НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ІВАНА ФРАНКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ХРАБКО МАР'ЯНА ІВАНІВНА

УДК 577.112.85:57.083.3:612.663:661.8.67

ДИСЕРТАЦІЯ

ІМУНОФІЗІОЛОГІЧНА, РЕПРОДУКТИВНА І ДЕЗІНТОКСИКАЦІЙНА ФУНКЦІЇ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ГЕРМАНІЮ ЦИТРАТУ

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ М.І. Храбко
(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: Федорук Ростислав Степанович
доктор ветеринарних наук,
професор, член-кореспондент НААН

Львів – 2019

АНОТАЦІЯ

Храбко М. І. Імунофізіологічна, репродуктивна і дезінтоксикаційна функції організму щурів за дії германію цитрату. — Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.13 «Фізіологія людини і тварин». – Львівський національний університет імені І. Франка, Львів, 2019.

Дисертація присвячена вивченню впливу різних доз германію цитрату, одержаного методами нанотехнології та хімічного синтезу, на активність імунної, антиоксидантної, детоксикаційної та репродуктивної систем організму щурів різних поколінь; з'ясуванню імунофізіологічного впливу різних доз германію цитрату; встановленню вікових, статевих та системних особливостей їх дії за тривалого застосування впродовж вагітності, лактації, підсисного періоду, фізіологічного і статевого дозрівання, ембріонального та фетального розвитку. Встановлено стимулюючий вплив низької і середньої доз германію цитрату, отриманого методом нанотехнології, на імунофізіологічні та гематологічні показники організму, а також інгібуючий — за високої дози. Германій цитрат хімічно синтезований зумовлює інгібуючий вплив за дії 200 мкг Ge на вміст імуноглобулінів, глікопротеїнів та їх вуглеводних компонентів у крові щурів F_0, а також ріст і розвиток організму та окремих органів у самиць F_1. Доведено регуляторний вплив застосованих доз германію цитрату на онтогенетичний розвиток щуренят у двох поколіннях і менше виражений — на показники внутрішніх органів за коефіцієнтами мас серця, печінки, нирок, тестикулів, легень, селезінки. Вперше отримано нові дані щодо гістологічної структури органів імунної системи (тимус, лімфовузли, селезінка та печінка) щурів за тривалого впливу різних доз германію цитрату, відзначено зв'язок змін фізіологічних і біохімічних показників крові та тканин з морфологічними і структурними особливостями будови вказаних органів. Доведено дозозалежний вплив германію цитрату на репродуктивну здатність самиць щурів F_0 і F_1 поколінь, резистентність, життєздатність та онтогенетичний розвиток їх щуренят

впродовж 2–4,5 місяців життя. На основі визначення вмісту Ca і P у крові, Fe, Cu, Zn, Mn, Co і Ge у м’яких тканинах щурів, експериментально доведено регуляторний вплив германію цитрату у застосованих дозах на їх розподіл у органах — печінці, нирках, серці, селезінці, легенях щурів, визначено залежність вмісту цих елементів від дози та способу синтезу германію цитрату.

Результати імунофізіологічного впливу різних доз германію цитрату впродовж їх тривалого застосування у щурів двох поколінь дають підставу обґрунтувати доцільність апробації фізіологічно адекватних кількостей цієї сполуки для підвищення природної резистентності організму матері і новонароджених та плодючості самиць багатоплідних тварин. На основі порівняльних досліджень впливу різних доз германію цитрату, одержаного методом нанотехнології, експериментально доведено можливість використання германію цитрату в низьких і середніх концентраціях для коригування імунофізіологічних процесів в організмі. Стимулюючий вплив германію цитрату на імунофізіологічну здатність щурів і репродуктивну функцію організму їх самиць використано як експериментальну основу для обгрунтування рекомендацій щодо застосування цієї сполуки у тваринництві та ветеринарній медицині.

Застосування різних доз германію цитрату у самиць щурів двох поколінь зумовлювало регуляторний вплив на імунофізіологічний й антиоксидантний стан організму. Вплив германій цитрату у самиць щурів F_0 характеризувався зниженням амінотрансферазної активності крові, концентрації в ній Ca, P, триацилгліцеролів, креатиніну — для 200 і 2000 мкг, з підвищенням за дії 10 і 20 мкг Ge, а також вмісту фенолсульфатів і фенолглюкуронідів у тканинах печінки, нирок і м’язів за дії 20 мкг Ge. У крові самиць F_1 встановлено вірогідно нижчий вміст Ca за дії 10, 20 і 200 мкг Ge та альбуміну і триацилгліцеролів — за дії 2000 мкг Ge на тлі вищого вмісту P у крові тварин, які отримували 10 і 20 мкг Ge.

Відзначено регуляторний вплив різних доз германію цитрату, отриманого нанотехнологічним і хімічним методами, на обмін мікроелементів в організмі самиць щурів F_0, F_1, що характеризувався вірогідно вищим вмістом Cu і Mn у всіх

досліджених тканинах, Co — легень і м’язів, Zn — нирок і м’язів за дії 10 мкг Ge, але нижчим за впливу 20 і 200 мкг порівняно з контролем.

Імунофізіологічна дія германію цитрату зумовлювала у самиць F_1 збільшення кількості та розмірів фолікулів у лімфатичних вузлах; зростання числа гепатоцитів у печінці, тимоцитів і лімфоцитів у тимусі; розширення об’єму білої пульпи у селезінці самиць, які отримували 10 і 20 мкг Ge; зменшення кількості клітин у лімфатичних вузлах на тлі звуження їх паракортикальної зони та кіркової — тимусу, розширення мозкової зони за дії 200 мкг Ge. Встановлено онтогенетичні особливості впливу різних доз германію цитрату у самиць щурів F_0 і F_1, що характеризувалися вищими показниками маси тіла та коефіцієнтів маси серця ($P < 0,01$) і легень ($P < 0,05$), але нижчими — селезінки, нирок і печінки за дії 20 і 200 мкг Ge/кг м. т.

Застосування германію цитрату підвищувало багатоплідність самиць щурів F_0 за дії 20, 200 і 2000 мкг Ge ($P < 0,001$), проте збереженість щуренят на 20 і 40 доби була меншою від контролю у всіх дослідних групах, з найнижчими показниками за дії 2000 мкг Ge. У самиць F_1 встановлено зменшення доімплантаційної, але збільшення — постімплантаційної та загальної ембріональної летальності за дії 200 і 2000 мкг Ge, що зумовило зниження кількості живих плодів у самиць, які отримували 2000 мкг Ge.

Застосування германію цитрату самицям F_0 під час вагітності та лактації стимулювало ріст і розвиток плодів та щуренят F_1 у перші 20 діб життя за дії 10 і 20 мкг Ge. Додавання германію цитрату щурам F_1 у наступні періоди онтогенезу забезпечувало вищу від контролю інтенсивність їх росту на 5,4; 12,2 і 5,0 % відповідно на 120 добу життя за дії 10, 20 і 200 мкг Ge, але нижчу на 8,9 % — за дії 2000 мкг Ge. Встановлено стимулюючий вплив германію цитрату у дозі 20 мкг на розвиток ембріонів і плодів у самиць F_1 та інгібуючий — у дозі 200 мкг Ge. Використання різних доз германію цитрату зумовлювало коригуючий вплив на стан імунної системи організму самців F_1 з підвищенням в крові вмісту молекул середньої маси у віці 2–2,5 місяця. У віці 4–4,5 місяця встановлено вищий вміст у

крові імуноглобулінів, сіалових кислот, молекул середньої маси, але нижчий — циркулюючих імунних комплексів за дії 10, 20 та 2000 мкг Ge.

Ключові слова: імунофізіологічний стан організму, відтворення, резистентність, дезінтоксикація, щури, гематологічні показники, антиоксидантний статус, германію цитрат, мінеральний обмін.

Список опублікованих праць за темою дисертаційної роботи:

1. Храбко М. І. Вплив цитрату германію на імунофізіологічну активність організму щурів / Федорук Р. С., Храбко М. І., Долайчук О. П. // Фізіологічний журнал. 2017. Вип. 63. № 2. С. 65-72. *(Здобувачка брала участь у формуванні схеми досліджень, їх виконанні та аналізі результатів).*

2. Храбко М. І. Розвиток організму та його гемопоетична і репродуктивна функції у самок щурів F_1 за дії різних доз цитрату германію / Федорук Р. С., Храбко М. І., Сейфулліна І. Й., Долайчук О. П. // Журнал "Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2016. Вип. 76. № 4. С. 5-11. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, провела аналіз і опис результатів).*

3. Патент України на корисну модель № 119458. МПК (2017.01): A61D 19/00, A01K 67/00, B82Y 5/00. Спосіб підвищення багатоплідності самок і збереженості їх приплоду у гризунів / Р. С. Федорук, М. І. Храбко. Опубл. 25.09.2017. Бюл. № 18. (*Здобувачка брала участь у розробці принципу корисної моделі, дослідженнях, підготовці матеріалів до патентування*).

4. Храбко М. І. Вміст мікроелементів у тканинах самиць щурів F_0 та самців F_1 за випоювання нано і хімічно синтезованого германію цитрату / Храбко М. І., Федорук Р. С., Храбко М. І., Марцинко О. Е., Денис Г. Г. // Біологія тварин. 2017. Том. 19. № 1. С. 125-134. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, провела аналіз та узагальнення результатів, їх опис).*

5. Храбко М. І. Гістоструктура внутрішніх органів самиць щурів першого покоління за дії різних доз германію цитрату / Храбко М. І., Федорук Р. С., Мартин Ю. В., Тесарівська У. І., Шумська М. І. // Біологія тварин. 2017. Том. 19.

№ 4. С. 73-82. *(Здобувачка сформувала план, виконала експериментальну частину дослідження, аналіз результатів і написала статтю).*

6. Храбко М. І. Метаболічні процеси в організмі самців щурів F_1 у період випоювання «наногерманію» цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого / Храбко М. І., Федорук Р. С., Храбко М. І. // Вісник Львівського унів-ту. «Серія біологічна». 2017. Вип. 75. С. 158-166. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, науковий і статистичний аналіз результатів).*

7. Храбко М. І. Ріст, розвиток і репродуктивна функція самиць щурів та життєздатність їх приплоду за випоювання різних доз цитрату германію / Федорук Р. С., Храбко М. І., Цап М. М., Марцинко О. Е. // Біологія тварин. 2016. Том. 18. № 3. С. 97-106. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, взяла участь у написанні статті).*

8. Храбко М. І. Фізіолого-біохімічні процеси в організмі самиць F_0 і самців F_1 щурів за умов випоювання їм «наногерманію» цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого / Храбко М.І., Федорук Р. С., Долайчук О. П. // Вісник Львівського унів-ту. «Серія біологічна», 2016. Вип. 73. С. 226-234. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, провела аналіз результатів і написала статтю).*

9. Храбко М. І. Ріст і розвиток організму самців щурів F_1 та його імунофізіологічна активність у період випоювання різних доз нанотехнологічного і хімічно синтезованого цитрату германію / Храбко М. І., Федорук Р. С. // Вісник Київського нац. унів-ту ім. Т. Шевченка. 2016. Вип. 21. № 2. С. 39-43. *(Здобувачка сформувала схему досліджень, виконала їх експериментальну частину, статистично опрацьовала і написала статтю).*

10. Храбко М. І. Показники стану імунної та антиоксидантної систем у крові вагітних самиць щурів F_1 за дії різних доз цитрату германію / Храбко М. І., Федорук Р. С., Кропивка С. Й. // Вісник Київського нац. унів-ту ім. Т. Шевченка. Серія: «Проблеми регуляції фізіологічних функцій». 2017. Вип. 22. № 1. С. 50-53. *(Здобувачка виконала дослідження і написала статтю).*

11. Храбко М. І. Регуляторний вплив наногерманію цитрату на вміст макро- і мікроелементів у тканинах вагітних самиць щурів F_1 / Федорук Р. С., Храбко М. І., Цап М. М., Денис Г. Г., Тесарівська У. І. // Вісник Київського нац. унів-ту ім. Т. Шевченка. Серія: «Проблеми регуляції фізіологічних функцій». 2017. Вип. 23. № 2. С. 47-50. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, аналіз та узагальнення результатів).*

12. Храбко М. И. Рост и развитие крысят F_1 при выпаивании им и самкам-матерям разных доз цитрата германия / Федорук Р. С., Храбко М. И., Долайчук О. П., Цап М. М. // Collection of works of SCIENTIFIC SYMPOSIUM WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION «Zootechnycal science – an important factor for the european type of the agriculture», Moldova, Maximovca. 2016. С. 780-785. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, статистичний аналіз даних)*.

13. Храбко М. І. Фізіологічна роль органічних сполук германію / Храбко М. І., Долайчук О. П. // XIX з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю (24-25 травня 2015 р., м. Львів). Фізіологічний журнал. 2015. Вип. 61. № 3. С. 140-141. (*Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження та взяла участь у написанні тез).*

14. Храбко М. І. Динаміка маси тіла і репродуктивна функція самок щурів та життєздатність приплоду за випоювання різних кількостей цитрату германію / Федорук Р. С., Храбко М. І. // Біологія тварин. 2015. Том. 17. № 3. С. 214. (*Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження та взяла участь у написанні тез).*

15. Храбко М. І. Репродуктивна функція та маса самок щурів і життєздатність приплоду за випоювання нано- та хімічно синтезованого цитрату германію / Храбко М. І., Долайчук О. П. // Біологія тварин. 2015. Том. 17. № 4. С. 207. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження та взяла участь у написанні тез).*

16. Храбко М. І. Детоксикаційна здатність організму щурів у період випоювання різних кількостей цитрату германію / Храбко М. І. Федорук Р. С.,

Храбко М. І., Тесарівська У. І. // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми фізіології тварин» (23-25 червня 2016 р., м. Одеса): збірник тез Одеса, 2016. С. 52. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження та взяла участь у написанні тез).*

17. Храбко М. І. Ріст і розвиток самців щурів F_1 покоління за умов тривалого випоювання хімічно синтезованого германію цитрату / Храбко М. І., Марцинко О. Е., Цап М. М. // Міжнар. наук. практ. конф. "Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини (29-30 вересня 2016 р., м. Львів). Біологія тварин. 2016. Том. 18. № 3. С. 198. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження та взяла участь у написанні тез)*.

18. Храбко М. І. Гематологічний і біохімічний профіль організму, показники маси тіла і внутрішніх органів вагітних самиць щурів F_1 за випоювання різних доз цитрату германію / Храбко М. І., Колещук О. І. // Матеріали XV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини». Біологія тварин. 2016. Том. 18. № 4. С. 200. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження та взяла участь у написанні тез).*

19. Khrabko M. I. Microelements of female tissues of F_1 rats for the long-term effects of various doses of nano-germanium citrate / Fedoruk R. S., Khrabko M. I., Kaplunenko V. G., Tesarivska U. I., Denis G. G. // 33 Joint Annual Meeting of the German Society for Minerals and Trace Elements with Zinc-UK (28-30 September, Aachen): Abstract book. Aachen. 2017. P. 30. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, аналіз та узагальнення результатів, взяла участь у написанні тез)*.

20. Khrabko M. I. Mineral elements of tissues of females F_1 rats and their offspring for the effects of various doses of Ge citrate / Khrabko M. I., Fedoruk R. S., Kaplunenko V. G. // Central and Eastern European Conference on Health and the Environment (10-14 June, Krakow): Abstract book. Krakow. 2018. P. 161. *(Здобувачка виконала експериментальну частину дослідження, аналіз та узагальнення результатів, взяла участь у написанні тез).*

SUMMARY

Khrabko M. I. Immunophysiological, reproductive and detoxification functions of the rats organism under the action of germanium citrate. - Manuscript.

Thesis for a Philosophy Doctor (PhD) degree in biological, specialty 03.00.13 — human and animal physiology. — Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, 2019.

The dissertation is devoted to the research of the influence of various doses of germanium citrate obtained by nanotechnology methods and chemical synthesis, on the activity of immune, antioxidant, detoxification and reproductive systems of the rats organism of different generations; clarification of immune-physiological influence of various germanium citrate doses; establishment of age, reproductive and systemic features of their influence at long-term application during pregnancy, lactation, breastfeeding period, physiological and reproductive maturation, embryonic and fetal development. The stimulating effect of low and average doses of nanogermanium citrate, obtained by the nanotechnology method was established on immune physiological and hematological parameters of the organism, and also on inhibiting – at high dose application. Chemically synthesized germanium citrate has an inhibitory effect at action of 200 mcg Ge on the content of immune globulins, glycoproteins and their carbohydrate components in the blood of F_0 rats, as well as the growth and development of the organism and individual organs in F_1 females. The regulatory influence of the applied doses of germanium citrate on the ontogenetic development of young rats in two generations and less expressed on the internal organs indices according to the coefficients of the heart, liver, kidneys, testicular, lungs, and spleen masses were proved. For the first time new data was obtained on the histological structure of the immune system organs (thymus, lymph nodes, spleen and liver) of rats at the long-term influence of various doses of germanium citrate, and the connection of changes in physiological and biochemical parameters of blood and tissues with morphological and structural features of these organs structure was noted. The dose-dependent influence of germanium citrate on the reproductive ability of rat females of F_0 and F_1 generations, resistance, viability and ontogenetic development of their young

rats during 2-4.5 months of life was proved. Based on the determination of Ca, P, Fe, Cu, Zn, Mn, Co and Ge content in rat tissues, the regulatory influence of germanium citrate in the applied doses on their distribution in tissues and organs - liver, kidneys, heart, spleen, lungs of rats dependence of the content of these elements on the dose and method of synthesis of germanium citrate was determined.

The results of the immune physiological influence of germanium citrate different doses during their long-term application in rats of three generations allow to substantiate the expediency of approbation of physiologically adequate amounts of this compound to increase the natural resistance of the mothers and newborns organism and the fertility of the multi fertile female animals. On the basis of comparative investigations of the influence of various doses of germanium citrate obtained by the method of nanotechnology, the possibility of using germanium citrate in low and medium concentrations for the correction of immune physiological processes in the organism was experimentally proved. The stimulating influence of nanogermanium citrate on the immune physiological ability of rats and the reproductive function of their females' organism was used as an experimental basis for the development of recommendations on the application of this compound in livestock and veterinary medicine.

The application of different germanium citrate doses in females of two generations of rats caused regulatory influence on the immune physiological and antioxidant state of the organism. Influence of germanium citrate in F_0 female rats was characterized by a decrease in blood aminotransferase activity, concentration of Ca, P, triacylglycerols, creatinine – at action of 200 and 2000 mcg, with an increase at the action of 10 and 20 mcg Ge, as well as the content of phenolsulphates and phenolglucuronides in liver, kidney and muscles at action of 20 mcg Ge. In the blood of F_1 females, a significantly lower Ca content at action of 10, 20 and 200 mcg Ge; and albumin and triacylglycerols was detected - at the action of 2000 mcg Ge against the background of higher P content in animals receiving 10 and 20 mcg of Ge.

The regulatory influence of different doses of germanium citrate obtained by nanotechnology and chemical methods on the metabolism of trace elements in the

organism of F_0, F_1 female rats was marked, characterized by a significantly higher content of Cu and Mn in all investigated tissues, Co - lungs and muscles, Zn - kidneys and muscles at the action of 10 mcg Ge, but lower at the action of 20 and 200 mcg compared to control.

The action of germanium citrate caused the increase in the number and size of follicles in the lymph nodes of F_1 females; increase in the number of hepatocytes in the liver, thymocytes and lymphocytes in the thymus; expansion of the white pulp volume in the spleen of females receiving 10 and 20 mcg of Ge; a decrease in the number of cells in the lymph nodes against the background of narrowing of their paracortica and cortical - thymus, expansion of the brain zone at action of 200 mcg Ge. The ontogenetic features of the influence of various doses of germanium citrate on F_0 and F_1 female rats, characterized by higher body mass index and cardiac mass factors ($P < 0.01$) and lung ($P < 0.05$), but lower - spleen, kidney and liver at the action of 20 and 200 mcg Ge/kg b. w.

Application of germanium citrate increased the multiplicity of F_0 female rats fertility at action of 20, 200 and 2 000 mcg Ge ($P < 0.001$), but the preservation of young rats at 20 and 40th days was lower in comparison to control in all experimental groups, with the lowest values at the action of 2000 mcg Ge. In F_1 females, a decrease in preimplantation was observed, but an increase in post-implantation and total embryonic lethality at action of 200 and 2,000 mcg Ge, which resulted in a decrease in the number of live fetuses in females receiving 2000 mcg Ge.

The application of germanium citrate to F_0 females during pregnancy and lactation stimulated the growth and development of F_1 young rats in the first 20 days of life at action of 10 and 20 mcg of Ge. Adding germanium citrate to F_1 rats in subsequent periods of ontogenesis provided higher in comparison to control intensity of their growth by 5.4; 12.2 and 5.0%, respectively, on the 120 day of life at the action of 10, 20 and 200 mcg Ge, but lower by 8.9% - at the action of 2000 mcg Ge. The stimulating effect of germination citrate in a dose of 20 micrograms on the development of embryos and fetuses in F_1 females and inhibiting - in a dose of 200 micrograms of Ge was established. There were no significant differences in the growth and development

dynamics of F_2 young rats compared to control before weaning, however, a dose of 200 mcg reduced the intensity of their growth, which was 84.6-87.6 % of the control.

Application of different doses of germanium citrate resulted in a corrective effect on the state of the immune system of the F_1 male organism, with an increase in the content of medium molecules in the blood at the age of 2-2.5 months. At the age of 4-4.5 months, higher blood levels of immune globulins, sialic acids, and medium-molecules, but lower, in circulating immune complexes at action of 10, 20 and 2000 mcg Ge was established.

Key words: immunophysiological state of the organism, reproduction, resistance, detoxification, rats, hematological parameters, antioxidant status, germanium citrate, mineral metabolism.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 15
ВСТУП 16
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 22
1.1. Роль Германію у природному середовищі та фізіологічних процесах організму 22
1.2. Біологічна дія мінеральних та органічних сполук Германію 26
1.2.1. Імунофізіологічний вплив сполук Германію 28
1.2.2. Репродуктивна й онтогенетична функції організму за дії сполук Германію 34
1.2.3. Антиоксидантна і детоксикаційна здатність організму за дії сполук Германію 37
1.3. Нанотехнологічні та хімічні сполуки Германію в біології, медицині, ветеринарії 41
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ 51
2.1. Загальна схема і методологія досліджень. 51
2.2. Застосовані методи і методики досліджень 54
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ 66
3.1. Імунофізіологічний та антиоксидантний стан організму самиць щурів F_0 і F_1 за дії різних доз германію цитрату 66
3.2. Фізіолого-біохімічні показники крові та детоксикаційна здатність організму самиць щурів F_0 і F_1 за дії різних доз германію цитрату 74
3.3. Регуляторний вплив різних доз германію цитрату на вміст мікроелементів у тканинах самиць щурів F_0 і F_1 79
3.4. Морфоструктурна характеристика імунокомпетентних тканин та органів самиць щурів покоління F_1 86
3.5. Онтогенетичні відмінності організму самиць щурів F_0 і F_1 у період застосування різних доз германію цитрату 93
3.6. Репродуктивна функція організму самиць щурів F_0 і F_1 за дії різних доз германію цитрату 98

3.7. Онтогенетичні відмінності самців щурів F_1 за тривалого впливу різних доз германію цитрату 102
3.8. Імунофізіологічні показники організму самців щурів F_1 за дії різних доз германію цитрату 107
3.9. Біохімічні процеси в крові самців щурів F_1 за дії різних доз германію цитрату 113
3.10. Регуляторний вплив різних доз германію цитрату на вміст мікроелементів у тканинах самців щурів F_1 119
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ 126
ВИСНОВКИ 152
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 154
ДОДАТКИ……...….195

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

IL — інтерлейкін

Ig — імуноглобуліни

NK — натуральні кілери

АлАТ — аланінамінотрансфераза

АОС — антиоксидантна система

АсАТ — аспартатамінотрансфераза

ГП — глутатіонпероксидаза

ГПЛ — гідроперекиси ліпідів

ІФН — інтерферон

КА — каталаза

КГС — карбоксиетилгермсесквіоксан

МСМ — молекули середньої маси

GeЦ —германію цитрат

СОД — супероксиддисмутаза

ТАГ — триацилгліцероли

ФА — фагоцитарна активність

ФІ — фагоцитарний індекс

ФЧ — фагоцитарне число

ЦGeХС — цитрат германію хімічно синтезований

ЦІК — циркулюючі імунні комплекси

ВСТУП

Актуальність теми. Імунна система — одна з важливих інтегруючих регуляторних ланок імунофізіологічних функцій організму [3, 56, 137, 312]. Вивчення впливу нових імуноактивних сполук та елементів в організмі у взаємозв'язку з функціонуванням окремих його органів і систем є одним з актуальних завдань сучасної імунофізіології [83, 143, 149, 162]. Мікроелементи, як біологічно активні речовини, у значній мірі визначають імунофізіологічний стан організму та збалансованість функціонування його імунної системи [13, 71, 191, 233]. Дослідженнями останніх десятиліть досягнуто значного поступу у з'ясуванні фізіологічних механізмів мікроелементного обміну, розуміння значення маловивчених ультраелементів, у тому числі Германію (Ge), у процесах росту, проліферації та загибелі клітин, функціонуванні окремих органів, систем та цілого організму [65, 86, 245]. Органічні та мінеральні сполуки Ge, їх комплекси, залежно від хімічної будови, дози і шляхів надходження можуть мати широкий спектр дії в організмі людини і тварин [78, 154, 302, 338]. Оксид германію (GeO_2) може активувати утворення червоних клітин крові, гемоглобіну, обміну ліпідів [6, 373]. Германійорганічні полімери гермсесквіоксанового типу збільшують експресію клітинного стимулюючого фактора IL-3 у стовбурових клітинах і можуть виявляти регулюючий гемопоетичний вплив в організмі. Спірогерманій виявляє імунорегуляторну та антималярійну активність, сприяє підтриманню фізіологічного рівня клітин кісткового мозку в організмі [151, 188, 277]. Лактат-цитрат германію інгібує перекисне окиснення ліпідів і посилює функцію імунної системи організму [270, 337].

Розроблено нові методи отримання фізіологічно високоактивних органічних і комплексних сполук Германію з використанням нанотехнології [4, 75, 80] та хімічного синтезу [57, 82, 93]. Однак, вивчення біологічної дії цих сполук, їх дозування, способів застосування, розпочато лише в останні роки [5, 11, 30, 154]. Отримані попередні результати досліджень вказують на високу фізіологічну

активність германію цитрату у наднизьких, низьких і середніх дозах, доведено синергічний вплив селену цитрату на біологічну активність германій цитрату, регулюючу дію їх на стан антиоксидантної системи і репродуктивну функцію у самиць щурів та мишей [86, 108, 111, 170, 182]. Відзначено низку інших позитивних фізіологічних ефектів щодо детоксикаційної, імуномодулювальної та метаболічної дії Германію, що вказує на актуальність досліджень біологічної дії різних доз германію цитрату, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Робота є частиною наукової тематики Інституту біології тварин НААН, що включена у програму наукових досліджень НААН «Фізіологія та біохімія тварин» на рівні завдання «Вивчити механізми впливу наноформ біогенних елементів у тварин і розробити методологію їх використання для підвищення резистентності організму» (ДР 0111U006160), за етапом «Вивчити фізіологічний вплив на організм матері і приплоду випоювання самкам щурів різних кількостей органічних сполук Германію» та «Вивчити особливості органо-тканинного розподілу есенціальних ультрамікроелементів (Ge, Ni, Co) в організмі тварин за різних рівнів їхнього надходження» (ДР 0116U001406). У період виконання цих досліджень автор вивчала фізіолого-біохімічні показники організму та його репродуктивну здатність у щурів, за умов випоювання германію цитрату, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу.

