



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet11220

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.09:577.773.42:661.847-022.532]:001.891.53

Acute toxicity of zinc carbonate nanocrystals on white mice model

V. I. Koshevoy¹✉, S. V. Naumenko¹, O. L. Orobchenko², I. I. Bespalova³

¹State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

²National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine” of NAAS, Kharkiv, Ukraine

³Institute of Scintillation Materials of NAS of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Article info

Received 15.09.2023

Received in revised form

16.10.2023

Accepted 17.10.2023

State Biotechnological University,
Kharkiv, Alchevskykh Str., 44,
61002, Ukraine.

Tel.: +38-063-075-75-40

E-mail:

vsevolod_koshevoy@yahoo.com

National Scientific Center
Institute of Experimental and
Clinical Veterinary Medicine,
Pushkinska Str., 83, Kharkiv,
61023, Ukraine.

Institute of Scintillation Materials
of NAS of Ukraine, Nauky ave. 60,
Kharkiv, 61072, Ukraine.

Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., Orobchenko, O. L., & Bespalova, I. I. (2023). Acute toxicity of zinc carbonate nanocrystals on white mice model. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 25(112), 123–130. doi: 10.32718/nvlvet11220

Zinc-based nanoparticles (NPs) are successfully used to meet the mineral needs of animals and poultry, capable of increasing the growth rate and the efficiency of their use of feed. Nanoparticles of zinc oxide are widely used, which are superior to conventional sources of zinc in terms of pharmacological activity and bioavailability, have a positive effect on productivity and antioxidant protection, and increase reproductive potential. However, a detailed investigation of their toxicological parameters showed the risks of their introduction into the body, as a result of which a large number of zinc oxide NPs were synthesized by the methods of “green chemistry”, the main drawback of which is a complex methodology and a high level of costs. We investigated the acute toxicity of a colloidal solution of zinc carbonate nanocrystals in a model of white mice. The experiment was conducted on 42 female non-linear white mice, 3–4 months old, with a live weight of 21–23 g, kept under optimal vivarium conditions. According to the principle of analogues, 6 experimental groups were formed: mice were injected with a colloidal solution of zinc carbonate nanoparticles in doses (by absolute weight of the drug) of 15,000.0; 20000.0; 25000.0; 30000; 35000.0 and 40000.0 mg/kg of body weight based on the absolute weight of the drug, which according to the active substance (zinc carbonate nanoparticles) was (37.5; 50.0; 62.5; 75.0; 87.5 and 100, 0 mg/kg of body weight), orally using an esophageal-gastric tube. Mice of the control group were injected with distilled water in a volume of 0.2 cm³ according to the same protocol. The clinical condition of the experimental animals was observed for 14 days, noting the appearance and development of clinical signs of poisoning, the time of death or recovery to the physiological norm. After the death (diagnostic slaughter) of the animals, a pathological autopsy was performed. Clinical observations showed that a single intragastric administration of the drug to mice of experimental groups 1-6 did not cause acute poisoning. The deaths of mice in all experimental groups were not observed during the 14-day observation period, as a result of which the LD₅₀ indicator could not be calculated. At the same time, the maximum possible injected dose of the colloidal solution of zinc carbonate nanoparticles (by absolute weight) was 40,000.0 mg/kg of body weight (100.0 mg/kg by active substance), which allows the drug to be assigned to the VI class of toxicity – substances are relatively harmless (LD₅₀ > 15000.0 mg/kg of body weight), and according to the degree of danger up to IV class – low-hazardous substances (LD₅₀ > 5000.0 mg/kg of body weight).

Key words: nanoparticles, zinc, toxicity, white mice.

Гостра токсичність нанокристалів цинку карбонату на моделі білих мишей

В. І. Кошевой¹✉, С. В. Науменко¹, О. Л. Оробченко², І. І. Беспалова³

¹Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

²ННЦ “Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини” НААН, м. Харків, Україна

³Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, м. Харків, Україна

Наночастинки (НЧ) на основі Цинку успішно використовуються для задоволення потреб тварин і птиці у мінеральних речовинах, здатні підвищувати швидкість росту та ефективність використання ними корму. Широко застосованими є наночастинки цинку оксиду, які переважають звичайні джерела цинку за фармакологічною активністю й біодоступністю, позитивно впливають на продуктивність і антиоксидантний захист, підвищують репродуктивний потенціал. Проте детальне з'ясування їх токсикологічних параметрів показало ризики їх введення в організм, внаслідок чого було синтезовано велику кількість НЧ оксиду цинку методами "зеленої хімії", основним недоліком яких є складна методика та високий рівень витрат. Нами було досліджено гостру токсичність колоїдного розчину нанокристалів цинку карбонату на моделі білих мишей. Експеримент було проведено на 42 самках нелінійних білих мишей 3–4-місячного віку, живою масою 21–23 г, що утримувались за оптимальних умов віварію. За принципом аналогів було сформовано 6 дослідних груп: мишам вводили колоїдний розчин наночастинок карбонату цинку в дозах (за абсолютною масою препарату) 15000,0; 20000,0; 25000,0; 30000; 35000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату, що за діючою речовиною (наночастинками карбонату цинку) становило (37,5; 50,0; 62,5; 75,0; 87,5 і 100,0 мг/кг маси тіла), перорально за допомогою стравохідно-шлункового зонду. Мишам контрольної групи за аналогічним регламентом вводили дистильовану воду в об'ємі 0,2 см³. За клінічним станом дослідних тварин спостерігали упродовж 14 діб, відмічаючи появу та розвиток клінічних ознак отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Після загибелі (діагностичного забою) тварин проводили патологоанатомічний розтин. Клінічні спостереження показали, що одноразове внутрішньошлункове введення препарату мишам дослідних груп 1–6 не викликало картини гострого отруєння. Загибелі мишей у всіх дослідних групах не спостерігали протягом 14-добового терміну спостереження, внаслідок чого показник LD₅₀ розрахувати не вдалося. При цьому максимально можлива введена доза колоїдного розчину наночастинок карбонату цинку (за абсолютною масою) становила 40000,0 мг/кг маси тіла (100,0 мг/кг за діючою речовиною), що дозволяє віднести препарат до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливі (LD₅₀ > 15000,0 мг/кг маси тіла), а за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин (LD₅₀ > 5000,0 мг/кг маси тіла).

