1,50	18,1±1,32 <sup>a</sup>	21,0±1,74
Зола	2,2±0,07	2,4±0,08 <sup>a</sup>	2,7±0,09
Энергия, МДж/кг СВ	25,7±0,92	30,9±0,67	31,4±1,52

Примечание. I группа — основной рацион (ОР) без CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O с добавкой Cu НЧ 1,7 мг/кг; IV группа — ОР без CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O с введением Cu НЧ в дозе 0,2 мг/кг; K<sub>1</sub> — ОР; <sup>a</sup> — различия с K<sub>1</sub> достоверны при  $p < 0,05$ , <sup>b</sup> — различия между I и IV группами достоверны при  $p < 0,05$ .

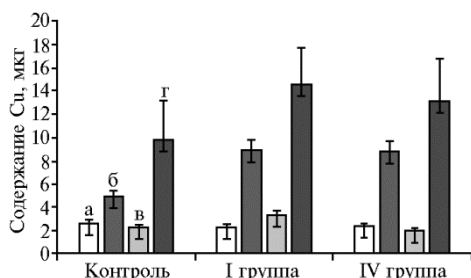


Рис. 2. Пул Cu в органах и тканях 42-суточных цыплят-бройлеров кросса Смена 7 при поступлении наночастиц Cu перорально (I группа, 1,7 мг/кг корма) и внутримышечно (IV группа, 0,2 мг/кг живой массы): а — мышцы, б — внутренние органы, в — кожа, г — всего (контроль — K<sub>1</sub>, основной рацион;  $M \pm m$ ,  $n = 30$ , опыт в условиях вивария).

При исследовании накопления Cu в биосубстратах мы выявили межгрупповую динамику только для внутренних органов (рис. 2). В коже и мышцах различия были несущественными, а содержание меди относительно постоянным. Определяющую роль в этом сыграл способ, кратность применения и доза наночастиц. При ежедневном хроническом поступлении содержание меди было стабильным в течение всего эксперимента, чего не наблюдали при 2-кратном внутримышечном введении. Увеличение пула меди в организме при использовании наночастиц этого металла ранее отмечали другие исследователи (23).

Расчет биодоступности Cu из сравниваемых добавок показал, что при поступлении меди с кормами в организм цыплят группы K<sub>1</sub> 28,08 мг/гол (в том числе 4,05 мг с сульфатом меди) аналогичная величина в I группе составила 30,56 мг/гол (в том числе 4,13 мг с наночастицами). С учетом того, что коэффициент трансформации Cu из основного рациона, лишенного CuSO<sub>4</sub> (группа K<sub>2</sub>), равнялся 32,5 %, «видимая» биодоступность Cu из минеральных добавок для сульфата меди характеризовалась значением 46,1 %, для препарата Cu НЧ при поступлении с кормом — достигала 71,0 %.

Таким образом, эффективность препаратов меди как микроэлемента зависит от их формы. Для наночастиц Cu оптимальным при выращи-