Мета і завдання дослідження. З'ясувати вплив Германію, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу у вигляді цитрату, на імунофізіологічну, антиоксидантну та репродуктивну здатність організму щурів F_0 та F_1 поколінь. Для досягнення поставленої мети в дисертаційній роботі поставлено такі завдання:

1. З'ясувати вплив різних доз германію цитрату, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу, на активність імунної системи й показники крові щурів поколінь F_0 і F_1;

2. Проаналізувати зміни фізіолого-біохімічних показників крові та дезінтоксикаційної здатності організму щурів F_0 і F_1 за дії різних доз германію цитрату;

3. Вивчити вплив різних доз германію цитрату на вміст деяких мінеральних елементів у тканинах і органах щурів двох поколінь;

4. Встановити особливості гістологічної структури тканин імунокомпетентних органів самиць щурів F_1 за дії різних доз германію цитрату;

5. Дослідити репродуктивну здатність організму самиць щурів F_0 і F_1 за дії різних доз германію цитрату;

6. Визначити онтогенетичні відмінності організму щурів F_0 і F_1 за впливу різних доз германію цитрату.

Об'єкт досліджень – фізіолого-біохімічні процеси в організмі самиць F_0 і F_1 та самців F_1 щурів за дії германію цитрату, отриманого методами нанотехнології і хімічного синтезу.

Предмет досліджень – імунофізіологічна, антиоксидантна, репродуктивна та дезінтоксикаційна здатність організму щурів за впливу різних доз германію цитрату.

Методи дослідження – імунофізіологічні (загальні імуноглобуліни, глікопротеїнові компоненти, молекули середньої маси, циркулюючі імунні комплекси), онтогенетичні (ріст і розвиток організму, маса та індекси мас внутрішніх органів), біохімічні (активність ензимів, показники протеїнового та мінерального обміну), морфологічні та гістологічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше з'ясовано активність імунної, антиоксидантної, детоксикаційної та функцію репродуктивної систем за дії германію цитрату, одержаного методами нанотехнології та хімічного синтезу, в організмі щурів двох поколінь. Визначено особливості змін імунобіологічних, гематологічних, біохімічних і гістологічних показників організму самиць F_0 і F_1 поколінь та самців F_1 за дії малих (10 мкг Ge), середніх (20 мкг Ge) і великих (200 і 2000 мкг Ge) доз германію цитрату. Вперше з'ясовано вікові, статеві та органо-системні особливості дії цих доз германію цитрату у самиць за тривалого

застосування впродовж вагітності, лактації, підсисного періоду, фізіологічного й статевого дозрівання, а також самців під час ембріонального та фетального розвитку. Відзначено, що малі та середні дози германію цитрату зумовлюють стимулювальний, а великі – інгібуючий вплив на імунобіологічні та гемопоетичні показники організму самиць щурів та їх приплоду. Великі (200 і 2000 мкг/кг Ge) дози германію цитрату, одержаного хімічним синтезом, зумовлюють інгібуючий вплив на вміст імуноглобулінів, глікопротеїнів та їх вуглеводних компонентів у крові щурів F_0, а також ріст і розвиток організму та окремих органів у самиць F_1 за дії 200 мкг Ge. Доведено регулювальний вплив застосованих доз германію цитрату на ріст організму й окремих органів щуренят F_1 і менш виражений – на показники внутрішніх органів за коефіцієнтами мас серця, печінки, нирок, тестикулів, легень, селезінки. Отримано нові дані щодо гістологічної структури імунокомпетентних органів щурів за тривалого впливу різних доз германію цитрату, відзначено зв’язок змін фізіологічних і біохімічних показників крові й тканин з морфоструктурними особливостями будови селезінки, печінки, лімфовузлів, тимусу. Доведено дозозалежний вплив германію цитрату на репродуктивну здатність самиць щурів F_0 і F_1 поколінь, резистентність, життєздатність, ріст і розвиток самців F_1 упродовж 4–4,5 місяця життя. За результатами досліджень отримано деклараційний патент № 119458 від 25.09.2017 «Спосіб підвищення багатоплідності самок і збереженості їх приплоду у гризунів». На основі визначення вмісту Ca^{2+}, P^{5+}, Fe^{3+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Co^{2+} і Ge^{4+} у тканинах щурів експериментально доведено регулювальний вплив германію цитрату в застосованих дозах на органо-тканинний їх розподіл у печінці, нирках, серці, селезінці, легенях щурів, відзначено залежність вмісту цих елементів від дози та способу одержання германію цитрату.

Практичне значення одержаних результатів. Результати імунофізіологічного впливу германію цитрату впродовж його тривалого застосування у щурів двох поколінь дають підставу обгрунтувати доцільність використання фізіологічно адекватних доз цієї сполуки для підвищення плодючості самиць багатоплідних тварин і природної резистентності організму

молодняку. На основі порівняльних досліджень впливу різних доз германію цитрату експериментально доведено перевагу використання германію цитрату, одержаного методом нанотехнології в низьких і середніх концентраціях, порівняно з хімічно синтезованим, для коригування імунофізіологічних процесів в організмі. Результати стимулювального впливу малих доз германію цитрату на репродуктивну здатність самиць щурів F_0 і F_1 використані для експериментального обгрунтування апробації розробки на багатоплідних тваринах. Стимулювальний вплив германію цитрату на резистентність і репродуктивну здатність організму самиць щурів рекомендовано як експериментальну основу для розроблення пропозицій щодо його застосування у тваринництві та ветеринарній медицині. Результати досліджень за темою дисертації впроваджені у навчальний процес Одеського національного університету імені І. І. Мечникова, Тернопільського медичного університету імені І. Я. Горбачевського та Національного університету біоресурсів і природокористування України з вивчення магістрами і студентами таких предметів, як фізіологія людини і тварин, фармакологія, біохімія.

Особистий внесок здобувача. Здобувачка самостійно проаналізувала наукову літературу, виконала експериментальну частину роботи, аналітично і статистично опрацювала результати досліджень, підготувала й опублікувала статті, написала дисертаційну роботу. Разом із науковим керівником проаналізувала результати експериментальних досліджень, провела їх узагальнення, сформулювала висновки.

Апробація результатів дисертаційних досліджень. Основні результати дисертаційної роботи апробовані на щорічних звітах Науково-методичного центру «Фізіологія тварин» при Інституті біології тварин НААН, на 19-му з’їзді Українського фізіологічного товариства, всеукраїнських і міжнародних науково-практичних конференціях, зокрема: «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2015, 2016); «Zootechnycal science – an important factor for the european type of the agriculture» (Moldova, 2016); «Актуальні проблеми фізіології тварин» (Одеса, 2016, Київ, 2018); «Молоді вчені

у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2015, 2016, 2017); «Актуальні проблеми сучасної біохімії», присвяченій 100-річчю від дня народження професора Б. Ф. Сухомлинова (Львів, 2016); «Молодь і поступ біології» (Львів, 2017); 33 Joint Annual Meeting of the German Society for Minerals and Trace Elements (GMS) with Zinc-UK (German, Achen, 2017); Наукового товариства імені Т. Г. Шевченка (Львів, 2018); Central and Eastern European Conference on Health and the Environment (Krakow, 2018).

Публікації за темою дисертації. Основні положення дисертаційної роботи й отримані результати досліджень висвітлені у 20 наукових працях, з них 10 – у фахових виданнях з біологічних наук, що входять до переліку МОН України, 8 – тези доповідей, 1 – стаття за матеріалами наукових конференцій, одержано 1 деклараційний патент.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота містить такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів досліджень, висновки. Список використаної літератури налічує 388 джерел, у тому числі 244 латиницею, додатки. Загальний обсяг дисертації 204 сторінок, із яких основний обсяг 138 сторінок, що включає 6 рисунків і 34 таблиці.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Роль Германію у природному середовищі та фізіологічних процесах організму

Германій під назвою «екасиліцій», як 32 елемент, був передбачений Д. І. Менделєєвим у 1870 році. У 1886 році німецький хімік Клеменс Вінклер, під час хімічного аналізу руди аргіродиту виявив невідому речовину, що відповідала характеристиці елемента під назвою «екасиліцій». Вінклер вирішив назвати новий елемент Германій, на честь своєї батьківщини [160].

Новий елемент виявився розсіяним і малодоступним, у земній корі його міститься приблизно $1{,}5\times10^{-4}$ % [6, 142]. Германій міститься майже всюди у природному середовищі, проте промислово його не добувають. Отримують Германій як вторинну сировину за переробки руд кольорових металів. Переважно він знаходиться в мінералах, основними з яких є: германіт — $Cu_3(Ge,Fe,Ga)(S,As)_4$, або $Cu_{13}Fe_2Ge_2S_{16}$, або $Cu_{26}Fe_4Ge_4S_{32}$ з домішками: Zn, Mo, As, V; плюмбогерманіт — $(Pb,Ge,Ga)_2SO_4(OH)_2$; статтит — $FeGe(OH)_6$; конфільдит — $Ag_8[Sn,Ge]S_6$; реньєрит — $Cu_2(Fe,Ge,Zn)(S,As)_4$ або $Cu_{30}(Zn_2$-$xCux)(Ge_4$-$xAsx)Fe_8S_{32}$ і аргіродит - Ag_8Ge,S_6 [6, 67].

Вивчення сполук Германію до початку 40-х років XX ст. відбувалось епізодично [21, 22], проте розвиток мікроелементології та радіоелектроніки привернув до нього увагу дослідників [95, 115, 294]. Вважають, що в процесі геохімічної еволюції земної кори відбулося значне вимивання Германію з материків у океани, тому сухопутні живі організми відчувають нестачу в ньому [22].

У наступні роки було визначено вміст Германію у лікарських рослинах та окремих їх частинах [53]. Встановлено високий вміст Германію у соєвих бобах, часнику, алое і женьшені, а також деяких лікарських травах. Окремі види

трубчастих грибів і лишайників, які народна медицина здавна застосовує як протипухлинні засоби, багаті Германієм.

У рослинах й інших живих організмах атоми Германію зв’язані з органічними молекулами, що формують біологічно активні речовини у вигляді германій-органічних сполук або комплексів [6].

У літературі недостатньо відомостей щодо досліджень структури органічних сполук германію в різних рослинах. Досліджено оксид карбоксиетил германію, який міститься в корені 5-6 річного корейського женьшеню [176]. Відсутні дані і щодо вмісту Германію в лікарських рослинах з різних територій і періоду збору. Відомо, що Германій міститься в женьшені, часнику, цибулі, грибах, алое, хлореллі, чайному листі, бамбуці [53], а також в рибі — тунець, лосось [219]. Однак, найбільше Германію є у коренях кульбаби та деревію, які містять його в межах 0,12–0,23 мкг/г. Для цих рослин з низки досліджених елементів відзначено також підвищений вміст Fe, As та V. Вміст Германію в деревію корелює тільки з рівнем Fe, що зумовлено специфічним елементним складом хелатних комплексів органічного Германію, характерним тільки даному виду рослин. Вказується, що завдячуючи високому вмісту Германію у деревію, його водний розчин нарівні з женьшенем і софорою японською виявляє імуностимулюючу активність [171, 177, 219].

Германій впливає на мікроорганізми — бактерії, гриби, дріжджі. Відома бактерицидна дія Германію на *Mycobacterium tuberculosis*, проте тривала дія препарату не елімінує цей мікроорганізм [272, 328]. Гідратований діоксид Германію поглинається і нагромаджується мікроорганізмами та водоростями. Сполуки Германію можуть нагромаджуватись окремими бактеріями, такими як *Thiobacillus Y.* та *T. Ferroxidans* [153]. У зв’язку з цим було запропоновано використовувати ці мікроорганізми для нагромадження Германію та отримання з їх біомаси біоактивних препаратів з високим його вмістом [183, 328].

Гепатопротекторні властивості органічних сполук Германію реалізуються завдяки здатності пригнічувати пероксидацію ліпідів з одночасною активацією системи антирадикального захисту організму, а також нормалізації

співвідношення холестерин/фосфоліпіди, що підтверджено на експериментальній моделі гепатиту [381]. У літературі описані протиаритмічні, протисудомні, седативні, міорелаксуючі, ноотропні, адаптогенні й антигіпоксичні властивості германійорганічних сполук [27-29].

Вивчення протипухлинної активності герматранів загальної формули R-$Ge(OCH_2CH_2)_3N$, що проведені на п'яти тест-системах, показали їхню високу хіміотерапевтичну ефективність. Так, 1-гідроксигерматран збільшував тривалість життя щурів з асцитною пухлиною Ерліха на 78 % порівняно з контролем. Приблизно таку саму за інтенсивністю протиракову активність (75 %) на експериментальній моделі саркоми 37 виявляв 1-триметилксилоксигерматран, дещо меншу – 1-триметилгермокси- і 1-гідроксигерматран. Подальші дослідження показали перспективність цих сполук як потенційних протиартритних і протипухлинних препаратів [151, 156].

Дослідження протипухлинної активності германійорганічних сполук дозволили дійти висновку, що одним з механізмів їхньої антибластомної дії є здатність індукувати в організмі утворення ендогенного інтерферону, а також безпосередньо або опосередковано стимулювати продукцію фактору некрозу пухлин [227].

Встановлено, що застосування координаційних сполук біометалів, у тому числі Германію, дозволяє досить ефективно регулювати їхню концентрацію в органах у необхідній організму формі, транспортувати лікарський засіб до місця локалізації патологічного процесу, усувати токсичну дію катіонів металів та інших речовин. У зв'язку з цим запропоновано використовувати для створення лікарських препаратів, що містять Германій, координаційні сполуки з біологічно активними органічними лігандами – метаболітами організму різної природи [71].

Широкі дослідження з цього напрямку проведено в Інституті органічної хімії Утрехта (Голландія), де синтезовано ряд ацетоксипохідних Германію і вивчено їх вплив на бактерії, гриби та дріжджі. Триорганілацетоксигерманати ($R_1GeOCOMe$) не пригнічували росту грамнегативних бактерій *Pseudomonas fluorescens* та *E. coli*. Однак чутливість грампозитивних бактерій до цих сполук

змінювалася залежно від виду бактерій у широких межах — від дуже високої для молочнокислих бактерій (*M. Phlei, Streptococcus lactis)* до дуже низької *(B. Cereus var. Mycoides)* та нульової *(B. Subtilis)* [183, 209, 293]. Синтезовано і вивчено органічні сполуки Германію, що володіють імуномодулюючими властивостями, у яких крім гістидину в якості амінокислоти використовували метіонін та глутатіон. Доведено, що ці сполуки характеризуються інтерферон-індукційною дією [162].

Серед біологічно активних сполук на основі Германію виділяються органічні комплекси, що виявляють антиканцерогенну, антивірусну, нейротропну активність. Одним з представників цих германійорганічних сполук є 1-гідроксигерматран (моногідрат), який має протигіпоксичну активність [97].

Лактат-цитрат германію інгібує перекисне окиснення ліпідів [388], що може посилити імунну функцію, як «імуностимулятора» [270, 365]. Германій може підвищити рівень сироваткових гемолітичних антитіл у мишей та зміцнити їх гуморальну і клітинну імуногенну здатність. Германій цитрат значно збільшував масу тимусу і селезінки мишей. Проте цей органогерманій не мав істотного впливу на ріст імунних органів у курчат-бройлерів на різних стадіях [196], а органічний германій (Ge-201) — на масу тимуса та селезінки у мишей [197, 385].

Висока активність сполук Германію як метал-іона, так і лігандів у переважній більшості випадків виявляється саме у складі комплексних сполук, оскільки живий організм є злагоджено діючою полілігандною системою багатьох комплексів. Сполукам германію притаманна мембраностабілізуюча дія, що реалізується на рівні іонних каналів та фосфоліпідних компонентів клітинних мембран [1, 10, 68, 78, 97, 229]. За основу створення біолігандів Германію було обрано природні для організму метаболіти, які забезпечують його життєдіяльність, регулюють перебіг процесів обміну, на рівні ензимів, гормонів [95, 140, 162]. У той час як мінеральні сполуки Германію, зокрема оксиди, можуть проявляти у певних дозах токсичний вплив в організмі, порушуючи функцію нирок [159, 177, 212, 320]. Багатогранність фармакологічних ефектів, властивих для біолігандів Германію, свідчить про доцільність їх застосування як складових

компонентів цілеспрямованого синтезу нових комплексних сполук Германію, що можуть використовуватися в біології, медицині, ветеринарії.

Германій є одним із мікроелементів на основі якого на даний час створюють й інші комплексні сполуки, яким притаманний широкий спектр фармакологічних ефектів – від нейротропної дії до органотропної, включаючи панкреатотропні та гепатотропні. У даний час намітилися нові перспективні шляхи синтезу органічних комплексних сполук Германію з корисними біологічними властивостями, що базуються на основах нанотехнології [81].

Деякі сполуки Германію мають противірусні властивості. У дослідах на тваринах і в медичній практиці виявлено противірусні ефекти стосовно збудників грипу типів А і В [161], цитомегаловірусу [281], ДНК- і РНК-вірусів, у тому числі гепатитів А, В [306]. Застосування германійвмісних сполук зумовлювало збільшення виживання тварин, інгібування розмноження вірусу в тканині, підвищення синтезу антитіл [332]. Сполуки германію успішно застосовувалися за лікування різних форм СНІДу [6, 352].

Деякі сполуки Германію виявилися ефективними для застосування їх за артеріальної гіпертензії [219, 305]. Вони ефективно знижують не тільки систолічний, але й діастолічний артеріальний тиск. У низці досліджень переконливо відзначається кардіопротекторна дія сполук германію за гострої серцевої ішемії [184, 266]. Спостерігався позитивний ефект за лікування сполуками германію стенокардії [6, 85].

1.2. Біологічна дія мінеральних та органічних сполук Германію

Германій є біотичним мікроелементом, його споживання в органічній формі повинно становити не менше 0,5 мг/добу [53, 99, 103]. З харчовими продуктами людина отримує цей елемент у декілька разів менше. Дефіцит Германію в організмі посилює стан гіпоксії в організмі за умов фізичних навантажень, дії стресових чинників, внаслідок чого може порушуватись робота органів і систем. Основні прояви фізіологічно вираженого дефіциту Германію – це синдром хронічної втоми, зниження фізичної та розумової працездатності, гіповітамінози,

підвищений ризик розвитку ішемічної хвороби серця, інсультів, остеопорозу, вірусних захворювань і процесів імунодефіциту [6, 71, 160].

Механізм біологічної активності Германію пов’язаний з особливостями електронної будови його атомів [6, 93], що містять 32 електрони, з яких 4 знаходяться на зовнішньому електронному рівні і мають високу хімічну активність. У такому випадку будь-який вільний електрон, що поблизу, буде прагнути заповнити цю втрату, а Германій — відновити свою звичайну електронну будову [243, 347]. В організмі атом Германію може взаємодіяти з іонами клітин і тканин, знижуючи їхній мембранний потенціал, який у злоякісних клітин вищий, ніж у нормальних. Германій вивільняє ракові клітини від «зайвих» електронів, знижує їхній електричний заряд, що гальмує проліферативну здатність [211, 250, 272]. Можливо, знеболювальна дія органічних сполук Германію також пов’язана з його здатністю «перехоплювати» вільні електрони. Больові імпульси передаються з периферії в мозок нервовими клітинами за участі нейромедіаторів і своєрідного електронного ланцюга [30, 257]. Припускають, що сполуки Германію гальмують або зовсім припиняють рух електронів, подібно іншим відомим анестезуючим засобам [67, 68, 84, 168, 221].

У 1967 році професором К. Асаї [160] синтезовано водорозчинну органічну сполуку Германію із загальною формулою [Ge(CH2CH2COOH)O1,5]n — бета-карбоксиетилгермсесквіоксан (КГС), що має полімерну структуру. На даний час фізіологічна активність цієї сполуки, відомої також як Ge-132, найбільше вивчена, широко застосовується в медицині, біології та ветеринарії [22, 161, 168, 206]. Вказана сполука характеризується широким спектром біологічної і терапевтичної дії: протипухлинною, протизапальною, імуностимулюючою, противірусною та знеболюючою, також відомі її гіпотензивні і нейротропні властивості [18, 30, 92, 250, 307]. Це дало розвиток хімії германій-органічних сполук, як лікарських засобів, а також зумовило вивчення їх біологічної активності.

Дослідження Ge-132 вказують на його ефективність за терапії раку в післяопераційний період, також його застосовують для лікування опіків, низки серцево-судинних захворювань, гепатитах [16, 154, 247, 280, 281] та для

нормалізації роботи печінки [18, 157]. Протипухлинна дія Ge-132 спричинена підвищенням активності натуральних кілерів (NK) та гуморального імунітету [52, 303, 342, 358]. Високу протипухлинну активність показав γ-тіокарбамідпропіл сесквіоксид германію на клітинах раку тонкої кишки і гепатоцелюлярної карциноми, тоді як Ge-132 до них був не активним [247, 368]. Це вказує на більшу антиканцерогенну активність похідних Ge-132, зокрема його складних ефірів, ніж вихідного комплексу.

1.2.1. Імунофізіологічний вплив сполук Германію

Імунна система на рівні з нервовою, гуморальною і ендокринною є однією з важливих інтегруючих ланок системної регуляції імунофізіологічних функцій [3, 56]. Взаємодія між нейроендокринною та імунною системами сприяє формуванню імунної відповіді та гомеостазу. В утворенні імуносинапсів і нейросинапсів задіяно гомологічні або аналогічні розпізнавальні білки, деякі сигнальні молекули функціонують в роботі центральної нервової системи та в імунних зв’язках [3]. Імунна система є складно організованою багаторівневою структурою, що за участі хімічних елементів постійно реагує на численні екзогенні й ендогенні агенти, подразники, сигнали [83]. Мікроелементи, як унікальна група біологічно активних речовин, у значній мірі визначають збалансоване функціонування імунної системи та імунофізіологічний стан організму [137, 312]. Одним із актуальних завдань сучасної імунофізіології вважається вивчення впливу нових імуноактивних сполук та елементів в організмі у взаємозв’язку з функціонуванням окремих його органів і систем. Дослідженнями вчених різних країн останніх років досягнуто значного поступу у розумінні молекулярних механізмів мікроелементного обміну і його значення в процесах росту, проліферації і загибелі клітин, функціонуванні окремих систем, органів та цілого організму [13, 70, 360].

Мікроелементи необхідні для проходження фізіологічних і біохімічних реакцій, вони каталізують діяльність ензимів, гормонів, підтримують кислотно-лужний оптимум тканин [65, 322]. Для стабілізації захисних сил організму

потрібен повний набір необхідних мікроелементів. Зміна співвідношення життєвоважливих хімічних елементів впливає на імунний статус, може викликати порушення процесів імуногенезу та імунної відповіді. Недостатність деяких мікроелементів може бути причиною розладів або патологічних станів внутрішніх органів і систем, особливо в критичні онтогенетичні періоди, вагітності та лактації [13, 65, 70, 360]. Крім того, концентрації мікроелементів у тканинах і рідинах організму повинні знаходитись в оптимальному співвідношенні, дисбаланс якого призводить до зниження його імунофізіологічної здатності з можливістю розвитку різноманітних патологічних станів [169].

Імунофізіологічну активність організму визначають такі молекулярні фактори тканинного метаболізму, як позаклітинна ДНК, глікопротеїни, запальні цитокіни тощо [2, 312]. Ці молекулярні сигнали здатні запускати імунофізіологічні механізми активації імунної та інших фізіологічних систем і компенсаторно-гомеостатичних реакцій, на перебіг яких суттєво впливають біологічно активні речовини, зокрема, й сполуки Ge. Залежно від хімічної будови, дози і шляхів уведення, мінеральні та органічні сполуки і комплекси Ge можуть мати стосовно імунної системи стимулювальний або супресорний вплив [18, 24, 260].

Германій у вигляді мінеральних сполук збільшує кількість еритроцитів, гемоглобіну та тромбоцитів, тим самим стимулюючи утворення червоних клітин крові [24, 367]. Германій оксид (GeO_2) може сприяти еритроцитопоезу і має певний терапевтичний ефект за анемічного стану організму [211, 212]. Ge-132 збільшує експресію клітинного стимулюючого фактора IL-3 у багатофункціональних гемопоетичних стовбурових клітинах. Він включається в регуляцію диференціації та проліферації багатофункціональних гематопоетичних стовбурових клітин та клітин-попередників, і може виявляти регулюючий гемопоетичний вплив в організмі [253, 385]. Спірогерманій може сприяти підтримці фізіологічного рівня в організмі клітин кісткового мозку [323].

Імуномодулююча активність германій-органічних полімерів гермсесквіоксанового типу виявляється здатністю індукувати в організмі

ендогенний інтерферон, що є одним з факторів лімфокінового каскаду імунної системи [45, 214].

Синтез інтерферону в організмі регулюється як ендогенними, так і екзогенними чинниками, тому їхня продукція може збільшуватись у відповідь на дію як природних, так і синтетичних індукторів. На даний час індуктори інтерферону є найбільш універсальними імунофармакологічними засобами регуляції дисбалансу імунної системи, профілактики вірусних і пухлинних захворювань. Пошук нових індукторів інтерферону серед сполук Германію в якості селективних засобів дії на систему інтерферону на даний час є одним з перспективних напрямів [230, 231, 257].

Германій блокує синтез протеїнів у клітинах пухлин і виявляє онкостатичну дію. Низка авторів пов’язують протипухлинну дію Германію не з цитотоксичним ефектом, а його впливом на імунну систему. Виявлена кореляція між протипухлинною дією сполук Германію та активуванням макрофагів, продукцією інтерферону. Противірусна дія Германію пояснюється стимуляцією продукції інтерферону, зміною активності натуральних клітин кілерів, активуванням макрофагів і Т-клітин.

Германій стимулює вироблення імунного (гамма) інтерферону, активує макрофаги і перетворює їх на кілер-макрофаги, стимулює активність натуральних кілерів, збільшує продукцію Т-супресорних клітин [224, 256]. З дослідів на тваринах відомий стимулюючий вплив Германію на імунітет та відновлення зниженої імунної відповіді у мишей старшого віку [229].

Германій поліпшує мікроциркуляцію у тканинах, збільшує збагачення тканин киснем і застосовується для лікування ран, виразок, опіків, обморожень.