Ключові слова: наночастинки, цинк, токсичність, білі миші.

Вступ

Цинк – есенціальний мікроелемент, життєво важливий для метаболічних функцій, росту та покращення роботи залоз тварин і птиці, що є кофактором активності до 300 різних ензимів та відіграє важливу роль у транскрипції генів і поділі клітин, багатьох інших процесах (Naumenko et al., 2023). Відомо, що на задоволення потреб птиці в Цинку, кількість даного мікроелементу у раціоні повинна бути майже в 20-30 разів більшою, ніж у тварин, виходячи з низького рівня його засвоюваності. Крім того, вплив теплового стресу може збільшувати потребу у Цинку та впливати на баланс між іншими мікроелементами в організмі птиці, знизити засвоєння вітамінів і поживних речовин (Abdel-Wareth et al., 2022; Dosoky et al., 2022).

Наночастинки (НЧ) металів, в тому числі Цинку, можна успішно використовувати для задоволення потреб у мінеральних речовинах тварин і птиці, вони здатні підвищувати швидкість росту та використання ними корму (Mahmoud et al., 2021). Відомо, що наночастинки цинку оксиду (ZnO-NPs) переважають звичайні джерела цинку за фармакологічною активністю й біодоступністю, позитивно впливають на продуктивність і антиоксидантний захист, підвищують репродуктивний потенціал, проте потребують детального з'ясування токсикологічних параметрів (Khodaei-Motlagh et al., 2022). Johnson et al. (2015) довели, що вивільнення Zn²⁺ з ZnO-NPs запускає синтез надмірної кількості внутрішньоклітинних АФО, що призводить до аутофагічної загибелі імунних клітин і підтверджує їх потенційний вплив на імунітет тварин. Крім того, результати свідчать про те, що ZnO-NPs можна використовувати як ефективний фунгіцид (Patra et al., 2012).

Останнім часом застосування НЧ металів для корекції мікроелементозів тварин набуває поширеного впровадження головною умовою якого стала комплексна оцінка їх токсикологічних властивостей з метою відвернення негативного впливу на організм і його функції (Koshevoy & Naumenko, 2023). Переважна більшість даних щодо токсичності НЧ на основі Цин-

ку білим мишам як біогенного елементу, що має важливе значення в організмі тварин і людини стосується ZnO-NPs, серед яких основні параметри токсичності ZnO-NPs було визначено з використанням систем *in vitro*, у яких відсутні складні взаємодії клітина-клітина, клітина-матрикс та гормональні ефекти, що можливо визначити *in vivo* (Sharma et al., 2012; Haberl et al., 2015).

За різних способів введення відзначають різноманітні токсичні впливи, що обумовлені дозуванням, форм-фактором і розміром НЧ. Пероральне введення ZnO-NPs викликає зменшення маси тіла тварин, але приводить до збільшення його концентрації в сироватці крові, печінці та нирках, підвищує активність трансаміназ, однак не виявляє впливу на кишкову мікробіоту та вміст Феруму, Купруму і Мангану у нирках, печінці, м'язах стегна (Wang et al., 2017a). ZnO-NPs за перорального введення абсорбувалися в кровообіг, після чого їх біорозподіл відбувався в печінці, селезінці та нирках, тоді як за внутрішньочеревного введення вони залишалися у сироватці крові протягом 72 годин і накопичувалися у тканинах серця, легенів і сім'яників. Кліренс ZnO-NPs у сироватці крові починався через 6 годин після перорального введення та порівняно з мікрочастинками оксиду цинку наноформа демонструвала набагато вищу поглинальну здатність і біорозподіл у тканинах при внутрішньошлунковому введенні (Li et al., 2012).

Значне накопичення наночастинок у печінці може призводити до пошкодження клітин за перорального впливу ZnO-NPs (300 мг/кг). Було також виявлено, що ZnO-NPs викликають окислювальний стрес, про який свідчить збільшення перекисного окислення ліпідів (Sharma et al., 2012). У дозі 500 мг/кг ж. м. відзначали розвиток оксидативного стресу та значне підвищення рівня дофаміну та норадреналіну в корі головного мозку, що свідчить про нейротоксичний потенціал цих наночастинок. Ці зміни також підтверджувалися інгібуванням цинк- і купрумзалежної супероксиддисмутази, що вважаються важливими біомаркерами окисного стресу (Shrivastava et al., 2014).