вании цыплят-бройлеров оказалось добавление к рациону в дозе 1,7 мг/кг корма и внутримышечное введение в дозе 0,2 мг/кг живой массы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Фисинин В.И., Егоров И.А. Современные подходы к кормлению высокопродуктивной птицы. Птица и птицеводство, 2015, 3: 27-29.
2. Нотова С.В., Мирошников С.А., Болодурина И.П., Дидикина Е.В. Необходимость учета региональных особенностей в моделировании процессов межэлементных взаимодействий в организме человека. Вестник Оренбургского государственного университета, 2006, 2: 59-63.
3. Мирошников С.А., Бурцева Т.И., Голубкина Н.А., Нотова С.В., Скальный А.В., Бурлуцкая О.И. Гигиеническая оценка селенового статуса Оренбургского региона. Вестник Оренбургского государственного университета, 2008, 12: 97.
4. Соколова О.Я., Мирошников С.А., Дроздова Е.А., Холодилина Т.Н. Значение экструдированных кормов в регулировании обмена условно токсичных и эссенциальных микроэлементов в организме кур-несушек. Вестник Оренбургского государственного университета, 2006, 12(62-2): 230-232.
5. Быков А.В., Мирошников С.А., Межуева Л.В. К пониманию действия кавитационной обработки на свойства отходов производств. Вестник Оренбургского государственного университета, 2009, 12: 77-80.
6. Мирошников С.А., Муслюмова Д.М., Быков А.В., Рахматуллин Ш.Г., Быкова Л.А. Новые подходы к созданию кормовых продуктов на основе поликомпонентных растительно-минеральных смесей, подвергнутых кавитационной обработке. Вестник мясного скотоводства, 2012, 3(77): 7-11.
7. Альберт А. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии (пер. с англ.). М., 1989. Т. 2.
8. Sizova E., Miroshnikov S., Yausheva E., Polyakova V. Assessment of morphological and functional changes in organs of rats after intramuscular introduction of iron nanoparticles and their agglomerates. BioMed Research International, 2015, 2015: Article ID 243173 (doi: 10.1155/2015/243173).
9. Sizova E., Yausheva E., Miroshnikov S., Lebedev S., Duskaev G. Element status in rats at intramuscular injection of iron nanoparticles. Biosci. Biotechnol. Res. Asia, 2015, 12: 119-127 (doi: 10.13005/bbra/2018).
10. Sizova E., Miroshnikov S., Yausheva E., Kosyan D. Comparative characteristic of toxicity of nanoparticles using the test of bacterial bioluminescence. Biosci. Biotechnol. Res. Asia, 2015, 12: 361-368 (doi: 10.13005/bbra/2211).
11. Patel D., Kell A., Simard B., Deng J., Xiang B., Lin H.Y., Gruwel M., Tian G. Cu<sup>2+</sup>-labeled, SPION loaded porous silica nanoparticles for cell labeling and multifunctional imaging probes. Biomaterials, 2010, 31(10): 2866-2873 (doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.12.025).
12. Ruparelia J.P., Chatterjee A.K., Duttagupta S.P., Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomaterialia, 2008, 4: 707-716 (doi: 10.1016/j.actbio.2007.11.006).
13. Богословская О.А., Сизова Е.А., Полякова В.С., Мирошников С.А., Лейпунский И.О., Ольховская И.П., Глущенко Н.Н. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организмы животных. Вестник Оренбургского государственного университета, 2009, 2: 124-127.
14. Никонов И.Н., Фолманис Ю.Г., Фолманис Г.Э., Коваленко Л.В., Лаптев Г.Ю., Егоров И.А., Фисинин В.И., Тананаев И.Г. Наноразмерное железо — кормовая добавка для сельскохозяйственной птицы. Доклады академии наук, 2011, 440(4): 565-569.
15. Miroshnikova E.P., Arinzhanov A., Kilyakova Y., Sizova E.A., Miroshnikov S.A. Antagonism metal alloy nanoparticles of iron and cobalt: impact on trace element metabolism in carp and chicken. Hum. Vet. Med., 2015, 7(4): 253-259.
16. Жигач А.Н., Лейпунский И.О., Кусков М.Л., Стоенко Н.И., Сторожев В.Б. Установка для получения и исследования физико-химических свойств наночастиц металлов. Приборы и техника эксперимента, 2000, 6: 122-127.
17. Фисинин В.И., Егоров И.А., Ленкова Т.Н., Околелова Т.М., Игнатова Г.В., Шевяков А.Н., Егорова Т.В., Андрианова Е.Н., Егорова Т.А., Панин И.Г., Гречишников В.В., Панин А.И., Сергачев П.А., Рясной П.В., Афанасьев В.А. Методические указания по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы. М., 2009.
18. Фисинин В.И., Егоров И.А., Околелова Т.М. Научные основы кормления сельскохозяйственной птицы. Сергиев Посад, 2008.
19. Вишняков А.И., Ушаков А.С., Лебедев С.В. Особенности костномозгового кровотока при введении наночастиц меди per os и intramuscularly. Вестник мясного



- скотоводства, 2011, 2(54): 96-102.
20. Гофман Э. Динамическая биохимия. М., 1971.
  21. Торшков А.А. Изменение биохимических показателей крови бройлеров при использовании арабиногалактана. Фундаментальные исследования, 2011, 9(3): 583-587.
  22. Скальный А.В., Рудаков И.А. Биоэлементы в медицине. М., 2004.
  23. Cuillel M., Chevallet M., Charbonnier P., Fauquant C., Pignot-Paintrand I., Arnaud J., Cassio D., Michaud-Soret I., Mintz E. Interference of CuO nanoparticles with metal homeostasis in hepatocytes under sub-toxic conditions. *Nanoscale*, 2014, 6(3): 1707-1715 (doi: 10.1039/c3nr05041f).