У мишей, заражених вірусом грипу, германійорганічні сполуки індукували α-інтерферон та збільшували активність клітин натуральних кілерів, що сприяло гальмуванню росту вірусу, підвищенню вироблення антитіл [52]. Препарат на основі карбоксиетилгермсесквіоксану, запатентовано як ліки для домашніх тварин проти захворювань, викликаних вірусами та бактеріями [295, 296].

Германій-органічні сполуки впливають на центральну нервову систему, більшість з них виявляють нейротропну дію депремуючого типу [30, 94]. Також встановлено виражену протисудомну активність Германію у поєднанні його з бурштиновою кислотою [100, 141]. Доведено, що залежно від хімічної будови, доз і шляхів введення, органічні сполуки Германію можуть мати імуностимулюючу дію з індукцією γ-інтерферону, який бере участь у імунокорекції Т-клітин, натуральних кілерів і макрофагів, або виявляти імуносупресивні ефекти з пригніченням синтезу антитіл [24, 163]. В Японії двооксид германію використовується як імуностимулятор за СНІД'у [144, 187, 363].

Встановлено, що у лабораторних щурів Германій поглинається з травного каналу рівномірно і розподіляється між еритроцитами та плазмою у співвідношенні 2:3. У кроликів і собак за внутрішньовенного введення GeO_2 найвищі концентрації Ge були виявлені в нирках, печінці, селезінці, шлунково-кишковому тракті та кістках. У венозній крові Германій більше локалізується в еритроцитах, а в артеріальній — у плазмі [5].

У 2,2'-оксиетантіолів Германію також вивчена протипухлинна дія на 7 видах ракових клітин і вказано нижчу цитостатичну активність, порівняно до цис-пластин та етопозидів [67, 310].

Препарати Германію практично не виявляють токсичності за перорального введення мишам, але можуть бути індукторами ендогенного синтезу інтерферону, що стимулює активність природних кілерних клітин [214]. Германійвмісні сполуки є стимуляторами продукції інтерлейкіну-4 (IL-4), що підвищує природну кілерну активність крові та впливає на диференціювання прекурсорів Т-хелперів (Th2). У свою чергу, такі сполуки посилюють синтез широкого спектру інтерлейкінів (IL- 3, -4, -9, -13), що також стимулюють природну кілерну активність [73]. Наразі відомо, що дія g-інтерферону та IL-4 на пухлинну лінію фібробластів сприяє інгібуванню росту пухлини, індукованої фактором некрозу. У той час як продукція металопротеїнази-3-стромелізин і колагенази порушують цілісність екстрацелюлярного матриксу, а інтерферони a, b, g беруть участь в упорядкуванні архітектоніки екстрацелюлярного матриксу [59]. Цей процес

посилюють германійорганічні сполуки, сприяючи підвищенню активності природних кілерних клітин та гальмуючи метастазування пухлинних клітин.

На даний час досить детально досліджено вплив деяких германійорганічних сполук на морфогенез тканин [197, 349]. Отримано важливі дані щодо позитивного впливу карбоксиетилгермсесквіоксану $(O_{1,5}GeCH_2CH_2COOH)n$ на мінералізацію кісток та доведено високу терапевтичну ефективність даної сполуки на експериментальній моделі остеопорозу в щурів [220]. За вивчення впливу 1-ізопроксигерматрану на проліферативно-репаративну функцію сполучної тканини встановлено стимулюючий ефект цієї сполуки, що проявлявся в значному збільшенні вмісту в клітинах цієї тканини нуклеїнових кислот, колагену, глікопротеїнів – глікозаміногліканів на тлі її високої біосинтетичної активності [69].

Германій запобігає надмірній пігментації шляхом пригнічення проліферації меланоцитів при меншій концентрації (понад 0,08 мкг/мл). Зокрема, Ge-132 знижує синтез меланоцитів шляхом зменшення кількості органел, збільшення апоптозу та пригнічення активності тирозинази [278]. Також, Ge-132 запобігає утворенню катаракти шляхом посилення розчинення глікозильованих протеїнів і підвищення активності Na^+–K^+–ATP ферментів [186, 204, 298, 311]. Ge-132 пригнічує розвиток некрозу тканин печінки та збільшення сироваткової глутамінової піровиноградної трансамінази, за умов дії тетрахлориду вуглецю у мишей.

Частота фагоцитозу, індекс фагоцитозу та фагоцитоз макрофагів у мишей можуть бути суттєво покращені шляхом введення відповідних доз органогерманію або неорганічного германію [147, 190, 191, 358]. Згодовування зерна ячменю, що містило підвищену кількість Германію, значно покращувало фагоцитоз перитонеальних макрофагів у здорових мишей [313]. Дослідження показали, що Ge-132 стимулює імунні клітини, індукуючи активацію NK-клітин і макрофагів [230]. Ge-201 за умов внутрішньовенного введення підвищував показники фагоцитозу у мишей [385]. Встановлено, що біотит германію може підвищувати активність лізоциму в організмі [338].

Германій впливає на гуморальний імунітет, головним чином через дію на антитіла або антитілоутворюючі клітини. Відповідна доза Германію суттєво збільшувала кількість антитіл проти курячих еритроцитів і чисельність клітин, що продукують антитіла у мишей [313]. Германій цитрат, введений протягом 7–12 днів (200×10^{-6} та 400×10^{-6} відповідно в день), підвищував рівень антитіл до гемолізу еритроцитів [270], а Ge-132 — гуморальну імунну відповідь у мишей [357]. Органогерманій або оксид германію аміно кислоти (Ge-401) збільшував здатність мишачих В-лімфоцитів до вироблення антитіл [229]. Сироваткові антитіла та рівні Ig G і Ig M значно зростали у курчат, отриманих від курей батьківського покоління, яких утримували на германієвій дієті [197]. Германійвмісні дріжджі також можуть збільшувати вироблення антитіл, стимулюючи функцію В-клітин [185]. Високий рівень титрів Ig G та Ig A у сироватці крові та слині спостерігався у групі, що отримувала біотит германію [338].

Вплив Германію на клітинний імунітет відбувається переважно через Т-клітини, які є основними елементами, що беруть участь у його виробленні. Деякі дослідження показали, що Ge-132 може сприяти підвищенню швидкості трансформації Т-лімфоцитів у курчат, заражених вірусом Марека [174]. Крім того, Ge-132 може не тільки суттєво підвищувати цитотоксичність NK-клітин до клітин-мішеней, але й збільшити співвідношення загальних субпопуляцій Т-лімфоцитів (CD3 +, CD4 +, CD8 +) та окремих їх рівнів, зокрема CD4 + / CD8 + [327, 358, 382]. Біотит Германію може збільшувати відсоток CD4 + -лімфоцитів та основних комплексів гістосумісності (MHC) I + II + у мононуклеарних клітинах периферичної крові (PBMC), реагуючи на стимуляцію за допомогою ConA [338].

Органогерманій індукує клітинне утворення інтерлейкіну (ІЛ) та інтерферону (IFN) [280]. Наприклад, Ge-132 володіє значною активністю у стимулюванні генерації екзогенного IFN у курей [147, 333, 340]. Рівні експресії гена IFN-γ, IL-1α, IL-1β та IL-4 також були значно підвищені після обробки біотитом германію [338]. Тому вплив Германію на імунітет в основному задіяний

на розвиток імунних органів, зростання кількості імунних клітин, вироблення антитіл або імуноглобулінів і цитокінів.

Отже, аналіз літератури вказує на те, що сполуки Германію є активними щодо посилення клітинної імунної функції організму тварин. Механізми імунофізіологічного впливу сполук Германію можуть також відноситися до окисної функції, оскільки він бере участь у регуляції ліпідного обміну та кисневого метаболізму в організмі. Крім того, Германій впливає на активність деяких ензимів субклітинних органел імунних клітин та органів, створюючи прямий або непрямий вплив на імунну систему.

1.2.2. Репродуктивна й онтогенетична функції організму за дії сполук Германію

Германій у вигляді органічних сполук, у тому числі отриманих методом нанотехнології, підвищує розвиток організму тварин шляхом збільшення вмісту йоду, а також три- і тетрайодтироніну та посилює метаболічну функцію організму [196, 288, 295, 375]. Застосування Ge-132 у курей зумовлювало збільшення маси їх тіла [261, 355], прискорювало початок яйценосності, покращувало запліднення [199] та інкубаційну якість яєць [355], а також виведення курчат [350]. Органогерманій виявляв певний вплив на репродуктивну здатність і регуляцію ендокринної системи в інших тварин [38, 41, 61, 86, 143, 202]. Інші германієві сполуки, такі як колоїд або біотит германію, теж мають позитивний вплив на ріст і репродуктивну здатність тварин [194, 232].

Згодовування свиноматкам препарату «Германій» в кількості 1,16 та 11,16 мкг/кг маси тіла протягом 2–10 діб перед опоросом збільшувало на 6,0–19,8 % масу тіла поросят при народженні [60]. Також встановлено, що згодовування препарату в останню декаду опоросу сприяє збільшенню багатоплідності у 66,6 % свиноматок. Подальше згодовування препарату свиноматкам протягом 6–8 діб підсисного періоду в цих кількостях зумовлювало також підвищення інтенсивності росту поросят, що сприяло збільшенню маси тіла

на 11 добу їх постнатального розвитку на 12,7 і 25,8 % порівняно до контролю (2,19 кг). Загальна маса гнізда разом із підсадними поросятами в дослідних групах була більша на 11,4 і 16,5 %. Отже, згодовування свиноматкам препарату «Германій» на першу декаду підсисного періоду стимулює ріс поросят-сисунів без зміни їх виживання.

Разом з тим відомо, що окремі лікарські речовини і препарати, в тому числі мінеральні сполуки Германію, при надходженні в організм людини чи тварин разом з їжею чи кормом або в результаті обробок, можуть негативно впливати на репродуктивну функцію тварин, викликаючи ембріотоксичну, тератогенну, гонадотоксичну дію [138, 139]. Дослідженнями різних концентрацій оксиду германію на мишах доведено дозозалежний вплив Германію на організм тварин [91]. Описано випадки гострої ниркової недостатності з високим рівнем накопичення Германію у різних тканинах людей за вживання високих доз його оксидів [148]. Виявлено також випадки ниркової недостатності, індукованої довготривалим вживанням Германію. Matsusaka зі співавторами [218] встановили, що GeO_2 у високих дозах може безпосередньо викликати пошкодження нирок у тварин, його токсичний ефект зумовлює також нефротоксичну дію у людей. Спірогерманій викликає тимчасові неврологічні симптоми, включаючи парестезію. Дослідження на щурах, які отримували високі дози GeO_2 перорально, вказують на розвиток в них міопатії [159].

Введення внутрішньоочеревинно щурам та внутрішньовенно кроликам Ge-132 у дозах 1000 і 500 мг/кг відповідно не зумовлювало тератогенного впливу. Однак дослідження, проведене з використанням щурів відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я та Міністерства охорони здоров’я Канади показало, що стара форма «Sanumgerman®» викликає аномалію плоду і спричиняє вади розвитку скелета та дефекти кісток [160]. Дія препарату на організм вагітних самиць щурів була мінімальною і ніякого шкідливого впливу не спостерігалося. Однак, оксид диметилгерманію викликав анофтальмію, пупкові грижі та аномалії кінцівок у зародках курчат. Введення внутрішньовенно вагітним самицям хом’яків триоксиду германію в кількості 40 та 100 мг/кг зумовлювало на

8-му добу його дії підвищену резорбцію ембріонів, але не викликало ніяких інших очевидних змін.

Застосування глибоко тільним коровам препарату герматранолу (герматранол-гідрату), впливало позитивно не лише на показники їх імунного стану, але і на народжених ними телят [172].

Застосування германію цитрату з питною водою самицям щурів у різних дозах підвищувало інтенсивність росту їх організму до запліднення, багатоплідність та показники життєздатності щуренят [107, 111, 112]. Результати дослідження з випоювання самицям щурів германію цитрату в дозі 10, 20 і 200 мкг Ge, вказують на відсутність достовірно вираженої токсичної дії цієї сполуки, отриманої методом нанотехнології, на організм щурів в ембріональний і фетальний періоди [107].

Випоювання з водою Ge цитрату самицям щурів в період фізіологічного і статевого дозрівання сприяє підвищенню інтенсивності їх росту зі збільшенням показників маси тіла порівняно з контрольною групою, що більше виражено у тварин, які отримували 10 і 20 мкг Ge/кг маси тіла. Разом з тим дія германію цитрату покращувала показники репродуктивної функції самиць щурів зі зниженням ембріональної та фетальної смертності на тлі вищої збереженості щуренят до відлучення [107, 109, 111]. Характерно, що випоювання лимонної кислоти самицям щурів до запліднення, під час вагітності та лактації не покращувало показників їх репродуктивної здатності та збереженості щуренят [108], що вказує на виражений стимулюючий вплив германію, а не цитрату на функцію відтвореня у цих тварин. Крім того, дослідженнями ембріотоксичності з визначенням до- та післяімплантаційної загибелі ембріонів, сенсорно-рухових рефлексів та поведінкових реакцій не встановлено вірогідних ріниць у тварин дослідних і контрольної груп за дії різних (низьких, середніх і високих) доз германію цитрату [107, 109-111]. Однак відзначено стимулюючий вплив низьких і середніх доз Германію на показники онтогенетичного розвитку самиць щурів у період після відлучення, фізіологічного та статевого дозрівання і вагітності [112]. Вивчення впливу водного розчину германію цитрату у статевозрілих самиць

мишей вказує на активацію овогенезу та підвищення якості яйцеклітин за дії низьких доз Германію [86].

Реакція організму щурів на випоювання різних доз германію цитрату підтверджує більше виражений біологічний вплив Ge в дозі 2,5 мг/кг маси тіла, що характеризувалось підвищенням показників маси тіла на 4,4-6,9 % і маси внутрішніх органів — на 5,2-7,5 % впродовж дослідного періоду [202].

Дослідження впливу 100, 200, 300 мкг Ge/кг маси тіла щурів вказують на значно вищі коефіцієнти маси нирок тварин які отримували 200 та 300 мкг на тлі нижчих їх значень для селезінки. Автори стверджують про більше виражений вплив германію в кількості 200 і 300 мкг на формування внутрішніх органів у тварин протягом постнатального періоду, а також на електролітний баланс організму та його імунну і кровотворну здатність [183].

Цитрат Ge, застосований на тлі ендотоксемії, чинив виражений цитопротективний ефект на клітини гранульози: послаблював генотоксичний стрес, значно зменшував загибель та підвищував життєздатність клітин. Введення цитрату Ge покращувало якість ооцитів (за даними мейотичного дозрівання), що принаймні частково, пов'язано з його протективною дією на клітини мікрооточення ооцитів [86].

1.2.3. Антиоксидантна і детоксикаційна здатність організму за дії сполук Германію

Сполуки Ge мають антиоксидантні властивості, що пояснюється активуючим впливом на ферментативні (СОД, каталаза) і неферментативні (глутатіон) ланки антиоксидантної системи захисту організму. Як антиоксидант Ge запобігає пероксидному ушкодженню мембран, збільшуючи оксигенацію клітин і виведення токсинів з організму. Такий вплив сполук Ge зумовлює поліпшення метаболічних і біохімічних процесів в головному мозку і постачання до його тканин кисню.

Германій допомагає зв’язуванню вільних радикалів і посилює антиоксидантну здатність організму. Органогерманій знижує перекисне окиснення ліпідів у плазмі, тканинах печінки, мозку та захищає клітинну мембрану від пошкоджень [170, 195, 267, 378]. Органічний германій, зокрема Ge-132, суттєво збільшує активність ГП і СОД у крові бройлерів [349, 351] та зменшує кількість вільних радикалів у печінці та нирках щурів [386]. Дослідженнями in vitro також доведено, що Ge-132 здатний запобігати утворенню активних форм кисню пошкодженими клітинами [302, 303]. Лактат-цитрат германію може знижувати рівень глутатіону в гепатоцитах щурів. Механізми антиоксидантного впливу органогерманію та зв’язування ним вільних радикалів полягають у збільшенні активності СОД і ГП, а також зниженні рівня перекисного окиснення ліпідів у крові. У цих процесах важлива роль належить унікальній електронній структурі Германію, зовнішні електронні рівні якого стають вільними для зв’язування іонів, що зумовлює видалення вільних радикалів [375].

Дослідження на еритроцитах кролів і мікросомах печінки виявили виразну антиоксидантну активність сполук германію, що є подібною до токоферолу [269] і вона може посилюватися за використання наноматеріалів. Крім того, Германій виявляв детоксикаційні властивості за отруєння важкими металами [6, 219]. В основі механізму антиоксидантної дії германійвмісних сполук лежить значне інгібування вивільнення арахідонової кислоти, гістаміну й синтезу простагландину Е, що супроводжується вираженим гальмуванням утворення пероксидів та їхнього внутрішньоклітинного вмісту [152].

Експериментально доведено наявність антиоксидантної дії в пропагерманію [113, 374]. Ця його властивість наштовхнула дослідників на створення нового антиоксидантного засобу на основі пропагерманію. На відміну від інших відомих антиоксидантів, які широко використовуються в косметиці, зокрема, вітамін Е, полімер пропагерманій не проникає крізь шкіру, а залишається на її поверхні, формуючи «антиоксидантну» плівку і забезпечуючи, таким чином, захист від «зовнішніх» вільно-радикальних агентів. Крім того, порівняно з іншими

«косметичними» антиоксидантами, пропагерманій відрізняється високою стабільністю *in vitro* [303].

Встановлено здатність карбоксиетилгермсесквіоксану уповільнювати розвиток амілоїдозу в мишей, а також чинити антиоксидантну дію, яка реалізується шляхом підвищення активності глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази (СОД) і каталази [374]. Вказується, що така дія, ймовірно, зумовлена антиокиснювальними властивостями Германію. За вивчення протизапальної активності германійорганічних сполук виявлено синергізм дії карбоксиетилгермсесквіоксану з глюкокортикоїдами [27].

Механізм радіозахисної дії Германію також пояснюють його унікальною здатністю виконувати роль своєрідної пастки електронів та інших негативно заряджених частинок [166]. Зокрема, вивчено радіопротекторні властивості лактат-цитрат германію, що зумовило створення на його основі різних препаратів та синтез нових сполук [361].

Радіозахисні ефекти виявлені й для інших сполук Германію, зокрема герматіазолідинів. Так, вивчення радіопротекторних ефектів комплексу GeO_2 з D-фруктозою показало, що водний розчин цієї сполуки має радіозахисну дію за введення мишам, опроміненим рентгенівськими променями. З метою створення на основі Германій органічних сполук лікарських засобів з радіопротекторними властивостями синтезовано низку гермадитіоацеталів, похідних заміщених нафтилетилімідазолідинів [309].

Противірусні властивості германійорганічних сполук встановлені стосовно вірусів грипу [149] та простого герпесу HSV-1 [73]. Вказується про вплив 1-адамантилгерматрану на перебіг гіпоксії в організмі і тривалість їх життя. За дози 50 мг/кг збільшується тривалість життя тварин в умовах гострого дефіциту кисню (на 73,8 %), а за дози 100–200 мг/кг анти-гіпоксичні властивості реалізуються і на моделі гіпобаричної гіпоксії. Характерно, що за цих умов збільшується тривалість життя дослідних тварин порівняно з контролем у 4–9 разів [287].

У процесі життєдіяльності ссавців у їх організмі постійно утворюється низка токсичних речовин. До них відноситься, зокрема, фенол, значна кількість

якого постійно утворюється в шлунково-кишковому тракті внаслідок мікробного метаболізму протеїнів і поліфенольних сполук їжі та корму у тварин [46]. Значна частина вільного фенолу всмоктується в кров і може виявляти токсичну дію. У зв'язку з цим, нормальне існування таких організмів можливе лише завдяки наявності в їх тканинах добре налагоджених механізмів детоксикації, важлива роль у яких належить парним і комплексним сполукам, що поряд з іншими детоксикантами, зокрема Ge, забезпечують знешкодження і видалення фенолу з тканин [125]. Цьому сприяє хімічна структура органічних сполук Германію, яка забезпечує їм здатність до зв'язування або хелатування (захоплення), а потім видалення токсичних і шкідливих речовин. Завдяки здатності до хелатного ефекту органічні сполуки Германію функціонують як антиоксиданти, так і окислювачі, що вказує на їх широкий спектр біологічної дії.

Відомо, що введення в організм біометалів у вигляді координаційних сполук (екзогенних комплексів), тобто у формі, наближеній до тієї, у якій метали знаходяться в біологічних системах, може призводити до реалізації цими сполуками функцій, властивих біокоординаційним комплексам природного походження (ендогенним комплексам) [78, 93, 95]. Тому, такі екзогенні комплекси металів, до складу яких входять біоліганди різної структури, завжди менш токсичні, ніж їхні неорганічні й органічні аналоги без біосубстратів.

Германій надходить в організм і зв'язується з гемоглобіном, тим самим забезпечуючи нормальний клітинний аеробний обмін [249]. Сполуки Германію можуть захоплювати іони Гідрогену, а також деякі інші шкідливі іони, що утворюються в метаболічних реакціях і відігравати важливу роль в очищенні крові та детоксикації органів і цілого організму на різних етапах їх росту і розвитку [372].

Дослідженнями інших авторів [46, 125, 300] підтверджено, що фенол знешкоджується шляхом утворення парних сполук з сірчаною і глюкуроновою кислотами, видаляється в такому вигляді з сечею разом з деякою кількістю вільного фенолу. З інших шляхів у знешкодженні фенолу певне значення має зв'язування його з кислото-нерозчинними компонентами тканин, а також

окиснення і метилювання. У зв'язку з токсичною дією фенолу нормальна життєдіяльність організмів людини і тварин можлива лише за наявності ефективних фізіологічних механізмів, що забезпечують його знешкодження і виділення.

Синтез фенолглюкуронідів відбувається, головним чином, у печінці, нирках, м'язах, слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту. Особливо важливу роль в знешкодженні фенолів шляхом утворення фенолглюкуронідів відіграє слизова оболонка шлунково-кишкового тракту. У тваринному організмі глюкуронова і сульфатна кислоти беруть участь не лише в знешкодженні фенолу, але й низки інших токсичних речовин [46, 300].

1.3. Нанотехнологічні та хімічні сполуки Германію в біології, медицині, ветеринарії

Розвиток нанотехнологій у різних галузях науки зумовлює активне вивчення можливостей використання в біології, медицині та ветеринарії нових наноматеріалів, що володіють біологічною активністю [5, 13, 38, 48, 74, 80, 182]. Перспективним напрямом таких досліджень є вивчення біологічного впливу багатофункціональних наноматеріалів, у тому числі інкапсульованих в міцелярні наноконтейнери або у вигляді композиції наночасток [5], а також органічних сполук біотичних елементів, отриманих на основі нанотехнології [51, 55, 63, 81, 202]. Серед таких елементів важливе місце займає Ge, сполуки якого виявляють широкий фізіологічний спектр імуностимулюючої [12, 24, 48, 101, 142, 202, 283], антиоксидантної [40, 49, 179, 269], антигіпоксичної [68, 85, 117, 125], детоксикаційної [4, 99, 119, 219], кардіо- і гепатопротекторної [18, 27, 94, 116, 118, 226] дії.

Встановлено імуномодулюючі властивості германію цитрату за дії 200 та 300 мкг Ge/л води, що характеризувалось підвищенням концентрації гемоглобіну, циркулюючих імунних комплексів і молекул середньої маси. Також більш ефективний фізіологічний вплив Германію відзначено за випоювання його цитрату у вказаних концентраціях на процеси пероксидації, а саме концентрації

гідроперекисів ліпідів та ТБК-активних продуктів. Отже, випоювання цитрату германію, виготовленого методом нанотехнологій, сприяє покращенню імунобіологічних показників та зниженню інтенсивності перекисного окиснення ліпідів щуренят.

Встановлена позитивна біологічна дія германію цитрату та його комплексне поєднання у складі трьох елементів – Германію, Хрому і Селену у формі цитрату, яку застосовували для самців щурів. Відзначено більше виражену дію комплексного застосування цих елементів, що підтверджується високою вірогідністю різниць порівняно до контролю [38]. Міжгрупові різниці та відмінності вмісту глікопротеїнів і їхніх вуглеводних компонентів у крові самиць щурів обох дослідних груп можуть вказувати на примірно однаковий біологічний вплив Хрому, Селену, Германію в II, та Хрому і Германію в III групі, що зумовлювало активацію імунобіологічної системи організму.

Згодовування гусенятам з комбікормом Германію цитрату, отриманого на основі нанотехнології, позитивно вплинуло на їх м’ясну продуктивність, що сприяло збільшенню маси тушки [33, 34, 35]. Кращі забійні та м’ясні якості мали гусенята, яким вводили меншу дозу Германію, з розрахунку 0,2 мг/кг маси тіла. На високу біологічну ефективність функціональних нанометеріалів у нано- чи мікрокількостях вказують інші роботи. Зокрема, застосування з кормом значно нижчих доз аналога вітаміну Е, інкапсульованого у міцелярні наноконтейнери не спричиняло погіршення клінічного стану та активності мишей, забезпечувало високі показники метаболізму і приростів маси тіла [5 (розділ 6, с. 275-284)]. Застосування міцелярної наносистеми у високих концентраціях зумовлювало тенденцію до збільшення маси печінки стосовно контрольних тварин. Однак, порівняння з групою мишей, які отримували стандартний вітамін Е, вказує на відсутність таких різниць.

Висока біологічна активність органічних сполук Ge сприяла розробленню на основі координаційних комплексів цього елемента низки препаратів і добавок, що досліджуються, а окремі вже застосовуються у біології, медицині, ветеринарії та тваринництві [81, 90, 92, 101, 296, 297, 387, 388]. Доклінічні та клінічні

випробування різних органічних і комплексних германійвмісних сполук показали, що вони виявляють біологічну активність, але їх вплив на організм залежить від дози, форми та застосованої сполуки, тривалості дії та низки інших чинників [268, 305].

Фармакологічно активні сполуки германію розділені за хімічною будовою на декілька класів — полімери сесквіоксанового типу, герматрани, спірогерманій, органілгермани та ін. На даний час намітилися перспективні шляхи синтезу нових органічних і комплексних сполук германію з корисними біологічними властивостями [31, 57, 81]. Зокрема, синтезовано низку сполук Германію різної хімічної структури, в тому числі органічних, що мають широкий спектр фізіологічної та фармакологічної активності [57, 84, 93]. Серед них найбільш відомими є класи сульфідів, оксидів, германатів, герматранів, гермоканів, гермсесквіоксанів, спіроциклічних сполук [52, 58, 92, 243, 379]. Вивчено велику кількість похідних біс(2-гідроксиетилгерманій) сесквіоксиду [73, 145, 194]. Зокрема, синтезовано низку його складних ефірів хінолінового ряду й показано, що хіноліни підвищують протипухлинну активність Ge [210]. За цих умов найбільшу ефективність має b-(8-хіноліновий ефір) 2-карбоксиетилгерманій сесквіоксид.