За гострого інтратрахеального введення Wang et al. (2017b) спостерігали втрату маси тіла мишей, розвиток запального процесу і гіперпластичних змін в легенях, накопичення Нітрогену оксиду та малонового діальдегіду (МДА) в гомогенатах легень, тощо. Використання значно меншої дози сприяло подібним змінам – відмічали підвищення рівня МДА в легенях і зниження загальної антиоксидантної здатності (3-АОА) через 6 годин, а також підвищення активності лактатдегідрогенази в рідині бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ) через 1 день після введення. Прояв запального процесу спостерігали через 3 і 7 днів, про що свідчило збільшення кількості лейкоцитів і концентрації загального білка в рідині БАЛ, а також гістологічні аномалії легень (Guo et al., 2022). Також встановлено збільшення рівня мРНК амілоїду А3 у сироватці крові, як маркеру гострої фази відповіді, на 1-й день дослідження та генотоксичну дію (Hadrup et al., 2019). Загалом, слід відмітити високу дозозалежну інгаляційну токсичність (токсичні явища за введення ≥ 6 мкг ($\geq 0,3$ мг/кг), випадки смертності – 25-100 мкг ($\geq 1,4$ мг/кг) (Jacobsen et al., 2015).

У підгострому експерименті підвищена концентрація Zn^{2+} була виявлена в рідині БАЛ відразу після впливу, встановлено, що ZnO-NPs легко розчинялися в лізосомальній рідині (рН 4,5), але утворювали агрегати та преципітати в інтерстиціальній (рН 7,4), відмічали збільшення макрофагів у рідині БАЛ і помірне збільшення IL-12(p40) і MIP-1 α , але інших запальних або токсичних реакцій не спостерігалося (Adamcakova-Dodd et al., 2014). Jiang et al. (2018) виявили порушення окисно-відновного гомеостазу (зниження співвідношення глутатіону до дисульфіді глутатіону, підвищення гемоксигенази-1 і супероксиддисмутази), зниження синтезу аденозинтрифосфату та вивільнення іонів цинку в легеневиx тканинах. Більшість дослідників (Chen et al., 2015) вказували, що токсикологічні механізми, що лежать в основі гострого впливу на легені полягають у фаголізосомальному розчиненні ZnO-NPs в макрофагах з наступним вивільненням іонів Zn^{2+} , натомість, Larsen et al. (2020) встановили що інгаляційна токсичність даних НЧ пов'язана з взаємодією ZnO-NPs з шаром легеневого сурфактанту, що покриває внутрішню частину альвеол, незалежно від розчинення їх у макрофагах. З іншого боку, враховуючи токсичну дію частинок ZnO-NPs після вдихання, додаткові ефекти на пошкоджені легені миші, які характеризуються дисфункцією альвеолярно-капілярних бар'єрів, залишаються неохарактеризованими (Wang et al., 2020).

У субтоксичних дозах ZnO-NPs можуть стимулювати сильну запальну та антиоксидантну відповідь у епітеліальних клітинах легень людини. Цитотоксичність, опосередкована ZnO-NPs, може бути наслідком відмови клітинного окисно-відновного механізму стимулювати надмірне утворення АФО. Крім того, вплив одноразової, але відносно високої дози ZnO-NPs шляхом інтраназального введення може спрово-

кувати гострі легеневі запальні реакції *in vivo* у мишей (Saptarshi et al., 2015).

За внутрішньоочеревиного введення ZnO-NPs викликали значні зміни в гематологічних і біохімічних параметрах з більш високою токсичністю через 10 днів, тоді як гістопатологічні ураження спостерігалися в печінці, нирках, селезінці, серці та мозку мишей (Ogunsuyi et al., 2022). Також занепокоєння викликає наявність негативного впливу ZnO-NPs на статеві гормони, що посилювали апоптоз і викликали стероїдогенний ефект у клітинах Лейдіга та збільшували утворення аутофагічної вакуолі, можливо, через зміну активності антиоксидантного ферменту в тестикулярних клітинах миші (Bara & Kaul, 2018). Проаналізувавши значну кількість наукових джерел можна дійти висновку, що основою токсичного впливу НЧ на основі Цинку є дозування (табл. 1).

З даних таблиці 1 видно, що НЧ Цинку синтезовані новітніми технологіями, наприклад, з дотриманням вимог “зеленої хімії” майже не володіють токсичною дією на відміну від поширених у біомедичних дослідженнях ZnO-NPs.

Так, для зменшення токсичного впливу ZnO-NPs останнім часом розроблені нові підходи до його отримання (метод “зеленого синтезу”) або створення нанополук біологічного походження (наноконкомпозит із гідролізаців анчоусів та НЧ оксиду цинку (НАНр(3.0)/ZnO-NPs). Останній у добовій дозі до 1,0 г/кг сприяв збільшенню кількості пропіонової та масляної кислот, що вказує на наявність протизапальної активності даного наноконкомпозиту, крім того, деякі позитивні реакції в печінці мишей, такі як підвищення глутатіону та зниження вмісту МДА, вказували на покращений окислювальний статус (Song et al., 2018).