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский НИИ мясного скотоводства,  
460000 Россия, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29,  
e-mail: sizova-178@ya.ru, vniims.or@mail.ru;

Потупила в редакцию  
11 июля 2016 года

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Оренбургский государственный университет,  
460018 Россия, г. Оренбург, просп. Победы, 13;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Оренбургский государственный  
аграрный университет,  
460014 Россия, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2016, V. 51, № 6, pp. 903-911

## MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS IN BROILERS AT CORRECTION WITH DIETARY COPPER SALTS AND NANOPARTICLES

E.A. Sizova<sup>1, 2</sup>, V.L. Korolev<sup>1</sup>, Sh.A. Makaev<sup>1</sup>, E.P. Miroshnikova<sup>2</sup>, V.A. Shakhov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Research Institute of Beef Cattle Breeding, Federal Agency of Scientific Organizations, 29, ul. 9 Yanvarya, Orenburg, 460000 Russia, e-mail sizova-178@ya.ru, vniims.or@mail.ru;

<sup>2</sup>Orenburg State University, 13, prosp. Pobedy, Orenburg, 460018 Russia;

<sup>3</sup>Orenburg State Agrarian University, 18, ul. Chelyuskintsev, Orenburg, 460014 Russia  
(ORCID: Sizova E.A. orcid.org/0000-0002-5125-5981)

Acknowledgements:

Chemical analysis was performed in the Laboratory of Agroecology of Nanomaterials and Test Center of All-Russian Research Institute of Beef Cattle Breeding (accreditation certificate RA. RU.21PF59 of 12/02/15). Chemical analysis was performed in the laboratory of ANO Center for Biotic Medicine, Moscow (accreditation certificate GSEN.RU.TSAO.311, registration number in the State Register ROSS RU. 0001.513118)

Supported by Russian Science Foundation (project № 14-36-00023)

Received July 11, 2016

doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.903eng

### Abstract

Diets of modern crosses and breeds of farm animals require mandatory correction of mineral nutrition. Ionic forms commonly used for correction are characterized by low bioavailability, prooxidant effect, and high toxicity in vivo. That is why low-toxic sources of essential chemical elements are of particular interest, including nanocrystalline metals. We firstly assessed the efficient of nanosized copper on the model of broiler chickens. A comparative study of productive and biological effects of copper nanoparticles (CuNPs) and copper sulfate was carried out on Smena 7 chickens of 14-42 days of age using different administration methods. Hematologic and biochemical parameters and elemental composition of tissues were assessed. We revealed an increase in red blood cells and hemoglobin and decrease of platelets at the highest doses of Cu NPs administrated orally or intramuscularly. The biochemical blood parameters assessed indicated an enhancement of plastic processes in the body and, as a consequence, an increase in the growth rate under Cu NPs administration. The difference of the total protein compared to the control (33.6 %,  $p < 0.05$ ) was the highest when Cu NPs injected at a dose of 2 mg/kg which increased the supply of protein synthesis. The albumin level was higher in 28-day old chicks injected with Cu NPs (2 and 0.2 mg/kg). A replacement of dietary CuSO<sub>4</sub> with dietary Cu NPs led to an increase in the growth rate. When Cu NPs fed, the found biochemical parameters indicated strengthening of energy and synthetic processes in the body, and therefore, an increase in the poultry growth. At 1.7 mg/kg of dietary Cu NPs the gained weight was 13.5-23.8 % ( $p < 0.01$  to  $p < 0.001$ ) more as compared to the control. Dietary Cu NPs at 0.7 mg/kg was not enough to highly stimulate the poultry growth and resulted in the weight gain which was lower than in the poultry fed with Cu NPs at 1.7 mg/kg but higher (by 8.5-18.4 %,  $p < 0.01$  to  $p < 0.01$ ) as compared to the poultry not fed with Cu NPs. Thus, the promoting effect depends on the form of copper source. The Cu NPs effectiveness under enteral administration at 1.7 mg/kg or intramuscular double injections at 0.2 mg/kg was superior to that of dietary copper sulfate.

Keywords: nanoparticles, cooper, broiler chicks, growth intensity, chemical elements, blood, biochemical and morphological parameters.