З інших сесквіоксидів високу протипухлинну активність показав тіокарбамідоприлгерманій сесквіоксид [346]. Застосування його в концентрації 50 мкг/л на клітинах раку людини, зокрема гепатоцелюлярної карциноми, викликало інгібування їх росту на 70,9–92,9 %. Досліджено протипухлинну властивість германій-органічних сполук типу сесквіоксанів в дослідах на мишах з пухлиною Ерліха та аденокарциномою легень LA-795 [354]. Ці сполуки збільшують резистентність організму і продовжують життя мишей, а також сповільнюють у них ріст пухлини Люїса на 23-24 % [295]. Сесквітіани, як сірковмісні ізоструктурні аналоги карбофункціональних германієорганічних сполук, також виявляють протипухлинні властивості, підвищують активність натуральних кілерів та володіють антиметастазним ефектом [318].

Експериментально обгрунтовані й клінічно апробовані сполуки Германію запатентовані і застосовуються як медикаментозні засоби для профілактики та лікування низки захворювань та корекції імунофізіологічного стану організму, окремих систем та органів [6, 239]. Встановлено, що Германій чинить стимулюючу дію на проліферативно-репаративну функцію сполучної тканини та її епітелізацію [103]. Зокрема, застосування сполук Германію позитивно впливає на лікування катаракти [186], остеопорозу, артритів [187, 188, 219]. Спірогерманій нормалізує рівень протизапального інтерлейкіну-1, виявляє протизапальну дію за хронічних процесів, а також відновлює активність Т-супресорів [151, 164].

Органічні сполуки Германію, незважаючи на різноманіття виявлених ефектів, вирізняються більш вираженими позитивними фармакодинамічними ефектами та нижчою токсичністю, ніж неорганічні похідні [6, 24, 58, 66, 97, 220, 270, 271]. В основі таких ефектів лежать процеси інгібування катехоламінергічної й активації — серотонінергічної функцій нервової системи [248]. Відомі дані про ефективність похідних Германію: МЕДГЕРМ, МІГУ-1,2,3,4 у лікуванні хворих на різні форми епілепсії, шизофренії [68, 99, 118, 381]. Крім того, вказані сполуки виявляють знеболювальну дію [67, 84]. Деяким сполукам і препаратам Германію притаманні ноотропні й адаптогенні властивості. У модельних дослідженнях гіпоксії показаний виразний антигіпоксичний ефект Германію [219].

Інша сполука, синтезована на основі Германію і нікотинової кислоти зумовлювала протекторну активність за рахунок запобігання формуванню поширеної мембранопатії шляхом регуляції процесів тканинного дихання й активності ензимів енергетичного обміну [97]. Внаслідок впливу цієї сполуки знижується киснева потреба клітин і відбувається посилення споживання кисню в енергопродукуючих реакціях фосфорилюючого окиснення. Препарат коригує вміст основних компонентів мітохондріального і мікросомального ланцюгів гепатоцитів, стабілізуючи процеси тканинного дихання і детоксикації. Не менш важливу роль в ефекті антигіпоксії цього препарату відіграє його здатність зберігати рівень АТФ, зокрема шляхом модифікації активності ферментів енергетичного обміну.

Не виявлено негативного впливу германійорганічної сполуки 2-карбоксиетилгермсесквіоксану на імунобіологічну реактивність організму [144, 193, 247]. Відзначено нормалізацію рівня іонів кальцію, натрію, калію та хлору в сироватці крові, а також активності лактатдегідрогенази, трансамінази у хворих з карциномою печінки [27, 267]. Карбоксиетилгермсесквіоксан нормалізує кількість еритроцитів, лейкоцитів та рівень гемоглобіну у крові таких хворих.

У деяких випадках, за тривалого застосування германійорганічної сполуки, покращувалась ЕКГ хворих на ішемію серця, знижувався рівень холестеролу та інших показників ліпідного обміну. Також прослідковувалось зменшення або зникнення ангінальних симптомів. Проте, швидкого покращення за вираженого атеросклерозу, коронарної недостатності чи довготривалої ішемічної хвороби серця не було [71, 272].

Результати досліджень токсичності діоксиду Германію [212, 362, 363] на білих мишах вказують, що за одноразового введення per os абсолютна (LD_{100}), середня (LD_{50}) та мінімальна смертельні дози цієї сполуки становлять відповідно 2250, 1250 та 750 мг/кг, а абсолютно переносима доза — 500 мг/кг [91]. В інших дослідах LD_{50} цієї сполуки для мишей та щурів становила 6300 та 3700 мг/кг [363]. За тривалого застосування діоксиду германію з водою в інших дослідженнях, токсичною для щурів виявилася доза 17 мг Ge/кг, тоді як згодовування з кормом 0,9 мг/кг викликало збільшення приросту їх маси, а токсичною виявилася — 90 мг/кг [159, 265].

Велику групу біологічно активних сполук формують трициклічні германійорганічні похідні, що об’єднуються в групу герматрани [272]. Суттєвою відмінністю даних сполук від розглянутих вище є наявність координаційного зв’язку Ge←N, що дозволяє віднести їх також до ендогенних Германій органічних сполук. Серед нових герматранів отримані бензил- і бромбензилзаміщені ($R=CH_2C_6H_5,CH_2C6H_4Br$) герматрани, які показали низьку токсичність (LD_{50}>1000 мг/кг) і широкий спектр нейропротекторної активності. Зокрема, бромбензилзаміщені герматрани покращують процеси пам’яті [347]. Одна з такого роду сполук – спірогерманій, використовується для лікування раку легень і

сечового міхура, а також як хіміотерапевтичний засіб за розвитку резистентності пухлин до препаратів цис-платину, вінкристину, метотрексату або адріаміцину [6].

Синтезовано похідні герматрану з коричною кислотою [379] ($R=CH(C_6H_4OH)CH_2COOH$) і кавовою кислотою [343] ($R=CH(C_6H_3(OH)_2)CH_2COOH$, що мають низьку токсичність та виражену протипухлинну активність. Важливо, що похідні кавової кислоти виявилися більш активними. Амід триметилгермілпропіонової кислоти – аміно-аналог аскорбінової кислоти з антиоксидантними властивостями – запропонований для лікування атопічного дерматиту [264]. Інша германійорганічна сполука з триметилгермільною групою – 6-O-[3-(триметилгерміл)-β-D-глюкопіранозид – завдяки своїй високій розчинності у воді є менш токсичною, але більш активно стимулює вироблення ендогенного інтерферону порівняно з Ge-132 [345]. Синтезовано також триалкілгермілзаміщені трифторацетилфурани (R = Me, Et) і вивчено їхні анестезуючі властивості та цитотоксичність, проте ці сполуки володіють низькою протипухлинною активністю [344].

Пропагерманій має гепатопротекторні та імуномодулюючі властивості [226, 307], тому його застосовують у лікуванні хронічного вірусного гепатиту В [306]. У ряді досліджень показано антиатеросклеротичну [304, 268] та протизапальну [150] активності пропагерманію. Описано ефективність лікування пропагерманієм мієломної хвороби [192].

Широкого застосування на даний час набули біологічно активні добавки та препарати, створені на основі нових органічних сполук Германію. До цих препаратів належить Астрогерм, що виявляє антагоністичний вплив на рівень солей важких металів в організмі і є антиоксидантом [92]. Препарат оптимізує перебіг ензиматичних реакцій, підвищує імунітет та володіє радіопротекторними властивостями. Його застосовують для профілактики широкого спектру вірусних і бактеріальних інфекцій, протидії шкірним захворюванням, у боротьбі зі злоякісними утвореннями, за підвищеної втоми та стресів, сприйнятливості до інфекційних захворювань, а також станів, що супроводжуються нестачею кисню.

Герматранол (1-гідроксигерматран) — препарат широкого спектру дії, що володіє імунокоригуючими і біостимулюючими властивостями, спрямований на активацію системи макрофагів і В-клітинної ланки імунітету, застосовується для профілактики і лікування хвороб різної етіології, а також підвищення природної резистентності організму та стимулювання росту [92, 143].

Гермавіт – препарат, який крім Германію містить Калій, Фосфор, вітаміни-антиоксиданти А, Е і С, дія яких спрямована на пригнічення вільно-радикального окиснення мембранних ліпідів [92]. Препарат містить вітамін B_6, що бере участь у мінеральному обміні організму і сприяє більш повному засвоєнню Германію. Препарат стимулює імунну систему, перешкоджає виникненню простудних і вірусних захворювань, ефективний для профілактики грипу. Германій запобігає старінню і загибелі клітин організму, захищає його від отруєння свинцем, ртуттю, миш'яком та іншими важкими металами. Результати досліджень біологічної ефективності Гермавіту вказують на стимулюючу, антиоксидантну й адаптогенну дію, що є ефективним засобом профілактики шкідливих впливів на організм навколишнього середовища, сприяє підтримці фізичної і розумової працездатності при стресових ситуаціях.

Героксал – містить сполуку Германію у вигляді препарату «Єніогерм С», а також лактозу, гумміарабік, поліетиленгліколь, двооксид титану. Це ефективний засіб нового покоління, що сприяє нейтралізації негативних наслідків застосування окремих ліків, у тому числі, антибіотиків. Стимулюючи внутрішньоклітинні механізми детоксикації, цей препарат знижує до мінімуму токсичну і негативну дію лікарських засобів. Він посилює постачання клітин киснем і енергією, сприяє їх самовідновленню, активує процеси тканинного метаболізму, підвищує ефективність проведеного лікування.

Максидин — до його складу входить біс(піридин-2,6-дикарбоксилат) германію, сприяє нормалізації еритропоезу та формули крові [7]. Крім того, виявлена здатність препарату підвищувати в сироватці крові собак рівні ІФН-α та ІФН-γ, порівняно до попередніх досліджень на лабораторних тваринах або in vitro [19].

Результати досліджень фармакокінетичного профілю розподілу натрій диетилентриамінпентаацетогідроксигерманат (IV) під умовною назвою Вітагерм-2 після закритої черепномозкової травми вказують, що частина цього потенційного церебропротектора розподіляється у головний мозок та серце, а також у печінку травмованих щурів. Це вказує, що Вітагерм-2 підсилює кровообіг у лімітуючих, з погляду патогенезу, гіпоксичних станів, органах та сприяє накопиченню в них потенційного антигіпоксанта. Дія препарату спрямована також на реалізацію багатьох інших фармакодинамічних ефектів, які спрямовані на органопротекцію, що, в основному, стосується і церебральних нейронів.

Співробітниками кафедри загальної та клінічної фармакології Одеського національного медичного університету ім. І. І. Мечникова тривалий час досліджується фармакокінетика та фармакодинаміка комплексних германійвмісних сполук. Встановлено, що комплекс тетрахлориду германію — сполуки МІГУ-1 (з нікотиновою кислотою), МІГУ-2 (з нікотинамідом), а також МІГУ-3 (германій з бурштиновою кислотою) зумовлюють нейропротекторну активність. Позитивний ефект відзначали за умов екстремальних кисневодефіцитних станів – різних типах гіпоксії, закритої черепно-мозкової травми, гострої церебральної ішемії, гострого та хронічного судомного синдрому, гострої інтоксикації динітрофенолами, токсичного лікарського гепатиту, кардіодистрофії [66, 89, 99, 381]. За експериментальних умов доведена наявність протизапальної, аналгезуючої, протективної, кардіовазотропної та детоксикуючої активності у цих комплексних сполук [86, 96]. Також встановлено позитивний вплив МІГУ-1, 2, 3 на метаболічні процеси, виявлена їхня мембранопротекторна дія [26, 57]. Тоді як для інших сполук германію: МІГУ-4 (оксиетилідендифосфонат германію з нікотиновою кислотою), МІГУ-5 (оксиетилідендифосфонат германію з нікотинамідом) та МІГУ-6 (германій з магнієм) – більше характерними є протизапальні та гепатопротекторні ефекти [28, 58, 140].

Низка експериментальних і клінічних робіт присвячені впливу сполук германію на патологію шлунково-кишкової системи. Доведено, що ці сполуки

мають позитивний терапевтичний ефект за лікування виразки шлунка, гепатитів, цирозу та жирової дистрофії печінки, а також за цукрового діабету та стресів [6, 18, 306, 378]. Результати досліджень порівняльної ефективності МІГУ-1, 2, 3 і есенціальних препаратів [27, 57, 93] показали значно більшу активність синтезованих біологічно активних речовин на основі Германію. За цих умов найбільш виразну гепатопротекторну дію мав МІГУ-1 [27]. Встановлено, що дана сполука, перш за все, реалізує свою протекторну активність за рахунок запобігання формуванню поширеної мембранопатії шляхом регуляції прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, внаслідок чого знижується потреба кисню для клітин і відбувається споживання кисню в енергопродукуючих реакціях фосфорилюючого окиснення. Біологічно активна речовина коригує вміст основних компонентів мітохондріального і мікросомального ланцюгів гепатоцитів, стабілізуючи процеси тканинного дихання і детоксикації. Не менш важливою в ефекті антигіпоксії є здатність МІГУ-1 зберігати рівень АТФ, зокрема, шляхом модифікації активності ензимів енергетичного обміну. У сполуки германію з нікотинамідом (МІГУ-2) встановлено захисну дію за токсичного медикаментозного гепатиту в щурів, що спровокований протитуберкульозними препаратами [16, 116, 118]. Скринінговими дослідженнями також доведено, що МІГУ-2 може використовуватися як антидот за перорального отруєння динітроортокрезолом. У комплексної сполуки германію з магнієм (МІГУ-6) виявлено детоксикуючу активність в умовах синдрому тривалого розчавлювання [99]. Наведені дані літератури вказують, що перевагою класу германій-вмісних органічних сполук, разом з їх широким спектром фармакологічної дії, є незначна токсичність та низька виразність побічних ефектів. Це створює передумови для синтезу та пошуку нових перспективних речовин на основі германію та всебічне вивчення їх ефектів.

Отже, проведений аналіз даних літератури вказує на широкий спектр біологічної дії сполук і препаратів Германію, отриманих методами хімічного та нанотехнологічного синтезу, що залежить від застосованої форми і сполуки, способу надходження в організм і його фізіологічного стану та низки інших

чинників. Одержані результати свідчать про перспективність досліджень нових сполук Германію для обгрунтування фізіологічно активних доз і з’ясування механізмів їх впливу в організмі на тканинному, органному та системному рівнях.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Загальна схема і методологія досліджень.

Експериментальні дослідження проведені протягом 2015-2017 рр. на лабораторних тваринах в умовах віварію Інституту біології тварин НААН за схемою, що наведена на рис. 2.1.

Дослідження виконані на білих лабораторних щурах обох статей двох поколінь: батьківському — F_0 та першому — F_1, які були сформовані у контрольні та дослідні групи у 2-ох дослідах. Для досліджень використовували водний розчин германію цитрату (GeЦ) (1,2 г/дм^3, pH 1,30), отриманого від ТОВ “Наноматеріали і нанотехнології” м. Київ та германію цитрату хімічно синтезованого (GeЦХС) (1,452 г Ge/0,1 дм^3, pH 0,31), що був виготовлений співробітниками кафедри загальної хімії та полімерів Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова у рамках співпраці з Інститутом біології тварин НААН.

Перший дослід провели на 5-ти групах статевозрілих самиць щурів F_0, по 5 тварин у кожній, аналогів за віком (2-2,5 міс.), масою тіла (117−118 г) та умовами утримання. Тварини контрольної (І групи) отримували стандартний раціон зі згодовуванням гранульованого комбікорму впродовж всього періоду досліду з вільним доступом до води. Тваринам дослідних груп згодовували корми стандартного раціону з додаванням до питної води GeЦ у таких кількостях (мкг Ge/кг маси тіла): II — 10; III — 20; IV — 200. Тваринам V і VI дослідних груп додавали до питної води GeЦХС в кількостях 200 і 2000 мкг Ge/кг маси тіла відповідно. Раціони щурів усіх груп відповідали вимогам і прийнятим стандартам. Випоювання розчину GeЦ і GeЦХС самицям щурів F_0 дослідних груп розпочиналось у віці 2-2,5 місяці і тривало до запліднення у віці 4-4,5 місяці, а також впродовж вагітності та лактації з контролем динаміки маси їх тіла кожні 10 діб.

Етапи досліджень	Характеристика тварин	Умови виконання дослідів
Дослід I	Самиці F_0 віком 2–2,5 міс., масою тіла 117−118 г, по 5 тварин у групі	I група (контроль) – стандартний комбікорм (СК) + вода
		II група – СК + з водою GeЦ в кількості 10 мкг Ge/кг м. т.
		III група – СК + з водою GeЦ в кількості 20 мкг Ge/кг м. т.
		IV група – СК + з водою GeЦ в кількості 200 мкг Ge/кг м. т.
		V група – СК + з водою GeЦХС в кількості 200 мкг Ge/кг м. т.
		VI група – СК + з водою GeЦХС в кількості 2000 мкг Ge/кг м. т.
Дослід II	Групи самців та самиць F_1, що формувалися з приплоду самиць F_0 відповідних груп у віці 2 міс., по 5–10 тварин у групі	I група (контроль) – стандартний комбікорм (СК) + вода
		II група – СК + з водою GeЦ в кількості 10 мкг Ge/кг м. т.
		III група – СК + з водою GeЦ в кількості 20 мкг Ge/кг м. т.
		IV група – СК + з водою GeЦ в кількості 200 мкг Ge/кг м. т.
		VI група – СК + з водою GeЦХС в кількості 2000 мкг Ge/кг м. т.

Рис. 2.1. Загальна схема виконаних досліджень на щурах

Спаровування самиць проводили перевіреними у віварії Інституту самцями у співвідношенні 3:1. Визначали заплідненість за наявністю сперміїв у вагінальному мазку, а вагітність за зміною маси тіла самиць. Контролювали кількість народжених щуренят, інтенсивність їх росту, розвитку та середню масу тіла, збереженість до відлучення. Репродуктивну функцію самиць оцінювали за здатністю тварин до запліднення, виражену у відсотках кількості запліднених самиць до загальної кількості спарованих. Постнатальний розвиток приплоду самиць оцінювали за масою щуренят контрольної і дослідних груп кожні 10 діб від моменту народження (однієї тварини та гнізда в цілому, г), а життєздатність — за кількістю загиблих і збережених щуренят у перші 2 місяці життя. На 55–65 добу після родів самиць-матерів кожної групи декапітували під легким наркозом CO_2. Від кожної самиці відбирали зразки крові та тканин внутрішніх

органів для фізіолого-біохімічних досліджень. У крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів та їх форм — лімфоцитів, моноцитів, гранулоцитів, тромбоцитів на гематологічному аналізаторі (Mythic 18), загальну кількість імуноглобулінів [64], концентрацію молекул середньої маси (МСМ) [102], циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [32], фагоцитарну активність (ФА) [64], фагоцитарний індекс та число (ФІ і ФЧ) [64], рівень церулоплазміну [2], сіалових кислот [2], гексоз, зв'язаних з білками [2], а також визначали амінотрансферазну (АсАТ і АлАТ) [54], каталазну (КА) [64], супероксиддисмутазну (СОД) [64] та глутатіонпероксидазну (ГП) активність [64], вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [64], ТБК-активних продуктів [64], загального протеїну [54], альбуміну, креатиніну, триацилгліцеролів (ТАГ), Кальцію та Фосфору на біохімічному аналізаторі («Humalyzer» 2000). У тканинах м'язів, печінки, нирок, визначали вміст фракцій фенолів [46] та Co, Mn, Zn, Fe, Cu з використанням атомно-абсорбційного спектрофотометра СФ–115ПК [64]. Крім цього, були проведені масометричні дослідження внутрішніх органів самиць щурів (F_0) з визначенням коефіцієнтів їх маси (г/кг) — відношення маси органів в грамах до маси тіла, вираженої в кг [64].

Другий дослід проведений на самцях та самицях F_1, що були отримані від самиць щурів батьківського покоління F_0 у першому досліді. Самиць та самців щурів першого покоління формували у контрольні та дослідні групи з врахуванням статі після відлучення (у віці 2–2,5 місяці) з приплоду відповідної групи батьківського покоління, і залишали на тому ж раціоні протягом всього періоду досліджень. У віці 2–2,5 та 4–4,5 місяців по 8–9 молодих самців з кожної групи було декапітовано і проведено відбір крові та тканин внутрішніх органів для фізіолого-біохімічних досліджень, що описані в першому досліді. Самиці F_1 I–IV та VI груп (по 4, 5 у кожній) були спаровані та залишені для вивчення їхньої фертильності, репродуктивної функції, а також проведення лабораторних досліджень крові та органів за методами аналогічно F_0.

Для визначення ембріо- та фетотоксичності застосованих доз GeЦ і GeЦХС самиці F_1 з вказаних груп були декапітовані на 18–20 добу вагітності, токсичну дію

визначали за кількістю жовтих тіл вагітності, до- та постімплантаційної загибелі ембріонів, а також живих подів, впливом застосованих доз германію цитрату на ріст і розвиток організму самиць F_1 за масою та коефіцієнтами маси внутрішніх органів. У тканинах печінки, нирок і м'язів було визначено вміст Ge з використанням методу атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою [64].

Евтаназію щурів (F_0 і F_1 поколінь) проводили без порушень норм гуманного поводження з лабораторними тваринами, з врахуванням загальноприйнятих біоетичних норм і дотриманням національних і міжнародних положень стосовно проведення експериментальних робіт на лабораторних тваринах [198].

Результати досліджень опрацьовували статистично, використовуючи комп'ютерну програму Excel і критерій Стьюдента.

2.2.Застосовані методи і методики досліджень

Визначення вмісту сіалових кислот резорциновим методом [2]. Метод базується на здатності резорцину при взаємодії з сіаловими кислотами утворювати сполуку синього кольору за присутності іонів Cu^{2+}. Глюкоза, манноза, галактоза та фруктоза у цій реакції утворюють сполуки жовтого кольору, які залишаються у водній фазі після екстракції забарвлення сумішшю бутанолу з бутилацетатом.

У центрифужні пробірки вносили по 0,2 мл сироватки, розбавленої фізіологічним розчином у співвідношенні 1:4, та по 10 мл етилового спирту. Проби центрифугували 15 хв. при 3000 об/хв. До отриманого осаду додавали 5 мл етилового спирту, розмішували осад і знову центрифугували 15 хв. при 3000 об/хв. Отриманий осад розчиняли в 2 мл дистильованої води. Для отримання контрольної проби у пробірку наливали 2 мл дистильованої води. У кожну пробірку додавали 2 мл резорцинового реактиву, накривали корками і ставили на кип'ячу водяну баню на 15 хв. Після охолодження додавали 5 мл суміші бутанолу з бутилацетатом, пробірки струшували і залишали на 15 хв. у холодній воді для розділення водної та органічної фаз. Верхній забарвлений (у синій колір) шар відбирали та колориметрували на фотоколориметрі з жовтим світлофільтром ($\lambda = 575–590$ нм) у кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм проти контрольної проби.

Результати виражали в одиницях оптичної густини, помножених на 1000.

Визначення вмісту гексоз, зв'язаних з білками [2]. Метод базується на властивості 96 % етанолу осаджувати глікопротеїни з сироватки крові. Вивільнені в результаті наступного гідролізу з сірчаною кислотою гексози, взаємодіючи з орциновим реактивом, забарвлюють розчин у рожевий колір, інтенсивність якого прямо пропорційна вмісту гексоз.

У центрифужну пробірку вносили 0,1 мл сироватки крові та 5,0 мл 96 % етанолу, перемішували та центрифугували протягом 15 хв. при 3000 об/хв. Надосадову рідину зливали, пробірки перекидали на фільтрувальний папір (на 30–60 с) та розчиняли осад у 5 мл етилового спирту. Після повторного центрифугування проб, надосадову рідину знову зливали, а осад розчиняли в 1 мл 0,1 н розчину їдкого натру, додавали 8,5 мл орцинового реактиву. Вміст пробірок ретельно перемішували, накривали скляними пластинками для зменшення випаровування та ставили на водяну баню рівно на 15 хв. при температурі 80 ^{o}C. Пробірки охолоджували під проточною водою протягом 5 хв. Проби фотометрували на ФЕКу з зеленим світлофільтром (λ = 500–560 нм) у кюветі з товщиною оптичного шару 10 мм. Абсорбцію вираховували стосовно показів оптичної густини контрольної проби.

Контрольну пробу готували шляхом додавання до 1 мл 0,1 н розчину їдкого натру, 8,5 мл орцинового реактиву та обробляли як дослідні.

Стандартну пробу готували шляхом додавання до 0,9 мл 0,1 н розчину їдкого натру, 0,1 мл стандартного розчину гексоз, який складається з галактози та манози в однаковому співвідношенні, концентрацією 1 г/л, 8,5 мл орцинового реактиву та обробляли як дослідні.

Розрахунок концентрації проводили за формулою:

$$C\ (г/л) = A_{дос}/A_{ст},$$

де: C — концентрація гексоз, зв'язаних з білками у сироватці крові виражена в г/л;

$A_{дос}$ та $A_{ст}$ — показники екстинкції дослідної та стандартної проб відповідно.

Визначення вмісту церулоплазміну [2]. Метод базується на окисненні п-фенілендиаміну за участю церулоплазміну. Ензиматичну реакцію зупиняли додаванням азиду натрію. Концентрація церулоплазміну прямо пропорційна до оптичної щільності продуктів реакції.

У дві пробірки вносили по 0,1 мл сироватки. В одну з них додавали 1 мл 0,5 % розчину азиду натрію (контроль). Після чого в дві пробірки вносили по 8 мл ацетатного буферного розчину та по 1 мл свіжоприготовленого 0,5 % розчину п-фенілендиаміну. Проби ставили на водяну баню при температурі 37° С протягом 1 год. До дослідної проби додавали 0,5 мл 0,1 % азиду натрію і ставили на льодяну баню на 30 хв для повної зупинки реакції. Фотометрували на ФЕКу з зеленим світлофільтром (λ = 500–560 нм) у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм. Результати виражали в одиницях оптичної густини, помножених на 1000.

Дослідження фагоцитарної активності крові [64]. Фагоцитарну активність (ФА) визначали за методом Гостева В. Є. у модифікації. З цією метою 0,2 мл гепаринізованої крові вносили в пробірку та мікропіпеткою додавали стандартизовану до 2 млрд/мл завись добової культури E.colli. Вміст пробірок добре збовтували та ставили на водяну баню за температури 37 °С на 30 хв. Потім готували мазки на предметних скельцях, висушували їх на повітрі та фарбували за методом Романовського-Гімза. У кожному мазку підраховували 100 нейтрофілів. Для повної характеристики фагоцитозу визначали фагоцитарну активність за кількістю активних лейкоцитів із 100 підрахованих і виражали у відсотках, фагоцитарний індекс – за кількістю фагоцитованих мікробних тіл, яка припадає на один активний нейтрофіл і характеризує поглинаючу здатність фагоцитів, фагоцитарне число за кількістю фагоцитованих мікробних тіл на 100 підрахованих нейтрофілів. Вираховували фагоцитарне число (ФЧ) і фагоцитарний індекс (ФІ) за формулами:

ФІ = к-сть фагоц-х мікроорганізмів / ФА;

ФЧ = к-сть фагот-х мікроорганізмів / 100.