НЧ цинку отримані методом “зеленого синтезу” (Zn-NPs-GS) за перорального введення характеризувалися низькою токсичністю – значення LD₅₀ вище 5000,0 мг/кг вказує на те, що біогенні наночастинки цинку можна класифікувати як нетоксичні хімічні речовини. Крім того, не було отримано вірогідних змін маркерів гематологічного та оксидативного стресу, гістопатологічних змін. Зауважимо, що розподіл Zn-NPs-GS відбувався, головним чином, в сім'яниках, печінці і головному мозку (Salimi et al., 2019).

Іншим способом, який дозволяє отримати низькотоксичні ZnO-NPs є синтез за допомогою полімеру поліакриламідної гуарової смоли (PAm-g-GG) у лужному середовищі. Отримані таким чином НЧ оксиду цинку (PAm-ZnO-NPs) сприяли зменшенню токсичності шляхом зміни поверхневих реакційних властивостей внаслідок чого, опосередковане гострою фазою запалення через ультраструктурне пошкодження тканини, яке може супроводжувати прогресування анемії було блоковано (Srivastav et al., 2019). З огляду на вищенаведене, актуальним питанням залишається спрямований синтез НЧ на основі Цинку за розроблення високоєфективних нанопрепаратів для корекції мікроелементозів та підвищення продуктивності тварин і птиці.

Таблиця 1

Дозозалежні параметри токсичності НЧ на основі Цинку на моделі білих мишей

Спосіб введення	Вид НЧ	Дозування	Отримані результати	Джерело
Внутрішньошлунково	ZnO-NPs	250 мг/кг	зменшення маси тіла, збільшення концентрації Zn в сироватці крові, печінці і нирках	Wang et al. (2017a)
		300 мг/кг	кумуляція у печінці, пошкодження ДНК та апоптоз опосередковані оксидативним стресом	Sharma et al. (2012)
		500 мг/кг	окислювальний стрес в еритроцитах, печінці та мозку, про що свідчить підвищений рівень АФО і змінена активність антиоксидантних ферментів	Shrivastava et al. (2014)
		2500 мг/кг	накопичення в печінці, селезінці та нирках	Li et al. (2012)
	Zn-NPs-GS	1000 мг/кг	відсутність токсичного впливу	Salimi et al. (2019)
	НАНр(3.0)/ZnO-NPs	1000 мг/кг	протизапальна активність, антиоксидантна дія, відсутність токсичного впливу	Song et al. (2018)
	PAm-ZnO-NPs	10–300 мг/кг	зниження токсичності шляхом зміни поверхневих реакційних властивостей	Srivastav et al. (2019)
Інтратрахеально	ZnO-NPs	200–800 мкг/кг	запальні зміни в легенях, інтенсифікація ВРО	Wang et al. (2017b)
		3.5 мг/м ³	відсутність запальних або токсичних реакцій, накопичення Zn ²⁺ у БАЛ	Adamcakova-Dodd et al. (2014)
		20 мкг/тв.	збільшення ПОЛ за зниження 3-АОА, гістологічні зміни	Guo et al. (2022)
		11–100 мкг/кг	генотоксична дія, збільшення рівня мРНК амілоїду А3	Hadrup et al. (2019)
		25–100 мкг (≥1,4 мг/кг) 50 мкг (2,7 мг/кг) ≥6 мкг (≥0,3 мг/кг)	дозозалежна смертність фібротичні зміни легень	Jacobsen et al. (2015)
Внутрішньоочеревинно	ZnO-NPs	10–150 мг/кг	зміни в гематологічних і біохімічних параметрах, гістопатологічні ураження в печінці, нирках, селезінці, серці та мозку	Ogunsuyi et al. (2022)

Мета дослідження

Отже, метою роботи було визначення параметрів гострої токсичності колоїдного розчину наночастинок цинку карбонату на моделі білих мишей.

Матеріал і методи досліджень

Експериментальні дослідження виконані в рамках договорів про науково-практичну співпрацю між Державним біотехнологічним університетом МОН України, Інститутом сцинтиляційних матеріалів НАН України та Національним науковим центром “Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини” НААНУ.

НЧ, використані в експерименті синтезовано у відділі наноструктурних матеріалів імені Ю. В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАНУ. Приготування колоїдного розчину НЧ цинку карбонату включало змішування розчинів ацетату цинку Zn(Ас)₂ і цитрату натрію Na₃Cit у мольному співвідношенні 1:0,75, додавання карбонату натрію Na₂CO₃ у стехіометричному співвідношенні до Zn(Ас)₂ при інтенсивному перемішуванні, нагрівання отриманої

суміші до 80–85 °С та витримування її при цій температурі і постійному перемішуванні впродовж 40–50 хвилин, проведення діалізу отриманого колоїдного розчину до значення рН 7,4–7,8 та його стабілізації розчином 0,6–6 мас.% полівінілпіролідону. Колоїдний розчин НЧ цинку карбонату мав вихідну концентрацію 2,5 г/дм³.

Експеримент було проведено в лабораторії токсикологічного моніторингу ННЦ “Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини” на 42 самках нелінійних білих мишей 3–4-місячного віку, живою масою 21–23 г, що утримувались за оптимальних умов віварію: температура у приміщенні складала 18,0 ± 2,0 °С, відносна вологість повітря 60–70 %, цикл освітлення день-ніч, упродовж експерименту, складав 10-14 год, а також було забезпечено 10-ти разову зміну об’єму повітря в кімнаті віварію за годину. Для годівлі мишей використовували повнораціонний комбікорм для гризунів. Тварини мали вільний доступ до води та корму.

Перед початком досліджень кожен тварину зважували. Дози, що вводили, розраховували індивідуально, відповідно до маси кожної миші, при цьому об’єм колоїдного розчину наночастинок карбонату цинку,

що вводили внутрішньошлунково не перевищував 1,0 см³.

За принципом аналогів було сформовано 6 дослідних груп: мишам вводили колоїдний розчин наночастинок карбонату цинку в дозах (за абсолютною масою препарату) 15000,0; 20000,0; 25000,0; 30000; 35000,0 і 40000,0 мг/кг маси тіла за абсолютною масою препарату, що за діючою речовиною (наночастинками карбонату цинку) становило (37,5; 50,0; 62,5; 75,0; 87,5 і 100,0 мг/кг маси тіла), перорально за допомогою стравохідно-шлункового зонду. Мишам контрольної групи за аналогічним регламентом вводили дистильовану воду в об'ємі 0,2 см³. У кожній групі (як дослідних, так і контрольній) було по 6 мишей (n = 6). Загальний термін дослідження склав 14 діб. Доза 40000,0 мг/кг маси тіла була лімітуючою, виходячи з фізіологічного об'єму шлунку мишей.

Слід зазначити, що маніпуляції над мишами здійснювали відповідно до існуючих нормативних документів, що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотриманням принципів “Європейської конвенції про захист хребтних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 1986).

За клінічним станом дослідних тварин спостерігали упродовж 14 діб, відмічаючи появу та розвиток клінічних ознак отруєння, строки загибелі або відновлення до фізіологічної норми. Під час клінічного обстеження мишей звертали увагу на поведінку, реакцію на зовнішні подразники, наявність апетиту, стан шкі-

ри, колір слизових оболонок, частоту дихання та дефекації, зміни кольору та консистенції фекалій тощо.

Після загибелі (діагностичного забою) тварин проводили патологоанатомічний розтин. Для встановлення патологоанатомічних змін використовували макроскопічний метод досліджень. Патологоанатомічний розтин виконували за наступною схемою:

– на першому етапі проводили зовнішній огляд, звертаючи увагу на стан шерстного покриву і слизових оболонок;

– на другому – виконували розтин та огляд порожнин тіла та внутрішніх органів, таких як глотка, трахея, гортань, серце, легені, печінка, селезінка, нирки, шлунок, кишечник звертаючи увагу на зміни кольору, консистенції, малюнку та форми органів (Kotsiumbas, 2005).

Результати та їх обговорення

У досліді мишам внутрішньошлунково вводили колоїдний розчин наночастинок карбонату цинку у дозах 15000,0–40000,0 мг/кг маси тіла. Клінічні спостереження показали, що одноразове внутрішньошлункове введення препарату мишам дослідних груп 1–6 не викликало картини гострого отруєння. Миші були рухливі, добре реагували на зовнішні подразники, активно споживали корм та воду. Загибелі мишей у всіх дослідних групах не спостерігали протягом 14-добового терміну спостереження (табл. 2).

Таблиця 2

Результати дослідження гострої токсичності нанокристалів цинку карбонату за внутрішньошлункового введення білим мишам.

Показники	Групи щурів:						
	контрольна	дослідна 1	дослідна 2	дослідна 3	дослідна 4	дослідна 5	дослідна 6
<i>Дозування на групу:</i>							
за абсолютною масою препарату, мг/кг	–	15000	20000	25000	30000	35000	40000
за діючою речовиною (НЧ), мг/кг	–	37,5	50,0	62,5	75,0	87,5	100,0
<i>Загибель тварин:</i>							
загинуло, голів	0	0	0	0	0	0	0
вижило, голів	6	6	6	6	6	6	6

На 15-ту добу досліді проводили евтаназію мишей за допомогою хлороформного наркозу, а потім патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів лабораторних тварин перед розтином: колір шерстного покриву білий, блискучий, змін видимих слизових оболонок, витікання з ротової (носової) порожнини та ануса не відмічали.

На розтині у мишей I–III дослідних груп (відносно контрольної групи) не реєстрували змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу; у шлунку спостерігали залишки корму; гіперемії підшкірної клітковини не відмічали; серце не збільшене в об'ємі, конусоподібної форми, консистенція міокарду пружна; печінка коричневого кольору, пружної; консистенції, не збільшена в об'ємі; селезінка та підшлункова залоза – без змін; нирки коричне-

вого кольору, не збільшені в об'ємі; судини брижі тонкого кишечника не кровонаповнені, ознак запалення в шлунку, тонкому та товстому кишечнику не виявлено. У мишей IV–VI дослідних груп було виявлено здуття у товстому відділі кишечника.