Нефелометричний метод визначення вмісту імуноглобулінів [64]. Метод базується на здатності цинку сульфату за взаємодії з біологічними рідинами, які містять імуноглобуліни, змінювати структуру білкових молекул Ig, внаслідок чого розчин мутніє, а інтенсивність помутніння пропорційна концентрації Ig.

У пробірки вносили по 3,8 мл 18 % розчину цинку сірчанокислого і додавали по 0,1 мл сироватки крові і старанно змішували. Через 10–15 хв досліджували вміст пробірок на фотоколориметрі за довжини хвилі $\lambda = 400$ нм у кюветі з робочою товщиною 5 мм. Контролем був аналогічний об'єм 18 % розчину цинку сульфату. Із отриманих показників оптичної густини двох пробірок визначали середнє значення показника. Вміст імуноглобулінів визначали згідно з калібрувальним графіком.

Для побудови калібрувального графіка використовували стандартну сироватку крові людини, в якій заздалегідь була відома сумарна кількість імуноглобулінів. На основі цієї сироватки готували робочі проби різної концентрації для підготовки їх до фотометрії згідно з вищезгаданою методикою. З отриманих показників будували калібрувальну криву, відкладаючи на осі абсцис показники вмісту імуноглобулінів згідно з робочими пробами, на осі ординат — оптичну густину, визначену за інтенсивністю світлопроникнення.

Визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [32]. Метод ґрунтується на селективній преципітації комплексів антиген-антитіло в 3,5 % розчині поліетиленгліколю з фотометричним визначенням густини преципітату. Для проведення реакції готували два розчини: 1) – 0,1 М боратний буфер (pH 8,4) і 2) – 3,75 % розчин поліетиленгліколю. В пробірку вносили 0,6 мл сироватки крові і 1,2 мл розчину боратного буферу, перемішували і переносили по 0,6 мл суміші в окремі 2 пробірки. В одну з них додавали 5,4 мл боратного буферу (контроль), у другу – 5,4 мл поліетиленгліколю (дослід). Вміст пробірки перемішували і залишали на 60 хв. за кімнатної температури. Визначення інтенсивності преципітації проводили на КФК-3 при довжині хвилі $\lambda = 440$ нм проти кожного контролю. Результати множили на 1000 і отримували вміст

імунних комплексів в 100 мл сироватки крові. Концентрацію циркулюючих імунних комплексів виражали в одиницях оптичної густини з врахуванням концентрації розчину поліетиленгліколю.

Визначення вмісту молекул середньої маси [102]. Метод ґрунтується на осадженні високомолекулярних білків плазми крові дією хлорної кислоти і етилового спирту з наступною фотометрією супернатанту за довжини хвилі $\lambda = 210$ нм. 0,4 мл плазми крові змішували з рівним об'ємом 1,2 М хлорної кислоти, залишали на 20 хв. при кімнатній температурі і центрифугували 20 хв. при 8 тис. об./хв. Супернатант нейтралізували на холоді 3 М вуглекислим калієм. Ступінь нейтралізації оцінювали індикаторним папером, залишаючи зразки на льоду 15-20 хв для повного осадження. Центрифугували 10-15 хв. при 6 тис. об/хв. Для повного осадження високомолекулярних білків і пептидів використовували етиловий спирт – 1,0 мл на 0,2 мл супернатанту, через 10 хв. центрифугували 10-15 хв. при 6 тис. об./хв. Супернатант розводили в 10 разів бідистильованою водою, додавали по 0,4 мл надосадової рідини. Оптичну густину вимірювали на СФ-46 за довжини хвилі $\lambda = 210$ нм. Концентрацію МСМ розраховували за формулою:

$$С = Д_{210} \times 3{,}94$$

де С – концентрація МСМ в г/л

$Д_{210}$ – оптична густина зразка, виміряна при довжині хвилі 210 нм

3,94 – коефіцієнт для перерахунку вмісту МСМ у пробі, г/л

Визначення вмісту загального протеїну в сироватці крові біуретовим методом [54]. Загальний білок визначали за допомогою набору реактивів для визначення загального білка в сироватці і плазмі крові біуретовим методом. Принцип методу полягає в тому, що іони міді в лужному середовищі взаємодіють з пептидними зв'язками білків сироватки крові з утворенням комплексу забарвленого у фіолетовий колір (біуретова реакція), оптична щільність якого при $\lambda = 540$ нм прямо пропорційна концентрації загального протеїну в сироватці крові. Визначення проводили з використанням КФК–4. Вимірявши оптичну

густину досліджуваних зразків і користуючись калібрувальним графіком, визначали концентрацію білка у досліджуваних зразках (г/л).

Визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ) і аспартатамінотрансферази (АсАТ) в сироватці крові з динітрофенілгідразином [54]. У пробірку з 0,5 мл субстратного розчину (відповідно для АсАТ і АлАТ) додавали 0,1 мл сироватки крові та інкубували за температури 37 ºС 60 хв. Після цього додавали 0,5 мл 2,4-динітрофенілгідразинового розчину і витримували 20 хв. за кімнатної температури. До отриманого інкубату додавали 5 мл 0,4 н розчину їдкого натрію, добре перемішували і залишали на 10 хв за кімнатної температури. Визначення активності проводили на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі $\lambda = 540$ нм за калібрувальною кривою (мккат/л).

Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) в еритроцитах [64]. Активність супероксиддисмутази визначали за рівнем інгібування ензиматичного процесу відновленням нітросинього тетразолію за наявності NADH і феназинметасульфату.

Для визначення активності СОД еритроцити відмивали від плазми крові фізіологічним розчином за повторного центрифугування, з температурою 4 ºС. Гемоглобін осаджували сумішшю спирту з хлороформом. Для цього до 0,1 мл еритроцитів, попередньо гемолізованих і розведених у 10 разів 5 м тріс-HCl (pH 7,4), додавали 0,5 мл етанолу і 0,3 мл хлороформу. Перемішували і центрифугували 15 хв за 7–8 тис. об/хв. Активність СОД визначали в надосадовій рідині. Інкубаційна суміш містила 1 мкл ЕДТА, 1 мг желатину, 0,407 мМ НСТ, 1,8 мкМ ФМС, 0,1 мл 1 мМ NADH. Супернатант додавали в інкубаційну суміш в об’ємі 0,1 мл, що викликало гальмування відновлення НСТ. Загальний об’єм інкубаційної суміші доводили до 3 мл фосфатним буфером (0,15 М, pH 7,8). Контрольні проби містили ті ж самі компоненти, крім супернатанту, замість якого додавали адекватну кількість буфера. Запускали реакцію додаванням 0,1 мл NADH у дослідні та контрольні проби. Інкубацію здійснювали протягом 10 хв у

темноті за кімнатної температури. Оптичну густину дослідних і контрольних проб визначали на спектрофотометрі за довжини хвилі λ = 540 нм.

Активність СОД виражали в умовних одиницях/мг протеїну та визначали за формулою:

$$A = \frac{КЕ—ДЕ/КЕ \bullet 2}{c}$$

де: А — вміст протеїну в пробі, мг;

КЕ — екстинкція контрольної проби;

ДЕ — екстинкція дослідної проби.

Визначення активності каталази [64]. Ставили дослідну і контрольну проби. У дослідну пробірку вносили 0,1 мл гемолізату еритроцитів (1:10) і 2 мл 0,03 % розчину перекису водню. У контрольну пробу замість гемолізату еритроцитів вносили 1 мл 4 % розчину молібдату амонію і 2 мл 0,03 % розчину перекису водню. Інкубували 10 хв і додавали 1 мл 0,25 N H_2SO_4. Потім у дослідну пробу давали 1 мл молібдату амонію, а в контроль — 0,1 мл гемолізату еритроцитів. Центрифугували 5 хв за 3000 об/хв. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі за довжини хвилі λ = 410 нм проти води.

Активність каталази (А), виражали в мМоль/хв×мг протеїну та визначали за формулою:

$$A = \frac{КЕ–ДЕ \bullet 4 \bullet n}{110{,}6 \bullet 10 \bullet 0{,}1 \bullet c}$$

де: А — активність каталази, мМоль/хв×мг протеїну;

с — вміст протеїну в пробі, мг;

КЕ — екстинкція контрольної проби;

ДЕ — екстинкція дослідної проби;

4 — загальний об’єм суміші в кюветі, мл;

n — розведення вихідного екстракту;

0,1 — об’єм екстракту, мл;

110,6 — коефіцієнт екстинкції перекису водню;

10 — час інкубації, хв.

Визначення активності глутатіонпероксидази [64]. 100 мкл гемолізату еритроцитів інкубували з 830 мкл тріс-HCI буферу, який містив ЕДТА і NaN_3, протягом 10 хв, додавали 70 мкл гідроперекису третинного бутилу та інкубували 5 хв за 37 °С. Реакцію зупиняли додаванням 0,4 мл 10 % ТХОК. Проби центрифугували за 8000 об/хв протягом 10 хв. У пробірки, які містять 5 мл тріс-HCI буферу, вносили 0,1 мл супернатанту і додавали 100 мкл реактиву Елмана. Через 5 хв вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі за довжини хвилі λ = 412 нм.

Активність ГП, виражену в мкМ глутатіону/хв×мг протеїну, розраховували за формулою:

$$A = \frac{ЕК – ЕД/11,4}{5 \bullet c}$$

де: А — активність ГП;

с — вміст протеїну в пробі, мг;

ЕК — екстинкція контрольної проби;

ЕД — екстинкція дослідної проби.

Визначення вмісту гідроперекисів ліпідів [64]. В пробірки відбирали 0,2 мл плазми крові, яка містить 0,5 мг/мл оксалату натрію в буферному розчині pH 7,4, поміщали в центрифужну пробірку з добре фіксованим корком, додавали 2,8 мл етанолу і 0,05 мл 50 % розчину ТХОК. Пробірку закривали і струшували протягом 5–6 хв. Утворений білковий осад виділяли центрифугуванням протягом 10 хв при 3000 об/хв.

Визначення гідроперекисів ліпідів: 1,5 мл етанольного екстракту доводили етанолом до 2,7 мл, струшували і додавали 0,02 мл концентрованої HCI і 0,03 мл 1 % розчину солі Мора в 3 % розчині HCI. Вміст струшували і через 30 с додавали 0,2 мл 20 % розчину тіоціанату амонію, після чого утворювалось малинове забарвлення. Вимірювання оптичної густини проводили протягом 10 хв після додавання тіоцианату амонію на спектрофотометрі за довжини хвилі λ = 480 нм. Контрольну пробу готували як дослідну, але замість плазми крові брали 0,2 мл бідистильованої води.

Вміст гідроперекисів ліпідів у біологічному матеріалі виражали в величинах оптичної густини за λ = 480 нм на 1 мл плазми крові ($ΔД_{480}$/мл плазми):

$$ΔД_{480}\text{ (гідроперекисів ліпідів)} = Д_{480}\text{(дослід)} — Д_{480}\text{(контроль)}.$$

Визначення вмісту ТБК-активних продуктів [64]. До 0,5 мл плазми крові додавали 5 мл 20 % фосфорновольфрамової кислоти (ФВК), пробірки закривали корками, перемішували і залишали стояти на холоді 15 хв. Центрифугували за температури 4 °С протягом 15 хв за 2500 об/хв. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали 2 мл H_2O і 1 мл 0,8 % ТБК. Перемішували, закривали корками та інкубували одну годину на водяній бані за 100 °С. Охолоджували в холодній воді. Відцентрифуговували 10 хв за 6000 об/хв.

У центрифугаті вимірювали оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі λ = 535 і 580 нм. Вміст ТБК-активних продуктів (С), виражену в нмоль/мл, розраховували за формулою:

$$C=0,21+26,5\bullet ΔД$$

де: ΔД — показник $Д_{535}–Д_{580}$

Визначення концентрації фенолів [46]. Суть методу полягає в тому, що фенол дає з реактивом Фоліна і Чіокальтеу в лужному середовищі кольорову реакцію, інтенсивність якої пропорційна до кількості фенолу.

До проб гомогенату тканин (6 г) додавали 6 мл 10 % трихлороцтової кислоти та центрифугували за 3000 об/хв. протягом 15 хв. Після цього супернатант піддавали гідролізу. В супернатанті визначали вільні феноли після нейтралізації 20 % КОН. Феноли, зв’язані з сірчаною кислотою визначали після гідролізу з 0,6 N HCl і нейтралізації 20 % КОН. Для визначення фенолів, зв’язаних з глюкуроновою кислотою, проводили гідроліз 10 N H_2SO_4 і нейтралізацію 20 % КОН.

Екстракцію фенолів проводили петролейним ефіром (4,5 мл). До 3 мл розчину проби додавали 2 мл 1М фосфатного буферу. Екстраговані феноли зв’язували 0,1 н NaOH у феноляти. Кольорову реакцію проводили реактивом Фоліна-Чіокальтеу в присутності насиченого розчину Na_2CO_3. Інтенсивність забарвлення одержаних проб вимірювали на фотоелектроколориметрі при

довжині хвилі 640 нм. Кількість фенолів визначали використовуючи стандартну криву, побудовану в аналогічних умовах з використанням стандартного розчину фенолу.

Визначення мінеральних речовин у крові та м'яких тканинах щурів на атомно-абсорбційному спектрофотометрі СФ-115 ПК [64]. Проби м'яких тканин, в атомно-абсорбційний аналізатор вносили у вигляді розчинів, які отримували шляхом сухого озолення та розчинення золи в 10 % соляній кислоті.

0,5-1 г тканин вносили у тигель і висушували у сушильній шафі при температурі 100-105 °С до повного висихання. Далі проби тканин спалювали в муфельній печі при температурі 450-500 °С. Тривалість озолення від 4 до 16 годин до одержання золи світло-сірого кольору без домішків обвуглених часточок. Після закінчення озолення тигель охолоджували, а золу розчиняли в 10 мл 10 % HCl і перемішували до повного розчинення. Готові розчини золи спектрофотометрували за визначеної для кожного елемента довжини хвилі на атомно-абсорбційному спектрофотометрі СФ-115 ПК з комп'ютерною програмою, яка забезпечувала одержання цифрових даних концентрації кожного мінерального елемента у мг/кг тканини з врахуванням маси тканини і ступеня розведення.

Кількісне визначення Ge проводили методом з використанням атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою. Суть методу — атомну емісію вимірюють методом оптичної спектроскопії. Пробу розпилюють, а утворений аерозоль транспортують у плазмовий пальник, де відбувається збудження атомів Ge. Характеристичні атомно-емісійні лінії генерує радіочастотна індуктивно-зв'язана плазма. Спектр випромінення розкладається на дифракційній ґратці спектрометра, а інтенсивність ліній реєструють детектори. Сигнали від детекторів контролюють та обробляють комп'ютерною системою. Щоб компенсувати змінний внесок фону, використовують відповідний метод коригування.

Методи гістологічних досліджень. Для гістологічних досліджень відбирали зразки тканин розміром 0,3–0,5 см з печінки, селезінки, тимусу та лімфатичного вузла кишкової брижі. Зразки фіксували в 10 % розчині формаліну та заливали у парафін згідно загальноприйнятих методів [17]. Виготовляли зрізи розміром 7 мкм на мікротомі НМ 340 Е з системою переносу зрізів та фарбували гематоксилін-еозином. Морфологічні дослідження проводили, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Фотографували гістозрізи за допомогою вмонтованої в світловий мікроскоп камери з фіксацією зображення пакетом прикладних програм Med. Cam.

Визначення фертильності самиць, пре- та постімплантаційної летальності ембріонів і плодів, життєздатності приплоду [9]. Фертильність самиць оцінювали після запліднення інтактними здоровими самцями, вираховували цей показник за співвідношенням вагітних самиць до загальної кількості спарованих самиць і виражали у відсотках (%).

Для вивчення репродуктивної функції самиць та розвитку ембріонів і плодів, вагітних самиць декапітували на 18-20 добу вагітності під дією наркозу CO_2. Після цього у тварин виділяли роги матки з яєчниками. За допомогою бінокулярної лупи проводили ретельний огляд яєчників, підраховували кількість жовтих тіл вагітності, резорбованих і живих плодів. Жовті тіла оцінювали як виноградоподібні просвіти в яєчниках жовтуватого або рожевого кольору. Число їх зазвичай бувало рівним або дещо вищим, ніж число місць імплантацій. Резорбовані плоди, які загинули на ранніх стадіях розвитку, мали вигляд невеликих темних утворень (розмірами 0,5–0,7 мм), на більш пізніх етапах – гомогенних тіл діаметром 2,5–3 мм і більше. На підставі одержаних даних експериментів визначали розвиток і летальність ембріонів та плодів за наступними параметрами:

— доімплантаційна смертність (%) – [(В − (А+ Б)): В] х 100;

— постімплантаційна смертність (%) – Б: (А +Б) х 100,

де: А − кількість живих плодів; Б − кількість мертвих і резорбованих ембріонів; В − кількість жовтих тіл вагітності.

Вивчаючи постнатальний розвиток і життєздатність потомства F_1 від щурів F_0 дослідних і контрольних груп, враховували динаміку збільшення маси тіла та індекс виживаності щуренят (число щуренят, які вижили до 2-ох місяців / число народжених).

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Імунофізіологічний та антиоксидантний стан організму самиць щурів F_0 і F_1 за дії різних доз германію цитрату

Імунофізіологічний вплив германію цитрату в організмі самиць щурів зумовлював вірогідне підвищення в крові тварин усіх дослідних груп вмісту Ig на тлі зниження молекул середньої маси порівняно з величинами їх значень у тварин контрольної групи (табл. 3.1). Вищий вміст Ig у самиць щурів дослідних груп вказує на стимулюючий вплив германію цитрату, отриманого як нанотехнологічним, так і хімічним методами, на синтез окремих їх класів у лімфоїдній тканині, що відзначали окремі дослідники за дії інших сполук Ge [52, 155, 158].

Таблиця 3.1

Вміст імунних комплексів, глікопротеїнів та їх вуглеводних компонентів у крові самиць щурів F_0 (M±m, n = 5)

Показник	Групи					
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.				
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	V – 200	VI – 2000
Імунні глобуліни, г/л	4,9±0,13	10,8±0,39***	8,5±0,53***	12,0±0,74***	10,1±0,28***	9,1±0,47***
МСМ, ум.од.	0,31±0,004	0,27±0,010**	0,26±0,003***	0,21±0,005***	0,28±0,006***	0,29±0,004**
ЦІК, ммоль/л	35,2±1,92	39,5±0,64	60,6±1,86***	63,3±4,09**	109,0±3,70***	75,5±3,43***
Гексози, зв'язані з протеїнами, г/л	1,63±0,06	1,72±0,02	1,75±0,09	1,64±0,12	1,83±0,07*	1,90±0,07**
Сіалові кислоти, ум.од.	135,6±5,23	136,4±4,51	209,4±2,66***	188,0±7,60***	198,2±7,71***	203,4±3,64***
Церулоплазмін, ум. од.	423,6±18,07	421,2±15,32	317,0±18,86**	365,2±11,84*	323,8±13,40**	271,0±13,35***

Примітка. У цій та наступних таблицях різниця статистично вірогідна порівняно з першою (контрольною) групою * — P < 0,05; ** — P < 0,01, *** — P < 0,001

Характерно, що реакція імунної системи тварин за вмістом Ig суттєво не залежала від кількості отриманого германію цитрату. Це підтверджується і

вищими міжгруповими вірогідними відмінностями порівняно до контролю вмісту ЦІК у тварин III–VI дослідних груп. Однак, випоювання найнижчої дози Ge самицям II групи не викликало статистично вірогідних змін цього показника, зберігаючи тенденцію до зростання цих комплексів у крові. Вміст гексоз, зв'язаних з протеїнами у крові тварин II, III груп виявляв слабо виражену тенденцію до підвищення, проте за дії германію цитрату, отриманого методом хімічного синтезу, їх рівень у самиць V і VI груп зростав (P < 0,05 і 0,01). Це може вказувати на вищу імунофізіологічну реакцію — відповідь організму на дію Ge в цих концентраціях у вигляді цитрату хімічно синтезованого з боку фракцій глобулінів, що найбільше містять цих моноцукрів у глікопротеїнах крові.

Аналогічну спрямованість міжгрупових різниць, крім II групи, відзначено для сіалових кислот, вміст яких був вищим (P < 0,001) у крові самиць III–VI груп, проте концентрація церулоплазміну у крові цих тварин знижувалася (P < 0,05 – 0,001). Суттєве зниження вмісту церулоплазміну у крові самиць щурів III–VI дослідних груп може зумовлюватися здатністю Ge безпосередньо підвищувати активність супероксиддисмутази. Вказаний ензим конкурує з церулоплазміном у процесах антиоксидантного захисту організму, зокрема знешкодженні супероксидного радикала, що може знижувати вміст цього глікопротеїну. Можливо, германій цитрат, як гепатопротектор, подібно до Селену, стимулював синтез антиоксидантів ензимної ланки антиоксидантного захисту організму, зокрема супероксиддисмутази. Під час експериментальної корекції Селеном кадмієвої інтоксикації у тварин встановлено позитивну динаміку вмісту церулоплазміну з повним відновленням його до рівня контрольної групи на 21–28 доби та нормалізацією стану гепатоцитів [13].

Однаково спрямовані зміни як і для церулоплазміну відзначені й щодо фагоцитарної активності крові самиць III–VI дослідних груп зі збереженням цього показника у II групі на рівні контролю. Найнижче значення фагоцитарної активності та фагоцитарного числа порівняно з контролем відзначено у самиць V групи (табл. 3.2.). Однак, фагоцитарне число було меншим (P < 0,05 – 0,01) в IV – VI групах, а фагоцитарний індекс – зростав (P < 0,05) тільки у III групі.

Таблиця 3.2

Гематологічні показники організму самиць щурів F_0 (M±m, n = 5)

Показник	Групи					
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.				
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	V – 200	VI – 2000
Фагоцитарна активність, %	27,8±0,83	27,2±0,80	23,5±0,85**	22,0±0,74***	17,6±0,87***	21,4±0,92***
Фагоцитарний індекс, ум. од	1,36±0,04	1,32±0,04	1,57±0,08*	1,32±0,09	1,48±0,13	1,40±0,09
Фагоцитарне число, ум. од	0,38±0,02	0,36±0,02	0,37±0,02	0,29±0,02*	0,26±0,03**	0,30±0,03*
Еритроцити, 10^{12}/л	7,2±0,05	6,7±0,24	7,2±0,27	6,5±0,10***	7,1±0,44	5,7±0,43**
Гемоглобін, г/л	127,2±6,76	138,2±2,48	142,5±3,42	141,2±8,38	133,0±0,91	139,4±7,37
Гематокрит, л/л	0,42±0,02	0,42±0,01	0,42±0,01	0,36±0,06	0,40±0,02	0,40±0,05
Лейкоцити, 10^9/л	8,6±0,17	9,1±0,41	3,3±0,29***	5,3±0,48***	3,6±0,43***	4,6±0,12***
Лімфоцити, 10^9/л	5,8±0,25	6,1±0,33	1,5±0,27***	2,5±0,40***	1,9±0,38***	1,9±0,36***
Моноцити, 10^9/л	0,78±0,14	0,78±0,06	0,20±0,05**	0,74±0,07	0,18±0,05**	0,66±0,10
Гранулоцити, 10^9/л	2,10±0,07	2,18±0,12	1,52±0,02***	2,12±0,08	1,54±0,02***	2,04±0,11
Тромбоцити, 10^9/л	484,7±9,4	461,4±14,6	365,4±8,5***	378,0±13,9***	295,8±9,1***	363,0±13,8***

Очевидно, застосовані кількості Ge зумовлювали дозозалежні особливості впливу на клітинну та гуморальну ланки імунної системи самиць щурів. Підвищений вміст імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів, гексоз, зв’язаних з протеїнами та сіалових кислот у крові самиць дослідних груп вказує на активацію гуморальних чинників природної резистентності організму цих тварин. Однак, нижче значення фагоцитарної активності та фагоцитарного числа у крові тварин III–VI груп може свідчити про нормалізуючий вплив вказаних концентрацій Ge як на загальну фагоцитарну активність крові, так і здатність до фагоцитозу окремих лейкоцитів.

Характерно, що Ge в концентрації 20 мкг/кг зумовлював відмінний від інших груп вплив на показники природної резистентності організму самиць

III групи. Ця відмінність відзначалася підвищенням (P < 0,05) фагоцитарного індексу на тлі нижчої (P < 0,01) фагоцитарної активності порівняно з контролем. У самиць щурів III групи фагоцитарний індекс виявляв прямий зв'язок із вищим вмістом у крові цих тварин імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів і сіалових кислот (див. табл. 3.1). Встановлені зміни фагоцитарної активності підтверджуються зменшенням кількості лейкоцитів у крові самиць III–VI груп. Характерно, що найменша доза (10 мкг/кг) не викликала вірогідних змін кількості лейкоцитів та їх окремих форм — лімфоцитів, моноцитів, гранулоцитів, а також тромбоцитів і фагоцитарної активності у крові тварин II групи. Натомість збільшення дози до 20 і 200 мкг у III, IV, V і 2000 мкг – в VI групах зумовлювало вірогідне (крім VI групи) зниження загальної кількості лейкоцитів, їх окремих форм та тромбоцитів, а також еритроцитів у крові тварин IV і VI груп. Особливість впливу Ge у нижчій дозі (20 мкг/кг) на кількість лейкоцитів і їх форм у крові самиць III групи характеризувалася більш вираженим зниженням цих формених елементів, ніж дія Ge у вищих дозах (200 і 2000 мкг/кг). Для тварин IV і VI груп не відзначено вираженої реакції організму щодо кількості моноцитів і гранулоцитів у крові, величини яких зберігалися на рівні контролю. Можливо, це зумовлено впливом багатоплідності самиць, яка була найвищою у цих групах. Між тим, для тромбоцитів найнижчий вміст відзначено у крові самиць V групи, яким випоювали 200 мкг Ge/кг м. т. з його цитрату, отриманого методом хімічного синтезу.

Аналіз гематологічних показників вагітних самиць F_1 вказує на фізіологічно виражений вплив застосованих доз германію цитрату на гемопоетичну функцію їх організму. Зокрема, у крові самиць II і III груп вірогідно зростала кількість еритроцитів і показник гематокриту (табл. 3.3). У той час як вміст гемоглобіну і кількість лейкоцитів були більшими у крові щурів II, III і VI груп. Вірогідне підвищення кількості еритроцитів, що зумовлювало зростання гематокриту та вмісту гемоглобіну, може мати важливе фізіологічне значення для функціонування організму матері та розвитку плодів у матці. Відомо, що в організмі самиць багатьох видів ссавців у період вагітності розвивається

фізіологічна анемія, яка більше виражена у багатоплідних тварин [103, 124, 139]. Очевидно, GeЦ в кількості 10 і 20 мкг виявляє стимулюючий вплив на еритропоез, що супроводжується збільшенням числа еритроцитів у крові та показника гематокриту. Однак, германій цитрат хімічно синтезований, в дозі 2 мг, у тварин VI групи вірогідно такого впливу не виявляв. Проте синтез гемоглобіну в організмі тварин VI групи, очевидно, посилювався, що зумовлювало вірогідне зростання вмісту цього протеїну в крові. Це підтверджується також слабкою тенденцією до зростання кількості як еритроцитів, так і показника гематокриту у крові цих самиць порівняно з контрольною групою.