Отже, за результатами токсикологічних досліджень колоїдного розчину наночастинок карбонату цинку показник LD₅₀ розрахувати не вдалося, оскільки загибелі лабораторних тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення. При цьому максимально можлива введена доза колоїдного розчину наночастинок карбонату цинку (за абсолютною масою) становила 40000,0 мг/кг маси тіла (100,0 мг/кг за діючою речовиною), що дозволяє віднести препарат до VI класу токсичності – речовини відносно нешкідливій (LD₅₀ > 15000,0 мг/кг маси тіла), а за ступенем

небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг маси тіла) (Kotsiumbas, 2005).

Подібними токсикологічними параметрами характеризуються й інші НЧ на основі Цинку. Так, ZnO-NPs розміром 50 нм за перорального введення показали LD_{50} 5177 мг/кг·м.т (Kong et al., 2018). Zn-NPs-GS розміром 30–80 нм у формі сфер також мали $LD_{50} > 5000,0$ мг/кг м.т., а їх NOAEL складала < 1 г/кг (Salimi et al., 2019). Аналогічні параметри NOAEL встановлено для НАНр(3.0)/ ZnO-NPs (Song et al., 2018). Також відомо, що біосумісні наногранули ZnO тести на гостру токсичність на швейцарських мишах-альбіносах не показали явної токсичності протягом 14 днів. Зазначимо, що дані наногранули утворювали комплекси 250–500 нм (Gopala Krishna et al., 2016). Натомість, дрібні ZnO-NPs (4 нм) з вираженими антибактеріальними властивостями *in vivo* також демонстрували низьку гостру токсичність ZnO у мишей (Bai et al., 2015).

Перспективи подальших досліджень. Експериментальні дані щодо відсутності токсичної дії колоїдного розчину наночастинок цинку карбонату за гострого перорального введення білим мишам дозволяють авторам даного дослідження означити наступні напрями роботи з даними наноматеріалами, а саме визначення їх токсикологічних параметрів у субхронічному токсикологічному експерименті з акцентом на їх вплив на показники обміну речовин, антиоксидантний статус тварин, оцінка токсикокінетики Цинку за введення даних НЧ та визначення їх безпечності та протизапальної активності альтернативними методами (Koshevoy et al., 2023; Tkachenko et al., 2023).

Висновки

Отримані дані свідчать про відсутність токсичного впливу наночастинок цинку карбонату в умовах гострого експерименту, а показник максимально можливої введеної дози дозволяє оцінити перспективи використання даних наночастинок для розроблення засобу корекції цинкового дефіциту у тварин і птиці та використання їх за підвищення репродуктивної здатності:

1. За результатами токсикологічних досліджень колоїдного розчину наночастинок карбонату цинку на моделі білих мишей загинуло тварин не було виявлено протягом 14-ти діб після введення, внаслідок чого показник LD_{50} розрахувати не вдалося.

2. За абсолютною масою максимально можлива введена доза становила 40000,0 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести препарат до VI класу токсичності – речовини порівняно нешкідливі ($LD_{50} > 15000,0$ мг/кг маси тіла).

3. Слід наголосити, що отримані дані дозволяють віднести наночастинки цинку карбонату за ступенем небезпечності до IV класу – малонебезпечних речовин ($LD_{50} > 5000,0$ мг/кг маси тіла).

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abdel-Wareth, A., Hussein, K., Ismail, Z., & Lohakare, J. (2022). Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on the Performance of Broiler Chickens Under Hot Climatic Conditions. *Biological trace element research*, 200(12), 5218–5225. DOI: 10.1007/s12011-022-03095-9.
- Adamcakova-Dodd, A., Stebounova, L. V., Kim, J. S., Vorink, S. U., Ault, A. P., O'Shaughnessy, P. T., Grassian, V. H., & Thorne, P. S. (2014). Toxicity assessment of zinc oxide nanoparticles using sub-acute and sub-chronic murine inhalation models. *Particle and fibre toxicology*, 11, 15. DOI: 10.1186/1743-8977-11-15.
- Bai, X., Li, L., Liu, H., Tan, L., Liu, T., & Meng, X. (2015). Solvothermal synthesis of ZnO nanoparticles and anti-infection application *in vivo*. *ACS applied materials & interfaces*, 7(2), 1308–1317. DOI: 10.1021/am507532p.
- Bara, N., & Kaul, G. (2018). Enhanced steroidogenic and altered antioxidant response by ZnO nanoparticles in mouse testis Leydig cells. *Toxicology and industrial health*, 34(8), 571–588. DOI: 10.1177/0748233718774220.
- Chen, J. K., Ho, C. C., Chang, H., Lin, J. F., Yang, C. S., Tsai, M. H., Tsai, H. T., & Lin, P. (2015). Particulate nature of inhaled zinc oxide nanoparticles determines systemic effects and mechanisms of pulmonary inflammation in mice. *Nanotoxicology*, 9(1), 43–53. DOI: 10.3109/17435390.2014.886740.
- Dosoky, W. M., Al-Banna, A. A., Zahran, S. M., Farag, S. A., Abdelsalam, N. R., & Khafaga, A. F. (2022). Zinc oxide nanoparticles induce dose-dependent toxicosis in broiler chickens reared in summer season. *Environmental science and pollution research international*, 29(36), 54088–54107. DOI: 10.1007/s11356-022-19156-4.
- Gopala Krishna, P., Paduvarahalli Ananthaswamy, P., Yadavalli, T., Bhangi Mutta, N., Sannaiah, A., & Shivanna, Y. (2016). ZnO nanopellets have selective anticancer activity. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 62, 919–926. DOI: 10.1016/j.msec.2016.02.039.
- Guo, T., Fang, X., Liu, Y., Ruan, Y., Hu, Y., Wang, X., Hu, Y., Wang, G., & Xu, Y. (2022). Acute lung inflammation induced by zinc oxide nanoparticles: Evolution and intervention via NRF2 activator. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 162, 112898. DOI: 10.1016/j.fct.2022.112898.
- Haberl, N., Hirn, S., Holzer, M., Zuchtriegel, G., Rehberg, M., & Krombach, F. (2015). Effects of acute systemic administration of TiO₂, ZnO, SiO₂, and Ag nanoparticles on hemodynamics, hemostasis and leukocyte recruitment. *Nanotoxicology*, 9(8), 963–971. DOI: 10.3109/17435390.2014.992815.
- Hadrup, N., Rahmani, F., Jacobsen, N. R., Saber, A. T., Jackson, P., Bengtson, S., Williams, A., Wallin, H., Halappanavar, S., & Vogel, U. (2019). Acute phase response and inflammation following pulmonary exposure to low doses of zinc oxide nanoparticles in mice. *Nanotoxicology*, 13(9), 1275–1292. DOI: 10.1080/17435390.2019.1654004.
- Jacobsen, N. R., Stoeger, T., van den Brule, S., Saber, A. T., Beyerle, A., Vietti, G., Mortensen, A., Szarek, J.,