Таблиця 3.3

Гематологічні показники організму вагітних самиць щурів F_1 (M±m, n=4, 5)

Показник	Групи			
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.		
	I	II – 10	III – 20	VI – 2000
Еритроцити, 10^{12}/л	4,7± 0,13	6,2±0,22***	5,6±0,26*	4,8±0,19
Гемоглобін, г/л	116,0±3,42	131,8±5,69*	125,0±3,19	128,2±2,94*
Гематокрит, л/л	0,29±0,013	0,37±0,006***	0,35±0,011*	0,30±0,020
Лейкоцити, 10^9/л	4,9±0,37	10,4±0,48***	7,5±0,37**	7,0±0,38**
Лімфоцити, 10^9/л	2,8±0,13	6,3±0,29***	5,1±0,20***	4,4±0,26***
Лімфоцити, %	60,2±1,32	63,2±0,35	62,8±1,43	61,7±2,22
Моноцити, 10^9/л	0,8±0,06	1,0±0,06	1,0±0,02**	1,1±0,05**
Моноцити, %	25,5±2,24	21,6±1,19	22,8±0,35	23,4±1,35
Гранулоцити, 10^9/л	2,2±0,08	2,7±0,05***	2,2±0,03	2,4±0,09
Гранулоцити, %	14,2±1,40	15,2±1,35	14,3±0,58	14,9±1,07
Тромбоцити, 10^9/л	321,5±10,20	348,8±7,63	311,5±6,95	311,4±6,85

Дослідження морфологічного складу лейкоцитів вказує на вірогідно виражений вплив застосованих доз германію цитрату на їх кількість у крові тварин дослідних груп та співвідношення окремих форм. Зокрема, у крові самиць всіх дослідних груп вірогідно підвищувалась абсолютна кількість лейкоцитів за рахунок лімфоцитів, моноцитів, а гранулоцитів — тільки в II групі. Характерно, що у самиць II групи спостерігалось більше виражене, ніж у III і VI групах, зростання числа еритроцитів, вмісту гемоглобіну та показника гематокриту.

Отже, 10 мкг Ge/кг м. т., отриманого методом нанотехнології у вигляді цитрату, зумовлює більш виражене посилення гемопоетичної здатності організму вагітних самиць щурів F_1 порівняно з дозами в 20 мкг, а також 2000 мкг Ge/кг м. т., але отриманого хімічним синтезом. Встановлені особливості дії різних доз Ge на гемопоетичну функцію організму підтверджуються також більшою кількістю гранулоцитів ($P < 0,001$) і тромбоцитів (не вірогідно) у крові тварин II групи порівняно з контролем. Відзначена спрямованість міжгрупових різниць зберігалась і для показників відносної кількості окремих форм клітин білої крові з проявом тенденції до збільшення лімфоцитів на тлі зменшення моноцитів у тварин II, III і VI груп.

Результати проведених досліджень вказують, що за тривалого випоювання германію цитрату в крові вагітних самиць щурів F_1 відбуваються зміни фізіологічних і біохімічних процесів та їх показників, що характеризують не однакову дію різних доз Ge на організм. На це вказує зростання у крові самиць дослідних груп вмісту імуноглобулінів, з вірогідним їх збільшенням на 20,9 % у III групі, а також гексоз, зв'язаних з протеїнами і сіалових кислот, крім II групи (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Імунні та глікопротеїнові комплекси крові вагітних самиць щурів F_1 (M±m, n=4, 5)

Показник	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Імунні глобуліни, г/л	6,7±0,40	7,4±0,60	8,1±0,47*	6,9±0,52	7,2±0,31
МСМ, ммоль/л	0,25±0,004	0,26±0,004	0,25±0,005	0,25±0,003	0,22±0,004***
ЦІК, ум.од.	88,0±4,32	69,8±2,02**	98,0±3,94	83,0±3,08	88,0±3,02
Гексози, зв'язані з протеїнами, г/л	3,25±0,17	3,75±0,12*	4,15±0,16**	4,19±0,13**	4,12±0,16**
Сіалові кислоти, ум. од.	114,8±2,17	119,4±4,78	133,8±4,85**	128,2±3,32*	134,2±2,87***
Церулоплазмін, ум. од.	366,8±5,62	363,7±4,50	380,6±6,83	368,8±3,17	358,8±5,32

Зростання рівня імуноглобулінів і моноцукрів глікопротеїнів у крові самиць дослідних груп, що вірогідно виражено у тварин III групи, може вказувати на стимулюючий вплив германію цитрату в дозі 20 мкг на синтез окремих їх класів у лімфоїдній тканині та печінці. Однак, ці процеси значно пригнічуються за дії збільшеного рівня естрогенів, що спостерігається під час вагітності самиць [39]. У той час як реакція організму за показниками гострої фази знижувалася, зокрема зменшувалася концентрація молекул середньої маси у крові тварин VI ($P < 0,001$) групи, порівняно з величинами у самиць контрольної групи. Вміст циркулюючих імунних комплексів зменшувався ($P < 0,01$) у крові самиць II дослідної групи за дії 10 мкг Ge, проте прослідковується тенденція до його збільшення у III групі, за дії 20 мкг Ge. Це може бути пов’язано з високим рівнем імуноглобулінів, гексоз, зв’язаних з протеїнами і сіалових кислот у крові цих тварин, а також посиленою імунобіологічною реакцією їх організму під час вагітності на підвищення дози Ge.

Характерно, що випоювання GeЦ у дозах від 10 до 200 мкг Ge не змінювало рівня молекул середньої маси і церулоплазміну в крові самиць F_1, на противагу від F_0, що вказує на фізіологічну адекватність цих доз щодо реакції протеїнових комплексів гострої фази імунної реактивності організму за умов тривалої дії германію цитрату. У той час як висока доза (2 мг) германію цитрату хімічно отриманого зумовлювала пригнічення синтезу цих молекул як у самиць F_0 (див. табл. 3.1), так і F_1, що викликало вірогідне зниження концентрації молекул середньої маси у крові цих самиць VI групи. Однак ця доза стимулювала зростання рівня інших компонентів імунної системи — імунних глобулінів, гексоз, зв’язаних з протеїнами, сіалових кислот. Стимулюючий вплив застосованих доз германію цитрату на імунофізіологічну реакцію організму вагітних самиць щурів підтверджує вірогідне збільшення у крові вмісту гексоз, зв’язаних з протеїнами на 15,4–28,9 % у всіх дослідних групах. Ця тенденція відзначена і для сіалових кислот, вміст яких у крові вірогідно збільшувався у самиць III групи на 16,5 % ($P < 0,01$), IV — 11,7 % ($P < 0,05$), VI — 16,9 % ($P < 0,001$) порівняно до контролю, що відзначали й інші автори [39]. Вірогідно вираженого впливу германію цитрату на рівень церулоплазміну у крові тварин F_1 дослідних груп не відзначено.

Підтвердженням вираженого біологічного впливу германію цитрату є також вірогідні міжгрупові відмінності показників антиоксидантної активності крові вагітних самиць щурів дослідних груп порівняно з контрольною (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Антиоксидантна активність крові самиць щурів F_1 (M±m, n=4, 5)

Показник	Групи			
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.		
	I	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Каталаза, ммоль/мг протеїну/хв	4,47±0,07	5,40 ±0,05***	4,63±0,15	4,26±0,16
СОД, ум. од./мг протеїну	1,79±0,06	1,97 ±0,012*	1,22±0,03***	1,5±0,02**
ГП, нмоль/хв/мг протеїну	48,36±1,13	63,3±0,53***	64,39±2,27***	59,0±1,53***
ГПЛ, Од. Е/мл	0,87±0,01	1,11±0,01***	1,3±0,06***	0,85±0,029
ТБК-активні продукти, нмоль/мл	5,06±0,08	4,49±0,07**	5,21±0,10	4,92±0,04

Відстежується тенденція до збільшення активності ензимів антиоксидантної системи крові за дії GeЦ, проте вірогідні зростання активності катадази (P < 0,001) і супероксиддисмутази (P < 0,05) відзначено лише у III групі, а глутатіонпероксидази (P < 0,05) в III, IV і VI групах. Немає фізіологічного пояснення вірогідне зниження супероксиддисмутазної активності крові самиць IV і VI груп за дії 200 і 2000 мкг Ge на тлі високої глутатіонпероксидазної активності у цих тварин. Можливо це пов’язано з дозозалежними змінами функціонального стану й антиоксидантного захисту окремих органів і систем організму вагітних самиць, що було відзначено за показниками імунної реактивності, зокрема вмісту імуноглобулінів, гексоз, зв’язаних з протеїнами і сіалових кислот. Зростання активності каталази у 1,20, супероксиддисмутази — в 1,10 раза у самиць III групи може вказувати на посилення синергічного зв’язку цих ензимів за умов гіпероксичної дії Ge та перетворення активних форм Оксигену в клітинах крові.

У крові самиць дослідних груп підвищувалася також активність глутатіонпероксидази в 1,33 – 1,22 раза, що вказує на однаково виражений

стимулюючий вплив GeЦ у дозах 20 і 200 мкг, але менший — в дозі 2 мг Ge, на стан клітин крові та систему їх антиоксидантного захисту у цих тварин. Доведено, що глутатіонпероксидаза захищає еритроцити від передчасного старіння та гемолізу, а нейтрофіли і макрофаги — від дії H_2O_2 та органічних пероксидів, оскільки має високу спорідненість до пероксидації [58, 71]. Очевидно, нагромадження токсичних перекисних продуктів в організмі, що відзначено в крові самиць III і IV груп, стимулює у тварин цих груп ГП, але пригнічує СОД за дії 200 мкг Ge активність антиоксидантної системи. Зокрема, у відповідь на підвищення вмісту ГПЛ зростає активність ГП. Однак, у крові самиць VI групи, які отримували найвищу дозу (2 мг Ge) з його цитрату хімічно синтезованого, вміст гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів у крові зберігався на рівні контрольної групи. Це може вказувати на більше виражений інгібуючий вплив германію цитрату у цій високій дозі на процеси пероксидації в крові вагітних самиць з нормалізуючим впливом на вміст гідропероксидів ліпідів і малонового диальдегіду, структурно-функціональні властивості клітинних мембран та обмін фосфоліпідів.

Результати цих досліджень опубліковані у Фізіологічному журналі, 2017 [122], Віснику КНУ ім. Шевченка, серія «Проблеми регуляції фізіологічних функцій», 2017 [132].

3.2. Фізіолого-біохімічні показники крові та детоксикаційна здатність організму самиць щурів F_0 і F_1 за дії різних доз германію цитрату

Застосування різних доз Ge цитрату самицям F_0 вказує на наявність міжгрупових різниць вмісту загального протеїну, триацилгліцеролів, кальцію, фосфору, аланін- та аспартатамінотрансферазної активності крові. Зокрема, у крові самиць IV-VI дослідних груп встановлено підвищення вмісту загального протеїну, порівняно з контролем (табл. 3.6). Аланін- та аспартатамінотрансферазна активність крові тварин дослідних груп була вірогідно (крім IV і VI груп) нижчою, що вказує на інгібуючу дію германію цитрату на біосинтез і виділення цих трансаміназ у кров’яне русло, або посилене

використання їх в обмінних процесах, зокрема протеїнів. Це підтверджується вищим вмістом загального протеїну у крові самиць дослідних груп за дії високих доз Ge на тлі нижчої активності АлАТ і АсАТ. Спостерігався також нижчий рівень креатиніну у крові тварин IV-VI груп, які отримували вищі дози германію цитрату. Тоді як у тварин II та III груп, які отримували 10 і 20 мкг Ge/кг маси тіла, його вміст у крові вірогідно зростав. Ці дані можуть вказувати на посилення обміну протеїнів у тварин II–III груп і зменшення у IV–VI групах зі зміною реабсорбційної функції нирок.

Таблиця 3.6

Біохімічні показники крові самиць щурів F_0 (M±m, n=5)

Показник	Групи					
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.				
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	V – 200	VI – 2000
Загальний протеїн, г/л	67,9±1,25	66,2±0,68	67,6±1,53	70,8±0,62	69,3±0,66	70,5±0,98
АлАТ, мккат/л	0,48±0,022	0,36±0,004***	0,29±0,015***	0,31±0,012***	0,29±0,01***	0,29±0,022***
АсАТ, мккат/л	0,72±0,007	0,68±0,008*	0,65±0,011***	0,68±0,017	0,64±0,009***	0,67±0,026
Креатинін, мкмоль/л	78,4±1,16	83,3±1,01*	83,4±1,31*	75,8±1,33	67,8±2,13**	67,5±1,35***
Фосфор, ммоль/л	1,96±0,06	1,72±0,07*	1,88±0,07	2,02±0,06	1,56±0,05**	1,84±0,05
Кальцій, ммоль/л	3,58±0,07	2,80±0,08***	2,08±0,07***	2,78±0,09***	2,56±0,05***	2,94±0,08**
ТАГ, ммоль/л	1,78±0,09	1,51±0,04*	1,46±0,03*	0,86±0,05***	0,88±0,03***	1,25±0,07**

Характерно, що вміст креатиніну в крові щурів II і III груп, які отримували з водою низькі дози GeЦ був вищим ($P < 0,05$), а V–VI груп, яким випоювали високі дози GeЦХС — нижчим ($P < 0,01$; $P < 0,001$). Отже, за дії високих доз GeЦХС, очевидно, послаблюється перетворення креатину в креатинфосфат, що інгібує утворення креатиніну. Тоді як малі дози GeЦ зумовлюють стимулюючий вплив на цей процес. Щодо показників мінерального обміну відзначено нижчий, але в межах фізіологічних коливань, вміст P і Ca у крові самиць дослідних груп, крім IV групи для Фосфору. Більше виражений вплив германію цитрату

відзначено на зниження (P < 0,001) вмісту Кальцію в крові самиць, що, можливо, зумовлено посиленням виділення його з молоком упродовж лактації. У крові щурів всіх дослідних груп був вірогідно нижчим вміст триацилгліцеролів порівняно до контролю (1,78 ммоль/л), що коливався від 1,18 (II група) до 2,07 раза (IV група). Це свідчить про інгібуючий вплив застосованих доз германію цитрату на синтез цієї фракції ліпідів або стимулюючий – на їх використання в метаболічних процесах незалежно від технології його одержання, що більше виражено для дози в 200 мкг Ge/кг маси тіла.

Дослідження фракційного складу фенолів у тканинах організму щурів вказують на вірогідне підвищення синтезу фенолсульфатів і фенолглюкуронідів у печінці, м'язах і нирках за випоювання самицям III дослідної групи GeЦ у кількості 20 мкг Ge/кг маси тіла (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Вміст фенолів у тканинах самиць щурів F_0 (M±m, n=3, 4)

Показник	Група	Тканина		
		печінки	скелетних м'язів	нирок
Вільні феноли, мкмоль/кг тканини	I	60,7±0,74	66,1±1,15	46,5±0,59
	II	61,1±0,71	66,8±0,68	44,6±2,29
	III	64,4±1,96	68,1±1,02	47,4±1,15
	IV	61,9±1,00	68,6±0,10	47,3±0,10
	V	63,0±1,23	71,7±2,05	46,0±2,66
	VI	61,9±1,27	70,1±1,42	47,3±0,92
Фенолсульфати, мкмоль/кг тканини	I	78,2±1,20	72,1±1,48	58,1±1,29
	II	77,8±0,92	75,5±0,88	56,1±1,34
	III	88,4±0,72***	77,8±0,60**	62,4±0,49**
	IV	84,0±1,39	77,7±1,60	56,6±1,65
	V	81,5±0,83	73,5±1,30	63,3±0,67*
	VI	81,7±1,78	78,4±1,19**	58,5±0,67
Фенолглюкуроніди, мкмоль/кг тканини	I	179,2±3,63	132,7±3,32	131,4±1,96
	II	188,5±4,53	129,6±3,44	132,3±0,77
	III	197,8±2,61**	143,8±4,46*	143,1±2,06**
	IV	191,7±3,21	137,7±2,64	140,9±1,96**
	V	203,9±3,61**	138,4±2,83	135,8±2,95
	VI	187,7±5,37	137,7±2,64	132,3±1,55

Добавка германію цитрату до води стимулювала вищий на 13,0 % (P < 0,001) рівень синтезу фенолсульфатів у печінці самиць цієї групи, скелетних

м’язах — на 7,9 % (P < 0,01), нирках — на 7,4 % (P < 0,05) та фенолглюкуронідів відповідно — на 10,4 % (P < 0,01), 8,4 % (P < 0,05) і 8,9 % (P < 0,01). Найбільший вміст фенолсульфатів і фенолглюкуронідів, на відміну від рівня вільних фенолів, спостерігався у тканинах печінки. Це вказує на стимулюючий вплив германію цитрату на детоксикаційну здатність цього органу, в якому нейтралізується основна частина вільних фенолів шляхом утворення з сірчаною та глюкуроновою кислотами парних сполук. У дослідженнях інших авторів [6, 55, 307] відзначено терапевтичні ефекти від застосування сполук германію для відновлення функції печінки. Зокрема, застосування тваринам карбоксигермсесквіоксану у період введення CCl_4 гальмує його некротичну дію і підвищення рівня трансаміназ у крові [168]. Збільшення кількості GeЦ і GeЦХС до 200 мкг Ge/кг м. т. у IV і V групах зберігало вищий рівень кон’югованих фенолів у тканинах і органах тварин. Відмічено підвищення на 7,2 % (P < 0,01) вмісту фенолглюкуронідів у нирках щурів IV дослідної групи, а також тенденцію до зростання їх рівня і фенолів, кон’югованих з сірчаною кислотою у печінці та м’язах. Це вказує на посилення фенол-комплексоутворюючої та зв’язуючої здатності організму самиць IV групи за дії підвищеної дози GeЦ.

Дещо інші результати відзначені у самиць щурів, які отримували германію цитрат, що виготовлений хімічним синтезом. Застосування даної добавки у кількості 200 мкг Ge/кг маси тіла стимулювало збільшення концентрації фенолсульфатів у нирках тварин V дослідної групи на 9,0 % (P < 0,05) та фенолглюкуронідів у печінці на 13,8 % (P < 0,01). Вміст вільних фенолів і фенолсульфатів у тканинах печінки і м’язів самиць цієї групи був також вищим, але не вірогідно. Аналогічна добавка GeЦХС в кількості 2 мг Ge/кг маси тіла у VI групі зумовлювала тенденцію до вищого рівня кон’югованих з глюкуроновою кислотою фенолів у печінці і м’язах. У тканинах скелетних м’язів вміст фенолсульфатів зріс на 8,7 % (P < 0,01). Отже, вірогідні зміни вмісту кон’югованих сполук фенолів у тканинах всіх досліджених органів спостерігалися лише у самиць щурів III дослідної групи за випоювання їм GeЦ у кількості 20 мкг Ge/кг маси тіла. Вірогідно менше вираженими такі зміни були в II, IV, V і VI групах.

Аналіз біохімічних показників крові самиць щурів F_1 вказує на міжгрупові різниці вмісту у ній альбуміну, креатиніну, Кальцію, Фосфору та триацилгліцеролів (табл. 3.8). Зокрема, відзначено вірогідне зниження вмісту альбуміну у крові самиць VI ($P < 0,05$) і не вірогідно на 9,7 % — IV ($P > 0,05$) дослідних груп. Вміст креатиніну у крові тварин VI групи, на відміну від самиць F_0 цієї групи, вірогідно підвищувався на 18,7 % зі збереженням цієї тенденції для III і IV груп. Це може вказувати на зростання інтенсивності катаболізму протеїнів і зниження абсорбційно-фільтраційної функції ниркових клубочків у щурів цих дослідних груп.

Таблиця 3.8

Біохімічні показники крові самиць щурів F_1 (M±m, n=4, 5)

Показник	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Альбумін, г/л	31,9±0,71	31,0±1,33	31,2±2,53	28,8±2,04	27,7±1,03*
Креатинін, мкмоль/л	59,4±2,26	56,6±1,47	64,5±2,69	67,2±2,61	70,5±2,61*
Кальцій, ммоль/л	3,48±0,09	2,45±0,11***	2,40±0,10***	2,78±0,06***	3,50±0,23
Фосфор, ммоль/л	1,25±0,13	1,87±0,06**	1,88±0,16*	1,00±0,14	1,40±0,12
ТАГ, ммоль/л	1,49±0,12	1,69±0,22	1,92±0,46	1,38±0,30	0,91±0,10**

Рівень Са у крові тварин II – IV груп вірогідно зменшувався, а Р — зростав у самиць II та III груп (проте зберігався нижчим у самиць F_0 цих груп) на 49,6 та 54,1 % порівняно до контрольної групи. Це може вказувати на інгібуючий вплив GeЦ в кількості 10, 20 і 200 мкг на рівень Са, але стимулюючий в дозах 10 і 20 мкг — на вміст Р в крові самиць цих груп. Для концентрації триацилгліцеролів у крові вагітних самиць II – IV груп не встановлені вірогідні зміни за дії GeЦ. Вплив найвищої (2 мг) дози GeЦХС супроводжувався вірогідним зменшенням ($P < 0,01$) на 38,9 % у крові тварин VI групи вмісту триацилгліцеролів порівняно до контролю, що виявляє прямий зв’язок зі зниженням вмісту гідропероксидів ліпідів і ТБК–активних продуктів.

Підсумовуючи аналіз одержаних результатів можна відзначити вірогідно виражений, але не однаково спрямований, вплив застосованих доз германію цитрату, отриманого як нанотехнологічним, так і хімічним методами на показники імунофізіологічного й антиоксидантного стану організму та вмісту Ca і P у крові вагітних самиць двох поколінь — F_0 і F_1, а також на рівень протеїнових і ліпідних комплексів.

Результати досліджень цього підрозділу опубліковано у Віснику ЛНУ ім. Франка, 2016 [131], Віснику КНУ ім. Шевченка, серія «Проблеми регуляції фізіологічних функцій», 2017 [132].

3.3. Регуляторний вплив різних доз германію цитрату на вміст мікроелементів у тканинах самиць щурів F_0 і F_1

Аналіз отриманих результатів дослідження вмісту мікроелементів у тканинах і окремих органах самиць щурів F_0 свідчить як про його зростання, так і зменшення залежно від дози Ge. Регуляторна дія Ge залежить від застосованих доз і методу отримання германію цитрату, а також структурних і функціональних особливостей досліджуваних тканин. Зокрема, застосування самицям F_0 II групи GeЦ, в кількості 10 мкг Ge/кг маси тіла, сприяло вірогідному збільшенню рівня Cu у всіх досліджуваних тканинах (табл. 3.9). Вміст Co вірогідно збільшувався у тканинах легень і м’язів тварин цієї групи, тоді як в печінці та нирках його рівень вірогідно не змінювався порівняно з контролем. Регуляторний вплив низької концентрації GeЦ (10 мкг Ge) характеризувався вірогідним зростанням вмісту Mn в печінці самиць II групи на 79 % та м’язах — 84 % і не вірогідно у нирках — 22 %, у той час як у легенях його рівень вірогідно зменшувався на 15 % порівняно з контрольною групою.

Відомо, що підвищення вмісту Mn в органах може знижувати у них рівень Fe та Zn [13]. Ця залежність підтверджується й у наших дослідженнях не вірогідним зниженням Fe у печінці самиць II групи (3 %), м’язах (15 %) і легенях — 9,1 %. Проте вміст Fe у нирках виявляв тенденцію до зростання (9 %), на тлі вищого вмісту Mn у цій тканині, а також печінки, нирок і м’язів самиць II групи

порівняно до контролю. Регуляторної залежності між вмістом Mn і Zn у тканинах самиць II дослідної групи не відзначено.

Таблиця 3.9

Вміст мікроелементів у тканинах організму самиць щурів F_0, мг/кг м. т. (n = 4–5)

Тканини	Елементи	Групи					
		контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.				
		I	II – 10	III – 20	IV – 200	V – 200	VI – 2000
Печінки	Cu	10,4±0,26	18,7±0,37***	8,5±0,41**	11,2±0,28	8,2±0,49**	9,7±0,16
	Co	4,8±0,33	4,6±0,25	2,8±0,23***	3,7±0,30*	6,0±0,17*	2,4±0,22***
	Mn	4,7±0,16	8,4±0,24***	2,2±0,18***	1,7±0,15***	6,3±0,32**	3,1±0,11***
	Fe	36,9±2,29	35,9±1,75	39,6±1,74	31,6±1,99	33,6±2,02	42,8±2,51
	Zn	90,1±5,79	107,3±6,15	61,8±4,37**	86,5±5,54	83,6±5,11	98,9±1,89
Нирки	Cu	13,5±0,78	18,2±0,39**	10,4±0,43*	6,1±0,22***	12,6±0,37	9,6±0,60**
	Co	8,9±0,78	9,2±0,63	3,7±0,18**	4,9±0,63**	7,8±0,40	4,0±0,22**
	Mn	3,5±0,28	4,3±0,24	2,9±0,15	2,5±0,15*	5,9±0,18**	7,7±0,26***
	Fe	40,9±2,63	44,7±2,09	48,9±2,61	37,4±2,71	38,4±2,32	50,3±1,63
	Zn	101,4±5,79	132,9±6,99**	111,7±9,40	57,6±5,48**	112,4±2,99	135,1±3,46**
Легень	Cu	7,4±0,46	8,9±0,50*	5,9±0,39	6,4±0,36	10,8±0,12***	7,3±0,29
	Co	3,9±0,23	6,4±0,27***	1,7±0,05***	3,7±0,18	10,4±0,26***	3,3±0,23
	Mn	3,6±0,06	3,1±0,04***	2,4±0,07***	2,2±0,05***	7,4±0,06***	2,5±0,03***
	Fe	41,8±1,97	38,0±1,30	47,5±1,05	37,9±2,50	40,4±1,62	50,5±2,58*
	Zn	77,4±3,84	84,6±4,78	67,3±4,48	66,2±2,18*	85,9±4,09	73,9±3,46
М'язів	Cu	5,8±0,45	7,9±0,51*	3,6±0,13**	7,5±0,17*	9,2±0,66**	6,9±0,64
	Co	1,7±0,09	2,5±0,07***	1,6±0,08	1,6±0,08	3,2±0,09***	1,4±0,05*
	Mn	1,8±0,05	3,2±0,09***	1,5±0,09*	1,4±0,08*	3,5±0,08***	1,4±0,06**
	Fe	26,7±1,57	22,8±1,69	29,7±1,73	21,2±1,69*	25,3±1,67	35,6±1,45**
	Zn	20,6±1,58	36,8±2,51***	27,8±1,34*	23,9±2,08	37,4±2,25***	32,9±1,36***

З літературних джерел відомо про антагоністичну взаємодію Cu з Zn [71], що у наших дослідженнях не підтверджується за дії найменшої дози GeЦ. Зокрема, вміст Zn вірогідно збільшувався у нирках (31 %) і м'язах (78 %), а не вірогідно — у печінці (19 %) і легенях (9 %), на тлі вищого ($P < 0,05$ – $P < 0,001$) вмісту Cu у цих тканинах порівняно з контрольною групою. Характерно, що зі збільшенням у 2 рази концентрації GeЦ (20 мкг) в III групі відбувались протилежні зміни щодо вмісту у тканинах Cu, Co та Mn. Зокрема, зменшувався

вміст Cu, Zn (P < 0,01), Co і Mn (P < 0,001) у печінці, Cu (P < 0,05) і Co (P < 0,01) — нирках, Co і Mn (P < 0,001) — легенях та Cu (P < 0,01) і Mn (P < 0,05) — м’язах порівняно з контролем. У той час як вміст Fe не вірогідно зростав у всіх досліджуваних тканинах, а Zn — зменшувався у печінці (P < 0,01) та легенях і зростав у нирках та м’язах порівняно з контрольною групою.