- Budtz, H. C., Kermanizadeh, A., Banerjee, A., Ercal, N., Vogel, U., Wallin, H., & Møller, P. (2015). Acute and subacute pulmonary toxicity and mortality in mice after intratracheal instillation of ZnO nanoparticles in three laboratories. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 85, 84–95. DOI: 10.1016/j.fct.2015.08.008.
- Jiang, X., Tang, Q., Zhang, J., Wang, H., Bai, L., Meng, P., Qin, X., Xu, G., Bose, D. D., Wang, B., Chen, C., & Zou, Z. (2018). Autophagy-dependent release of zinc ions is critical for acute lung injury triggered by zinc oxide nanoparticles. *Nanotoxicology*, 12(9), 1068–1091. DOI: 10.1080/17435390.2018.1513094.
- Johnson, B. M., Fraietta, J. A., Gracias, D. T., Hope, J. L., Stairiker, C. J., Patel, P. R., Mueller, Y. M., McHugh, M. D., Jablonowski, L. J., Wheatley, M. A., & Katsikis, P. D. (2015). Acute exposure to ZnO nanoparticles induces autophagic immune cell death. *Nanotoxicology*, 9(6), 737–748. DOI: 10.3109/17435390.2014.974709.
- Khodaei-Motlagh, M., Masoudi, R., Karimi-Sabet, M. J., & Hatefi, A. (2022). Supplementation of sperm cooling medium with Zinc and Zinc oxide nanoparticles preserves rooster sperm quality and fertility potential. *Theriogenology*, 183, 36–40. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2022.02.015.
- Kong, T., Zhang, S. H., Zhang, J. L., Hao, X. Q., Yang, F., Zhang, C., Yang, Z. J., Zhang, M. Y., & Wang, J. (2018). Acute and Cumulative Effects of Unmodified 50-nm Nano-ZnO on Mice. *Biological trace element research*, 185(1), 124–134. DOI: 10.1007/s12011-017-1233-6.
- Koshevoy, V. I., & Naumenko, S. V. (2023). Assessment of reproductive toxicity of metal nanoparticles as components of nanobiotechnologies promising for animal reproduction (review article). *Veterinary Biotechnology*, 42, 56–66. DOI: 10.31073/vet_biotech42-07 (in Ukrainian).
- Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., & Serhienko, V. R. (2023). Assessment of anti-inflammatory properties of metal nanoparticles as potential means of correction of pathologies of the reproductive system of animals. *Veterinary Medicine*, 109, 77–81. DOI: 10.36016/VM-2023-109-14 (in Ukrainian).
- Kotsiumbas, I. Ya. (ed.) (2005). *Doklinichni doslidzhenia veterynarykh likarskykh zasobiv*. Lviv: Triada plus (in Ukrainian).
- Larsen, S. T., Da Silva, E., Hansen, J. S., Jensen, A. C. Ø., Koponen, I. K., & Sørli, J. B. (2020). Acute Inhalation Toxicity After Inhalation of ZnO Nanoparticles: Lung Surfactant Function Inhibition *In Vitro* Correlates With Reduced Tidal Volume in Mice. *International journal of toxicology*, 39(4), 321–327. DOI: 10.1177/1091581820933146.
- Li, C. H., Shen, C. C., Cheng, Y. W., Huang, S. H., Wu, C. C., Kao, C. C., Liao, J. W., & Kang, J. J. (2012). Organ biodistribution, clearance, and genotoxicity of orally administered zinc oxide nanoparticles in mice. *Nanotoxicology*, 6(7), 746–756. DOI: 10.3109/17435390.2011.620717.
- Mahmoud, M., Yahia, D., Abdel-Magiud, D. S., Darwish, M., Abd-Elkareem, M., & Mahmoud, U. T. (2021). Broiler welfare is preserved by long-term low-dose oral exposure to zinc oxide nanoparticles: preliminary study. *Nanotoxicology*, 15(5), 605–620. DOI: 10.1080/17435390.2021.1905099.
- Naumenko, S., Koshevoy, V., Matsenko, O., Miroshnikova, O., Zhukova, I., & Bepalova, I. (2023). Antioxidant properties and toxic risks of using metal nanoparticles on health and productivity in poultry. *Journal of World's Poultry Research*, 13(3), 292–306. DOI: 10.36380/jwpr.2023.32.
- Ogunsuyi, O., Ogunsuyi, O., Akanni, O., Alabi, O., Alimba, C., Adaramoye, O., Cambier, S., Eswara, S., Gutleb, A. C., & Bakare, A. (2022). Physiological and histopathological alterations in male Swiss mice after exposure to titanium dioxide (anatase) and zinc oxide nanoparticles and their binary mixture. *Drug and chemical toxicology*, 45(3), 1188–1213. DOI: 10.1080/01480545.2020.1811720.
- Patra, P., Mitra, S., Debnath, N., & Goswami, A. (2012). Biochemical-, biophysical-, and microarray-based antifungal evaluation of the buffer-mediated synthesized nano zinc oxide: an in vivo and in vitro toxicity study. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 28(49), 16966–16978. DOI: 10.1021/la304120k.
- Salimi, A., Rahimi, H. R., Forootanfar, H., Jafari, E., Ameri, A., & Shakibaie, M. (2019). Toxicity of microwave-assisted biosynthesized zinc nanoparticles in mice: a preliminary study. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 47(1), 1846–1858. DOI: 10.1080/21691401.2019.1611592.
- Saptarshi, S. R., Feltis, B. N., Wright, P. F., & Lopata, A. L. (2015). Investigating the immunomodulatory nature of zinc oxide nanoparticles at sub-cytotoxic levels in vitro and after intranasal instillation in vivo. *Journal of nanobiotechnology*, 13, 6. DOI: 10.1186/s12951-015-0067-7.
- Sharma, V., Singh, P., Pandey, A. K., & Dhawan, A. (2012). Induction of oxidative stress, DNA damage and apoptosis in mouse liver after sub-acute oral exposure to zinc oxide nanoparticles. *Mutation research*, 745(1-2), 84–91. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2011.12.009.
- Shrivastava, R., Raza, S., Yadav, A., Kushwaha, P., & Flora, S. J. (2014). Effects of sub-acute exposure to TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles on oxidative stress and histological changes in mouse liver and brain. *Drug and chemical toxicology*, 37(3), 336–347. DOI: 10.3109/01480545.2013.866134.
- Song, R., Yao, J., Shi, Q., & Wei, R. (2018). Nanocomposite of Half-Fin Anchovy Hydrolysates/Zinc Oxide Nanoparticles Exhibits Actual Non-Toxicity and Regulates Intestinal Microbiota, Short-Chain Fatty Acids Production and Oxidative Status in Mice. *Marine drugs*, 16(1), 23. DOI: 10.3390/md16010023.
- Srivastav, A. K., Dhiman, N., Tiwari, R., Arjaria, N., Prakash, J., Jagdale, P., Ayanur, A., Singh, D., Patnaik, S., & Kumar, M. (2019). Sub-acute oral exposure of zinc oxide nanoparticles causes alteration in iron homeostasis through acute phase response: A protective effect by surface modification. *Journal of trace elements in medicine and biology: organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 52, 270–287. DOI: 10.1016/j.jtemb.2019.01.008.