Слід відмітити, що збільшення концентрації GeЦ до 200 мкг Ge/кг маси тіла самиць в IV групі зумовлювало відмінний від низьких доз його регуляторний вплив. Цей вплив характеризувався вірогідним зменшенням кількості Mn у всіх досліджуваних тканинах, а також Cu — у нирках (55 %), Co — у нирках (44 %) і печінці (23 %) (P < 0,05), Zn — у нирках (43 %) і легенях (14 %) (P < 0,05), Fe (21 %) — м’язах (P < 0,05) на тлі вищого вмісту у них Cu (P < 0,05) порівняно з контролем.

За додавання в V групі 200 мкг Ge з GeЦХС виявлено особливості регуляторного впливу порівняно з аналогічною дозою GeЦ у IV групі. Зокрема, відзначено збільшення кількості Cu у тканинах легень, але зменшення — у тканинах печінки (P < 0,01) самиць цієї групи порівняно з контролем. Характерно, що вміст Co і Mn у тканинах печінки, Mn — нирок, Cu, Co, Mn — легень і м’язів, а Zn — тільки у м’язах був вірогідно вищим порівняно з рівнем їх у самиць як контрольної, так і IV груп. Застосування самицям VI групи більшої кількості GeЦХС зумовлювало протилежну регуляторну дію на вміст Co і Mn в тканинах печінки, нирок, м’язів, Cu — нирок, порівняно до нижчої (200 мкг) дози цієї сполуки в V групі. Зокрема, встановлено вірогідне зменшення вмісту Co і Mn у тканинах печінки (P < 0,001), Mn — легень (P < 0,001) і м’язів (P < 0,05 і P < 0,01), Cu — нирок на тлі збільшення Fe — легенях (P < 0,05) і м’язах (P < 0,01), а не вірогідно — печінці та нирках. Відзначено також збільшення вмісту Zn у нирках (P < 0,01) і м’язах (P < 0,001) самиць VI групи порівняно до контролю.

Визначення абсолютного вмісту мікроелементів з врахуванням маси органів самиць щурів F_0 за дії найнижчої дози (10 мкг) GeЦ свідчить про збереження спрямованості міжгрупових змін за вірогідного збільшення вмісту Cu у печінці, легенях та невірогідно — Zn у всіх досліджених органах тварин II групи (табл. 3.10). Вірогідно збільшувався вміст Mn у печінці на 70,6 %, Co — легенях

на 68 %, тоді як рівень Mn у легенях зменшувався (P < 0,001) на 13,6 %. Не відзначено вірогідних різниць щодо вмісту мікроелементів у нирках тварин II дослідної групи, оскільки маса органу була нижчою на 21 % від контрольної групи, що нівелювало вірогідність різниць вищого вмісту Cu і Zn у їх тканинах.

Таблиця 3.10

Абсолютний вміст Cu, Co, Mn, Fe і Zn у внутрішніх органах самиць щурів F_0, мкг (n = 4, 5)

Орган / Елемент	Групи					
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.				
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	V – 200	VI – 2000
Маса печінки, г	8,6±0,18	8,1±0,51	5,4±0,20***	5,9±0,50***	4,1±0,09***	5,7±0,37***
Cu	89,4±2,24	151,3±3,00***	45,9±2,21***	65,9±1,64***	33,5±1,99***	55,3±1,02***
Co	41,6±2,80	37,0±2,05	14,9±1,22***	21,8±1,79***	24,8±0,68***	13,8±1,24***
Mn	40,1±1,34	68,4±1,96***	12,0±0,99***	9,8±0,89***	25,8±1,32***	17,6±0,63***
Fe	317,1±19,7	290,8±14,2	213,8±9,4**	186,1±11,8**	137,9±8,3***	243,9±14,3*
Zn	775,2±49,8	869,0±49,9	333,6±23,6***	510,5±32,7**	342,6±21,0***	564,0±10,8**
Маса нирок, г	1,91±0,05	1,51±0,14*	1,26±0,04***	1,39±0,10**	1,05±0,04***	1,58±0,05**
Cu	25,8±1,49	27,4±0,59	13,1±0,55***	8,4±0,31***	13,3±0,39***	15,1±0,94***
Co	16,9±1,50	13,9±0,95	4,6±0,23***	6,8±0,87**	8,2±0,42**	6,4±0,35***
Mn	6,8±0,53	6,5±0,36	3,6±0,19**	3,4±0,20**	6,2±0,18	12,2±0,41***
Fe	78,2±5,02	67,5±3,16	61,6±3,29*	52,0±3,76**	40,3±2,43**	79,5±2,58
Zn	193,7±11,1	200,6±10,6	140,7±11,9*	80,1±7,6***	118,0±3,1**	213,4±5,5
Маса легень, г	1,61±0,11	1,65±0,16	1,53±0,09	1,38±0,13	0,92±0,05***	1,18±0,07*
Cu	11,8±0,74	14,6±0,82*	9,1±0,61*	8,8±0,50*	9,9±0,11	8,7±0,34**
Co	6,3±0,37	10,6±0,45***	2,6±0,07***	5,2±0,25*	9,6±0,24***	3,8±0,28**
Mn	5,9±0,10	5,1±0,06**	3,6±0,10***	3,0±0,06***	6,8±0,05**	3,0±0,04***
Fe	67,3±3,16	62,6±2,15	72,6±1,61	52,4±3,45*	37,2±1,49***	59,6±3,04
Zn	124,6±6,2	139,5±7,9	103,0±6,9	91,3±3,0**	79,1±3,8**	87,2±4,1**

Застосування самицям щурів 20 та 200 мкг Ge/кг маси тіла з GeЦ зумовлювало вірогідне зменшення маси печінки і нирок у тварин III і IV, а нирок — II груп та зниження у них рівня всіх мікроелементів, крім Fe у легенях самиць III групи. Вірогідне зменшення абсолютного вмісту Cu, Co, Mn в органах тварин III і IV дослідних груп порівняно з контролем підтверджується також нижчим вмістом цих елементів у тканинах у перерахунку на кг маси органу. Це може вказувати на певний

інгібуючий вплив GeЦ в дозі 20 і 200 мкг Ge на формування і розвиток внутрішніх органів самиць щурів, порівняно з 10 мкг Ge в II групі. Нижчі показники маси внутрішніх органів у самиць III і IV груп підвищили до високої вірогідності зниження абсолютного вмісту Cu, Co, Mn, Fe і Zn у печінці, нирках і легенях цих тварин, крім Fe і Zn у легенях самиць III групи. Це вказує на значний антагоністичний вплив Ge у дозах 20 і 200 мкг на рівень цих елементів у тканинах внутрішніх органів, що може зумовлюватися регуляторним зменшенням їх засвоєння в травному каналі та нагромадження у таких органах як печінка, нирки, легені.

Характерно, що за випоювання 200 мкг Ge з GeЦХС у самиць щурів V групи з високою вірогідністю зменшувалась маса внутрішніх органів, а також вміст всіх мікроелементів у печінці та нирках (крім Mn) цих тварин. У той час як у легенях вміст Co та Mn вірогідно зростав на 52,4 та 15 %, а Fe і Zn — зменшувався на 44,7 та 36,5 %. Збільшення дози GeЦХС до 2 мг Ge вірогідно зменшувало абсолютний вміст Cu, Co, Mn, Fe і Zn у печінці та легенях (крім Fe), а також Cu і Co — нирках (на 41,5 і 62,1 %) самиць VI групи. Тоді як рівень Mn у нирках цих тварин вірогідно збільшувався на 79 % ($P < 0,01$), а Zn — на 10,2 % порівняно до контролю.

Аналіз результатів дослідження регуляторного впливу GeЦ на вміст мікроелементів у тканинах внутрішніх органів і стегнового м’яза вагітних самиць щурів F_1 вказує на вірогідно нижчий вміст Ge у цих тканинах III (крім нирок) і IV груп, але вищий рівень Mn у печінці, нирках і м’язах тварин II і III груп (табл. 3.11). Вірогідне зменшення вмісту Ge у більшості дослідних тканин самиць F_1 може вказувати на інгібуючу дію германію цитрату у застосованих дозах на трансформацію з корму та кумуляцію цього елемента в їх організмі за умов тривалого надходження з водою. Характерно, що за дії високої дози германію цитрату вірогідно збільшується вміст Fe і Zn ($P < 0,05$; $P < 0,01$) у печінці вагітних самиць F_1 IV групи. У тканинах нирок відзначено зниження вмісту Fe і Zn ($P < 0,01$; $P < 0,05$) в II, а Cu ($P < 0,001$) — в III групах. Зменшувався також вміст Co і Zn ($P < 0,05$; $P < 0,001$) у тканинах легень тварин II групи, Cu і Co — в III, а Mn — IV ($P < 0,05$) групах порівняно з контролем, що може вказувати на органо-тканинні відмінності регуляторного впливу GeЦ на метаболізм цих елементів у досліджених органах.

Таблиця 3.11

Вміст мікроелементів у тканинах вагітних самиць щурів F_1, мг/кг (n=3-5)

Тка-нини	Еле-менти	Групи			
		контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.		
		I	II – 10	III – 20	IV – 200
Печінка	Ge	0,056±0,002	—	0,017±0,0006***	0,014±0,0005***
	Cu	4,5±0,22	2,5±0,18***	2,2±0,16***	5,0±0,26
	Co	1,3±0,09	0,5±0,05***	0,7±0,02***	1,1±0,06
	Mn	2,5±0,16	8,6±0,23***	5,0±0,17***	2,6±0,21
	Fe	27,0±1,34	12,4±0,66***	19,2±0,90**	32,6±1,60*
	Zn	41,5±2,15	22,5±2,44***	30,0±2,76*	53,1±2,42**
Нирка	Ge	0,056±0,002	—	0,028±0,001***	0,25±0,009***
	Cu	7,7±0,45	6,6±0,39	3,99±0,13***	8,1±0,39
	Co	1,15±0,24	1,00±0,26	1,13±0,19	1,49±0,07
	Mn	1,96±0,17	3,46±0,14***	3,88±0,14***	2,23±0,16
	Fe	40,3±4,30	25,0±1,91**	33,4±1,24	39,2±2,66
	Zn	74,1±5,96	56,6±3,80*	76,4±4,60	71,0±4,37
Легені	Cu	5,6±0,48	5,6±0,45	4,01±0,38*	5,3±0,30
	Co	1,2±0,05	0,8±0,04***	1,0±0,03*	1,4±0,07
	Mn	2,07±0,13	1,86±0,07	2,16±0,14	1,55±0,11*
	Fe	38,3±2,91	33,8±3,09	40,6±0,59	45,4±1,79
	Zn	53,6±3,94	41,1±1,00*	48,9±2,20	56,2±2,85
М’яз	Ge	0,10±0,003	—	0,06±0,002***	0,07±0,002***
	Cu	2,2±0,07	1,8±0,10**	2,3±0,06	2,2±0,19
	Co	0,64±0,02	0,69±0,06	0,47±0,01***	0,76±0,04*
	Mn	0,46±0,04	0,99±0,06***	0,93±0,08***	0,49±0,04
	Fe	10,0±0,96	8,9±0,75	9,7±0,45	7,9±0,50
	Zn	27,4±1,94	23,6±1,52	24,0±1,82	23,0±1,95

Це підтверджується менше вираженими відмінностями вмісту досліджених елементів у тканинах м’язів. Зокрема, вміст Fe і Zn у стегновому м’язі самиць щурів всіх дослідних груп порівняно з контролем вірогідно не відрізнявся, але був нижчим для Cu ($P < 0,01$; II група) та Co ($P < 0,001$; III група). У м’язах щурів IV групи, які отримували 200 мкг Ge, встановлено вищий ($P < 0,05$), вміст Co, що вказує на різноспрямований вплив високої і низької (20 мкг) доз Ge на його рівень у м’язах. У науковій літературі нам не вдалося знайти прямих даних щодо взаємозв’язку вмісту Ge у тканинах тварин з дослідженими елементами. За даними [6] синергісти та антагоністи Ge не відомі. У раніше проведених нами дослідженнях встановлено аналогічно нижчий вміст Cu (за дії 20 мкг Ge), Co (за дії

20 і 200 мкг Ge), а також Zn (20 мкг Ge) у тканинах печінки і нирок самиць щурів F_0. Однак, прямих залежностей для інших елементів нами не встановлено, що може зумовлюватися різною тривалістю надходження GeЦ в організм і відмінностями фізіологічного стану самиць F_0 і F_1 поколінь у період їх виведення з дослідів.

Визначення абсолютного вмісту мікроелементів з врахуванням маси органів самиць щурів F_1 за дії різних доз GeЦ, свідчить про збільшення вмісту Mn у печінці та нирках ($P < 0,001$) самиць II і III груп, і менше виражене — в IV групі, а також вірогідне зменшення Cu, Co, Fe і Zn (II і III групи) — у печінці та Cu (III) і Fe (II) групи — нирках (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

Абсолютний вміст мікроелементів у внутрішніх органах вагітних самиць щурів F_1, мкг (n=3–5)

Орган / Елемент	Групи			
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.		
	I	II – 10	III – 20	IV – 200
Маса печінки, г	8,2±0,64	6,8±0,34	6,5±0,27*	10,6±0,63*
Cu	37,2±1,78	17,1±1,21***	14,5±1,02***	52,8±2,76**
Co	10,89±0,75	3,54±0,34***	4,70±0,11***	11,53±0,68
Mn	20,6±1,29	58,8±1,60***	32,5±1,08***	25,4±2,59
Fe	221,2±10,96	84,3±4,46***	124,6±5,86***	276,6±70,38
Zn	535,6±77,68	152,8±16,61**	195,2±17,95**	563,3±25,66
Маса нирок, г	1,15±0,11	1,39±0,09	1,22±0,03	1,33±0,07
Cu	8,9±0,52	9,1±0,54	4,9±0,16***	10,7±0,52*
Co	1,32±0,27	1,39±0,36	1,38±0,23	1,98±0,09*
Mn	2,26±0,19	4,82±0,19***	4,73±0,17***	2,97±0,22*
Fe	46,3±3,16	34,8±2,66*	40,7±1,52	52,2±3,53
Zn	85,2±6,86	78,7±5,28	93,2±5,61	94,4±5,81
Маса легень, г	1,43±0,06	1,30±0,06	1,13±0,11*	1,45±0,08
Cu	7,96±0,69	7,34±0,59	4,54±0,43**	7,70±0,43
Co	1,75±0,08	1,01±0,05***	1,15±0,03***	1,96±0,16
Mn	2,96±0,18	2,42±0,10*	2,44±1,6	2,24±0,16*
Fe	54,7±4,16	43,9±4,01	45,8±0,67	65,8±2,60
Zn	76,6±5,63	53,4±1,30**	55,3±2,49*	81,5±4,13

У легенях вірогідно зменшувався вміст Cu (III) на 43%, Co (II і III) — 42,3 і 34,3 %, Mn (II і IV) — 18,2 і 24,3 % та Zn (II і III групи) — 30,3 і 27,8 % відповідно порівняно до контрольної групи.Слід відзначити, що за випоювання високої дози (200 мкг Ge) GeЦ вміст окремих мікроелементів у досліджуваних тканинах у

перерахунку на масу органів вагітних самиць F_1 IV групи вірогідно зростав, зокрема у печінці — Cu на 41,9 % та нирках — Cu, Co і Mn відповідно на 20,2; 50,0 і 31,4 %. Тоді як вміст Mn у легенях вірогідно зменшувався на 24,3 % порівняно з контролем.

Результати досліджень цього підрозділу опубліковано у журналі «Біологія тварин», 2017 [15] та Віснику КНУ ім. Шевченка, серія «Біологія», 2017 [88].

3.4. Морфоструктурна характеристика імунокомпетентних тканин та органів самиць щурів покоління F_1

Дослідженнями селезінки самиць щурів F_1 контрольної групи відзначено, що поділ на червону і білу пульпу збережений, трабекулярна будова чітко виражена, лімфатичні вузлики червоної пульпи переважно кулясто-овальної форми, тоді як білої пульпи — кулястої форми (рис. 3.1А).

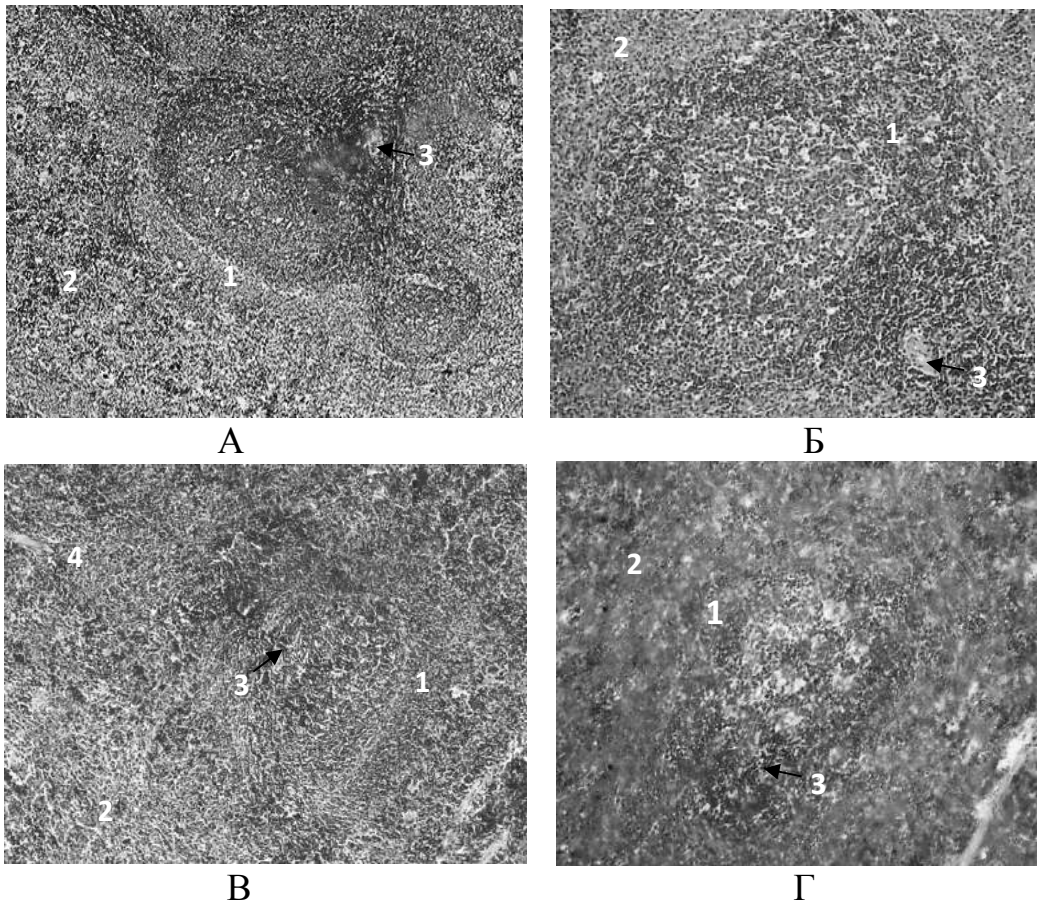

Рис. 3.1. Мікроструктура селезінки самиць щурів F_1: А – контрольна (I); Б – 10 (II); В – 20 (III); Г – 200 мкг Ge/кг маси тіла (IV) дослідні групи. Гематоксилін та еозин. х 100: 1 – біла пульпа; 2 – червона пульпа; 3 – судина; 4 – трабекула

Лімфатичні вузлики червоної пульпи помірно кровонаповнені, інфільтровані макрофагами і проглядаються мегакаріоцити. Характерно, що у селезінці щурів II групи відзначено збільшення об'єму білої пульпи (рис. 3.1Б) порівняно до контролю. Добре прослідковується периартеріальна та маргінальна зони. Тоді як у щурів III групи гістоструктурно виражено порушення гемодинаміки, за збереженому поділі на білу і червону пульпи (рис. 3.1В). Більшість вузликів невеликі у зв'язку зі зменшенням центрів розмноження та витонченням мантійної зони. Аналогічним порушенням гемодинаміки та кровонаповнення червоної пульпи характеризувалась селезінка щурів IV групи (рис. 3.1Г). Відзначалось розволокнення трабекул і набухання стінок судин. Внутрішня еластична стінка окремих судин слабо забарвлювалась еозином з нечіткими контурами. Така деструкція ендотеліоцитів з явищами розволокнення стінки судин сприяли підвищенню їхньої проникності, що відзначалось за дії 200 мкг Ge/кг маси тіла.

Мікроструктура печінки тварин F_1 контрольної групи на розрізі збережена, орган контрастно забарвлений у вишневий колір, виражена пружна часточкова і пластинчата будова. Цитоплазма гепатоцитів переважно базофільна, однорідно забарвлена, ядра їх великі, круглі, містять одне, рідше два ядерця (рис. 3.2А). Тоді як у тварин II групи прослідковувалось збільшення просвіту синусоїдів, контури гепатоцитів чіткі, у цитоплазмі зернистість менш виражена (рис. 3.2Б). В синусоїдних капілярах збільшувалась кількість округлих купферівських клітин. Центральні вени кровонаповнені, що спостерігалось й у щурів III групи (рис. 3.2В). У просвіті капілярів самиць III групи виявлено скупчення еритроцитів. У центролобулярній та перилобулярній ділянках органу цих тварин переважна більшість гепатоцитів збільшена в розмірах, цитоплазма дещо набубнявіла, з просвітленими ділянками і дрібно-крапельними включеннями. У печінці самиць щурів IV групи центральні та портальні вени, внутрішньо часточкові капіляри сильно розширені, що вказує на посилену циркуляцію крові (рис. 3.2Г). Відзначено також незначне набухання ендотелію центральних вен, стінки вен тріад здеформовані, синусоїдальні капіляри розширені, пусті. В

синусоїдних капілярах проглядаються клітини Купфера округлої форми, що займають центральне положення. Строма навколо тріад розшарована, інфільтрована слабоезинофільною масою з поодинокими клітинними елементами. Прослідковуються стиснені гепатоцити, знижена інтенсивність їх забарвлення та виражена зернистість цитоплазми.

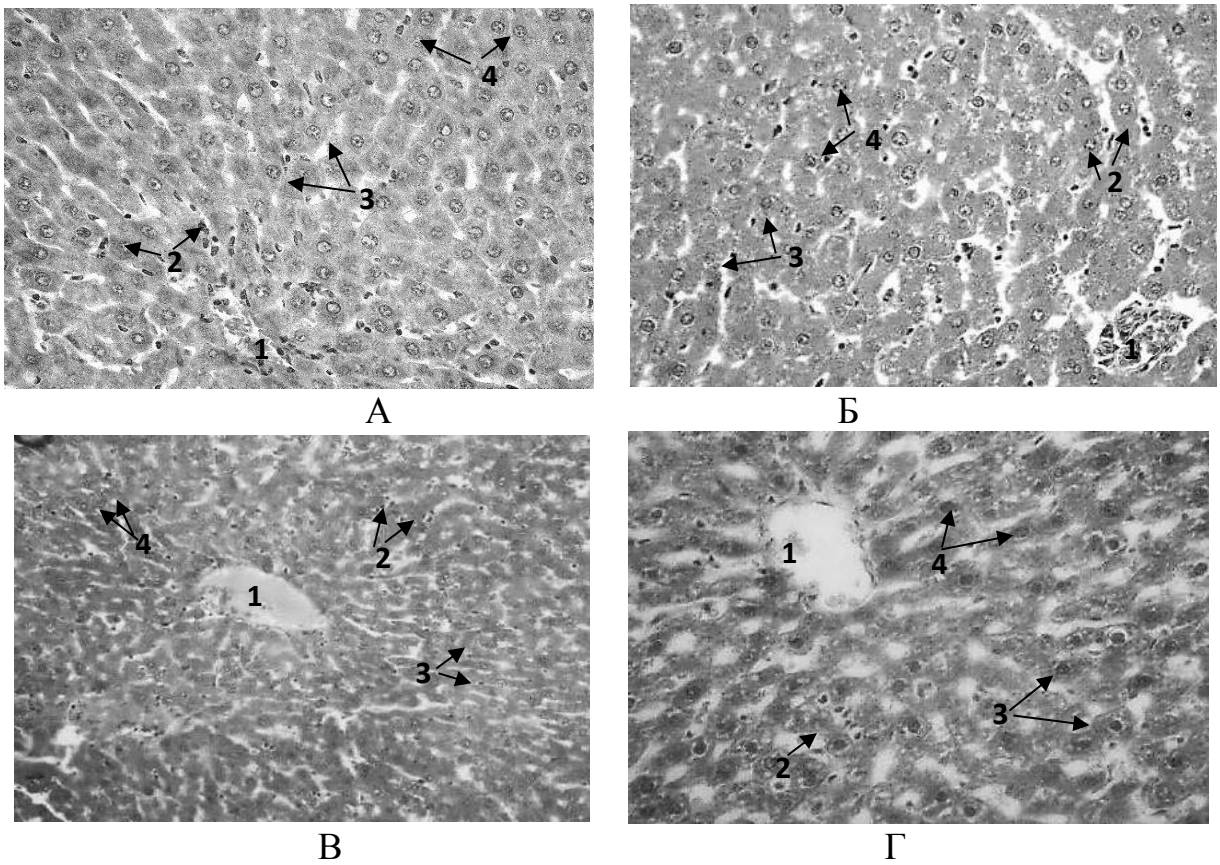

Рис. 3.2. Мікроструктура печінки самиць щурів F_1: А – контрольна (I); Б – 10 (II); В – 20 (III); Г – 200 мкг Ge/кг маси тіла (IV) дослідні групи. Гематоксилін та еозин. х 100. 1 – вени; 2 – клітини Купфера; 3 – гепатоцити; 4 – ядра гепатоцитів

За світлооптичного вивчення тимусу щурів контрольної (рис. 3.3А) та II і III дослідних груп (рис. 3.3Б, В), встановлено добре розвинуті тимусні часточки, які розділені помірно розширеними сполучнотканинними перегородками, що в окремих ділянках були потовщені, а в деяких з них виявлялись жирові клітини. Межа між кірковою та мозковою речовинами добре виражена. Чітко контурована кіркова зона представлена у вигляді темно-синьої смуги, щільно і рівномірно наповненої тимоцитами різного розміру.