- Tkachenko, A., Onishchenko, A., Myasoedov, V., Yefimova, S., & Havranek, O. (2023). Assessing regulated cell death modalities as an efficient tool for in vitro nanotoxicity screening: a review. *Nanotoxicology*, 17(3), 218–248. DOI: 10.1080/17435390.2023.2203239.
- Wang, C., Cheng, K., Zhou, L., He, J., Zheng, X., Zhang, L., Zhong, X., & Wang, T. (2017a). Evaluation of Long-Term Toxicity of Oral Zinc Oxide Nanoparticles and Zinc Sulfate in Mice. *Biological trace element research*, 178(2), 276–282. DOI: 10.1007/s12011-017-0934-1.
- Wang, D., Li, H., Liu, Z., Zhou, J., & Zhang, T. (2017b). Acute toxicological effects of zinc oxide nanoparticles in mice after intratracheal instillation. *International journal of occupational and environmental health*, 23(1), 11–19. DOI: 10.1080/10773525.2016.1278510.
- Wang, P., Zhang, L., Liao, Y., Du, J., Xu, M., Zhao, W., Yin, S., Chen, G., Deng, Y., Li, Y., Xue, X., Yang, Y., Hu, G., & Chen, Y. (2020). Effect of Intratracheal Instillation of ZnO Nanoparticles on Acute Lung Inflammation Induced by Lipopolysaccharides in Mice. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*, 173(2), 373–386. DOI: 10.1093/toxsci/kfz234.