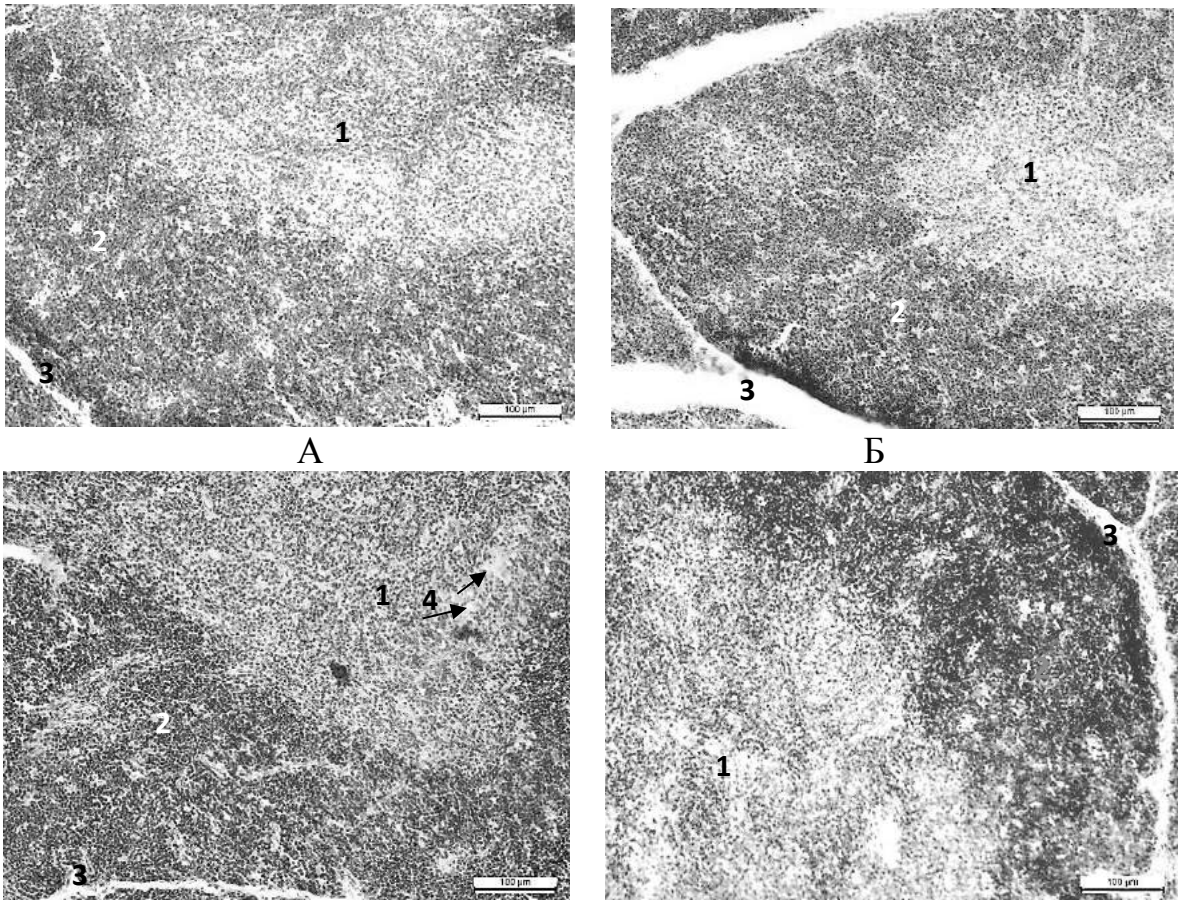

Рис. 3.3. Мікроструктура тимусу самиць щурів F_1: А – контрольна (I); Б – 10 (II); В – 20 (III); Г – 200 мкг Ge/кг маси тіла (IV) дослідні групи. Гематоксилін та еозин. х 100. 1 – мозкова зона; 2 – кіркова зона; 3 – капсула; 4 – тільця Гассаля

Гістологічними дослідженнями тимусу щурів II і III груп виявлено покращення морфофункціонального стану органа, що характеризувалось збільшенням об’єму його часточок, активним заселенням кіркової речовини тимоцитами і лімфоцитами, зменшенням вмісту тілець Гассаля (рис. 3.3Б, В). Найбільше звуження кіркової речовини та розширення мозкової зони простежувалось у тимусі щурів IV групи (рис. 3.3Г). Встановлено зменшення вмісту тимоцитів і зростання кількості їх бластних форм у кірковій речовині тимусу. У сполучнотканинній основі кіркової речовини зірчасті епітеліоретикулоцити набубнявілі, їх цитоплазма просвітлена, місцями вакуолізована, а ядра слабобазофільні або лізовані. Тимоцити у тварин цієї групи часто виявляли в стані каріорексису.

Внаслідок помірного виходу і загибелі лімфоцитів у тимусі самиць IV групи спостерігається вогнищеве спустошення і просвітлення ретикулярної строми. Посилення активності тимічного ретикулоепітелію супроводжувалось утворенням великої кількості тимічних тілець, які зливаючись утворювали різні за величиною конгломерати. Мозкова зона зростає, в ній відзначається розволокнення сполучнотканинних елементів строми навколо судин, набубнявіння ендотелію стінок капілярів і вен, що вказує на підвищену проникність стінок судин і свідчить про порушення гемолімфатичної рівноваги тканин та метаболічного гомеостазу.

У лімфатичних вузлах кишкової брижі щурів контрольної групи за малого (х 100) збільшення кіркова і мозкова речовина чітко структуровані (рис. 3.4А). У кірковій речовині добре проглядаються різних розмірів лімфоїдні вузлики (фолікули), серед яких помітно виділяються вузлики зі світлими центрами.

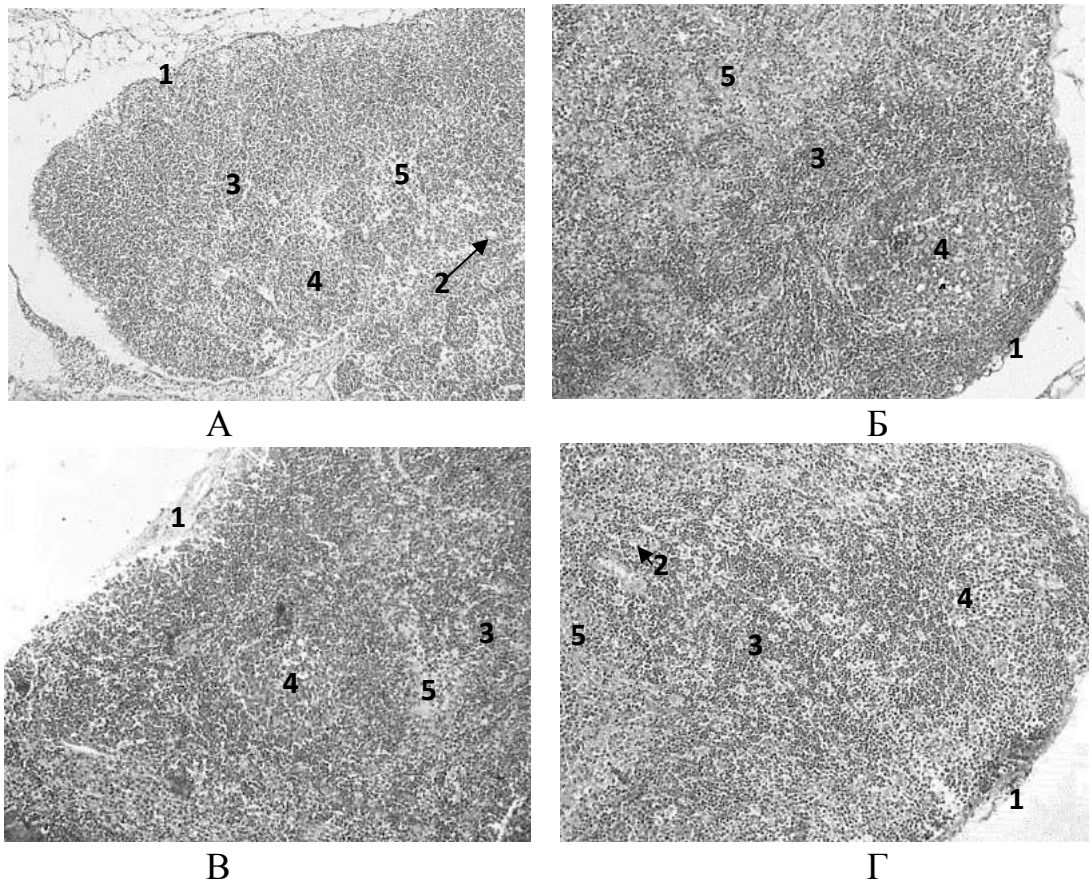

Рис. 3.4. Мікроструктура лімфатичного вузла кишкової брижі самиць щурів F_1: А – контрольна (I); Б – 10 (II); В – 20 (III); Г – 200 мкг Ge/кг маси тіла (IV) дослідні групи. Гематоксилін та еозин. х 100. 1 – капсула; 2 – капіляри; 3 – кіркова зона; 4 – лімфоїдний вузлик з центром розмноження; 5 – мозкова зона

У кірковій речовині лімфатичних вузлів тварин II і III дослідних груп, яким застосовували з водою GeЦ у дозі 10 та 20 мкг Ge/кг маси тіла, відзначали збільшення кількості фолікул із світлими центрами і широкою мантійною зоною, утвореною малими лімфоцитами (рис. 3.4Б, В). У лімфатичних вузлах щурів IV групи переважно спостерігали розпушення капсули і паренхіми (рис. 3.4Г). Виражена дилятація центральних синусів, набубнявіння і десквамація синусних ендотеліальних клітин. Багато клітин перебувало в стані каріорексису. Лімфатичні фолікули мали нечітке окреслення. Розміри їх маленькі, периферійна зона витончена, а центральна — розрихлена.

У лімфатичних вузлах кишкової брижі самиць контрольної групи за збільшення в 400 разів відзначали проліферацію ретикулярних клітин і лімфоцитів. По периферії вузликів виражена зона, утворена малими лімфоцитами (рис. 3.5А). Паракортикальна зона щільно заповнена лімфоцитами. У лімфатичних вузлах відзначали проліферацію ретикулярних клітин і лімфоцитів. По периферії фолікулів виражена зона, утворена малими лімфоцитами. М’якушеві тяжі представлені у вигляді широких шлейфів, заповнених лімфоцитами, макрофагами, плазматичними клітинами. У просвіті розширених центральних синусів виявляли нейтрофільні та еозинофільні лейкоцити і десквамовані ендотеліальні клітини. Гермінативний центр сформований з лімфобластів, макрофагів, «дендритних» клітин (рис. 3.5Б). Відомо, що саме у цій частині лімфатичного вузла відбувається проліферація і диференціація В-клітин у незрілі плазмоцити і їх взаємодія з антигеном, «дендритними» клітинами. У центрі таких фолікулів добре помітні крупні дендритні клітини. У лімфатичних вузлах щурів II і III груп паракортикальна зона широка, густо заповнена Т-лімфоцитами. Мозкова зона з розширеними м’якушевими тяжами, які інфільтровані лімфоцитами, плазмоцитами, плазмобластами (рис. 3.5Б, В). Дрібні лімфатичні фолікули самиць IV групи містили незначні скупчення лімфоцитів (рис. 3.5Г). Інші лімфатичні фолікули мали розпушену центральну зону.

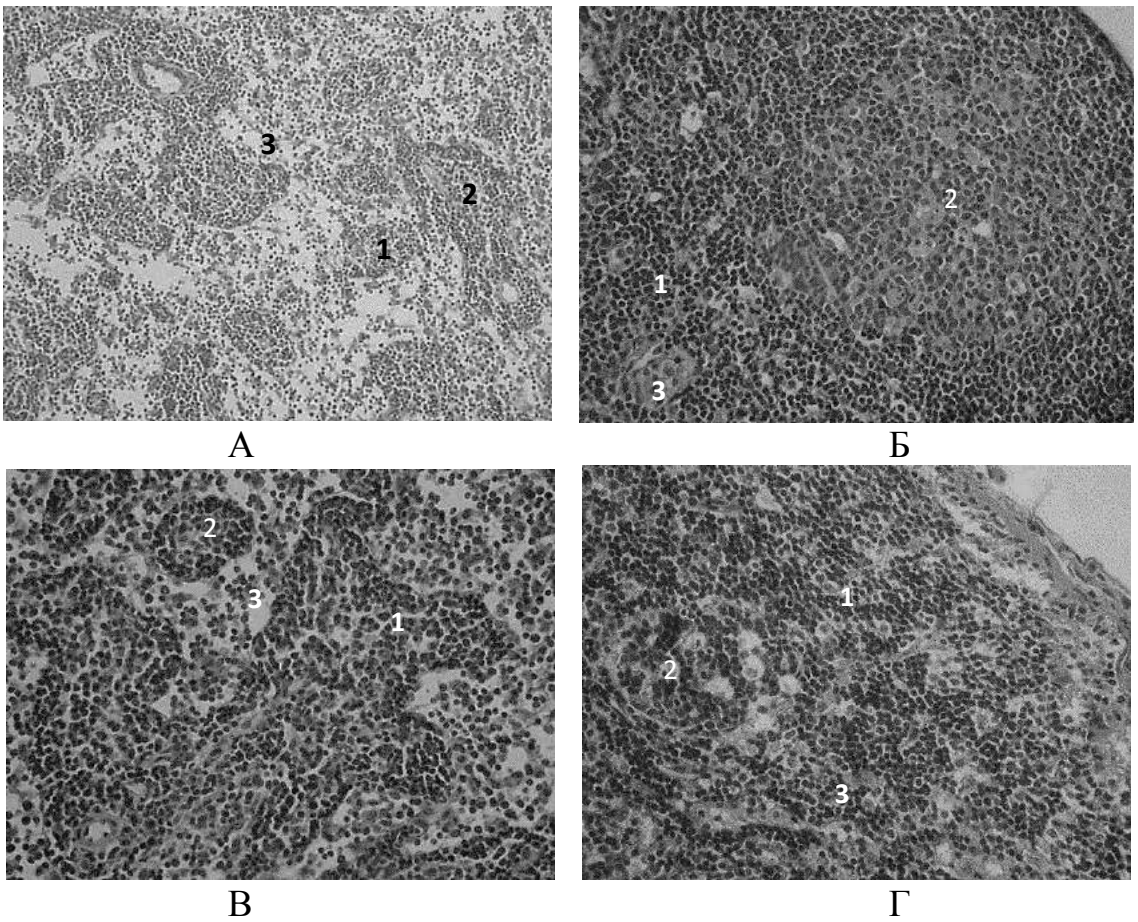

Рис. 3.5. Мікроструктура лімфатичного вузла кишкової брижі самиць щурів F_1: А – контрольна (І); Б – 10 (ІІ); В – 20 (ІІІ); Г – 200 мкг Ge/кг маси тіла (IV) дослідні групи. Гематоксилін та еозин. х 400. 1 – кіркова зона; 2 – лімфоїдний вузлик з центром розмноження; 3 – мозкова зона

Слід зауважити, що в лімфатичних вузлах виражено проглядається різке зменшення загальної кількості клітин. Поодиноко виділялись невеликі вторинні лімфатичні фолікули. Паракортикальна зона звужена. Щільність лімфоцитів в паракортикальній зоні низька. Відомо, що паракортикальна пульпа є місцем реакції за типом клітинного імунітету, тобто це тимус-залежна зона, яка у щурів зменшена.

М’якушеві тяжі лімфатичних вузлів тварин IV групи потоншені, розпушені, представлені у вигляді вузеньких шлейфів, заповнених малочисленими лімфоцитами. У просвіті розширених центральних синусів виявляли поодинокі нейтрофільні, еозинофільні лейкоцити і десквамовані ендотеліальні клітини. Ймовірно, що різке розширення синусів направлено на посилення процесів біологічної і механічної фільтрації, пов’язаних з фагоцитозом і сповільненим

відтоком лімфи через розширені синуси. Таким чином, тривале введення GeЦ у високій дозі викликає у периферичних імунних органах різке зменшення вмісту клітин кіркової та мозкової зон, що може зумовлювати пригнічення імунної системи.

Підсумовуючи морфоструктурні зміни імунокомпетентних тканин та органів необхідно відзначити, що застосування самицям щурів F_1 10 мкг Ge характеризувалось збільшенням об'єму білої пульпи, проте за дії 20 і 200 мкг Ge виявлено порушення гемодинаміки та розволокнення стінок судин селезінки. У гістологічній структурі печінки самиць щурів F_1 за дії 10 мкг Ge спостерігалось збільшення просвіту синусоїдів, кількості округлих купферівських клітин та посилена циркуляція крові. Дія 20 мкг Ge зумовлювала також збільшення розміру гепатоцитів, тоді як за 200 мкг Ge відзначено деформацію стінок вен тріад та розшарування навколо них строми. За дії цитрату германію у кількості 10 і 20 мкг Ge виявили покращення морфофункціонального стану тимусу у самиць F_1, що вказує на повноцінну імунореактивну здатність органу. Однак, тривале випоювання щурам 200 мкг Ge спричиняло помірний набряк строми, звуження кіркової зони, внаслідок виходу Т-лімфоцитів, що могло зумовлювати зниження функціональної здатності цього імунокомпетентного органа.

Результати досліджень цього підрозділу опубліковані у журналі «Біологія тварин», 2017 [25].

3.5. Онтогенетичні відмінності організму самиць щурів поколінь F_0 і F_1 у період застосування різних доз германію цитрату

Випоювання Ge цитрату, отриманого методом нанотехнології та хімічно синтезованого, самицям щурів F_0 з 2-ох місяців, упродовж статевого та фізіологічного дозрівання і до запліднення, під час вагітності та лактації, а також їхньому приплоду, впливало на динаміку росту тварин. Однак цей вплив був менш виражений для самиць батьківського покоління. Характерною є низька абсолютна маса та коефіцієнти мас серця, легень, селезінки, нирок і печінки

самиць батьківського покоління, тоді як у самиць першого покоління ці показники зростають порівняно до контролю.

Встановлено, що маса тіла самиць щурів F_0 III, V і VI груп на 10 добу дослідного періоду була вищою на 3–10,4 %, ніж контрольної (I) групи (табл. 3.13). На 20-ту добу ця спрямованість різниць зберігалася для тварин III і VI груп, тоді як на 30-ту добу — тільки для VI групи ($P < 0,05$). Однак, на 40 добу випоювання германію цитрату маса самиць щурів II, IV, V і VI дослідних груп була нижчою на 2,4–20,2 % і становила відповідно 178,6; 169,6; 146,2 і 174,0 г проти 183,0 г у тварин контрольної групи. Характерно, що на 40 добу випоювання германію цитрату маса тіла була найнижчою у самиць V групи і становила всього 79,8 % ($P < 0,001$) порівняно до контрольної групи.

Таблиця 3.13

Динаміка маси тіла самиць щурів F_0 у віці 2,5–4 місяці, г (M±m, n = 5)

Група / доза Ge в мкг/кг м. т.	Доба випоювання Ge цитрату				
	1	10	20	30	40 (спаровування)
I – кон-ль	117,6±0,93	138,4±0,81	157,0±1,05	180,4±0,93	183,0±0,63
II – 10 % до кон-лю	117,6±1,03 100,0	137,2±1,16 99,1	157,0±1,26 100,0	162,6 ±0,87*** 90,1	178,6±1,08** 97,6
III – 20 % до кон-лю	117,2±1,71 99,7	142,6±1,08* 103,0	162,2±1,16* 103,3	171,0±1,05*** 94,8	194,0±0,95*** 106,0
IV – 200 % до кон-лю	117,6±0,93 100,0	138,2±0,58 99,9	149,4±1,03*** 95,2	163,6±0,51*** 90,7	169,6±0,51*** 92,7
V – 200 % до кон-лю	116,8±0,80 99,3	144,2±1,02** 104,2	147,2±0,58*** 93,8	163,6±0,40*** 90,7	146,2±0,32*** 79,8
VI – 2000 % до кон-лю	118,0 ±0,55 100,3	152,8±0,86*** 110,4	160,2±0,66* 102,0	183,6±0,81* 101,8	174,0±0,55*** 95,1

У самиць F_0 III і VI груп відзначено вірогідно вищу інтенсивність росту за більшістю досліджених періодів і досягнення найбільшої маси тіла — 194,0 г на 40 добу в III, 183,6 г на 30 добу — в VI групах зі зниженням її у тварин інших дослідних груп у ці періоди порівняно з контролем. Це свідчить про переважання фізіологічно вираженого стимулюючого впливу GeЦ у дозі 20 мкг Ge і GeЦХС в кількості 2 мг Ge на ріст і розвиток організму молодих самиць F_0 до запліднення

та в період спаровування. Стимулюючий вплив Ge на ріст і розвиток цих самиць може зумовлюватися його здатністю посилювати забезпечення Оксигеном тканин та їх стійкість до негативної дії іонів Гідрогену [6, 21].

Дослідженнями росту і розвитку організму самиць та окремих органів з визначенням їх маси і коефіцієнтів мас, встановлено вірогідне зменшення показників маси селезінки, нирок і печінки та тенденцію до нижчого рівня інших внутрішніх органів у тварин III–VI груп (табл. 3.14). Відзначено вищі коефіцієнти маси серця у тварин дослідних груп, крім V, з вірогідними їх різницями для самиць щурів III і IV груп порівняно до контролю. Однак, маса серця у тварин II, III, IV і VI дослідних груп вірогідно не відрізнялась від цього показника у контрольній групі. Це вказує на більш виражений вплив випоювання застосованих концентрацій GeЦ і GeЦХС на масу тіла самиць цих груп і менший — на формування маси серця.

Таблиця 3.14

Маса внутрішніх органів та їх коефіцієнти до маси тіла самиць щурів F_0 у віці 6 місяців (M±m, n=5)

Орган	Групи					
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.				
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	V – 200	VI – 2000
	Маса органу (г) / коефіцієнт маси (г/кг)					
Серце	0,76±0,03 3,11±0,14	0,79±0,03 3,57±0,17	0,68±0,02 3,89±0,14**	0,70±0,05 3,77±0,20*	0,49±0,03*** 3,02±0,14	0,74±0,03 3,47±0,17
Легені	1,61±0,11 6,65±0,53	1,65±0,16 7,39±±0,57	1,53±0,09 8,77±0,36*	1,38±0,13 7,36±0,52	0,92±0,05*** 5,68±0,28	1,18±0,07* 5,54±0,23
Селезінка	0,57±0,05 2,32±0,13	0,42±0,05 1,89±0,15	0,37±0,03** 2,05±0,12	0,40±0,05* 2,09±0,15	0,27±0,01*** 1,63±0,05**	0,45±0,06 2,09±0,20
Нирки	1,91±0,05 7,84±0,23	1,51±0,14* 6,78±0,24*	1,26±0,04*** 7,27±0,35	1,39±0,10** 7,41±0,09	1,05±0,04*** 6,50±0,20**	1,58±0,05** 7,43±0,19
Печінка	8,6±0,18 35,4±0,58	8,1±0,51 36,6±0,23	5,4±0,20*** 31,2±1,18**	5,9±0,50*** 31,5±1,75*	4,1±0,09*** 25,5±0,34***	5,7±0,37*** 26,7±1,16***

Маса легень самиць III–VI груп була нижчою проти контролю з вірогідними різницями для щурів V і VI груп. Коефіцієнти маси легень були вищими у самиць

II–IV груп, проте зростання цього показника було вірогідним лише для тварин III групи. У той час як маса селезінки та коефіцієнти її маси були меншими у тварин дослідних груп порівняно до контролю. Однак, вірогідними зміни абсолютної маси селезінки були лише для тварин III–V груп, а коефіцієнтів маси — V групи. Аналогічні зміни, проте більше виражені, встановлено для маси нирок, що вірогідно знижувалась у самиць усіх дослідних груп, але коефіцієнти маси нирок були вірогідно меншими лише для щурів II та V груп. Вірогідно нижчою була і маса печінки у самиць III–VI груп, що супроводжувалось також зниженням коефіцієнтів її маси для тварин цих груп порівняно до контролю. Отже, застосовані кількості германію цитрату зумовлюють вірогідно виражене зменшення маси тіла самиць, крім дози в 20 мкг у III і 2 мг — в VI групах та маси нирок і печінки — у всіх дослідних групах, селезінки — у III, IV і V групах. Це може вказувати на різний інгібуючий вплив цих доз на ріст і розвиток самиць щурів упродовж фізіологічного і статевого дозрівання організму, вагітності та лактації. Найбільше виражений пригнічуючий вплив на онтогенетичний розвиток організму самиць зумовлювала доза в 200 мкг Ge/кг м. т., застосованого у вигляді хімічно синтезованого його цитрату, що не має фізіологічного пояснення, оскільки більша кількість (2 мг Ge/кг м. т.) такої дії не виявляла. Очевидно, хімічно синтезований германій цитрат, застосований у нижчій (200 мкг/кг) концентрації у період його розведення, утворював у водному середовищі його оксиди, які могли виявляти токсичний вплив на організм самиць V групи.

Застосування германію цитрату у самиць щурів F_1 стимулювало ріст й онтогенетичний розвиток їх організму у всіх дослідних групах. Однак, маса тіла тварин упродовж 70-110 діб росту й розвитку була найвищою у самиць III групи, які отримували 20 мкг Ge/кг м. т. Це зумовило підвищення цього показника на 24,6 % ($P < 0,001$) на 110 добу і на 24,4 % — за 40 діб дослідного періоду порівняно з контролем (табл. 3.15). У той час як в II групі ця різниця становила 9,5 %, а IV і V — 12,1 %, що може вказувати на більше виражену метаболічну дію Ge в дозі 20 мкг у самиць F_1, ніж 10, 200 і 2000 мкг/кг м. т.

Таблиця 3.15

Динаміка маси тіла самиць щурів F_1 у віці 70–110 діб, г (M±m, n=5)

Періоди досліджень, доба після народження	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
70	96,6±13,69	102,2±5,76	102,4±2,77	101,4±7,00	103,0±4,03
% до контр.	100	105,8	106,0	105,0	106,6
80	107,4±10,52	108,9±6,35	116,4±3,46	111,6±5,24	114,8±3,31
% до контр.	100	101,4	108,4	103,9	107,0
90	116,2±10,39	133,8±0,86***	133,0±4,21	126,8±4,83	125,2±4,90
% до контр.	100	115,1	114,5	109,1	107,7
100	125,0±9,51	145,3±2,58	149,0±4,01*	139,8±4,59	140,0±3,36
% до контр.	100	116,2	119,2	111,8	112,0
110	134,0±8,09	151,4±3,75	167,0±4,21**	153,0±4,25	155,4±2,77
% до контр.	100	113,0	124,6	114,2	116,0
% до 70 доби	138,7	148,2	163,1	150,8	150,8

Дослідження коефіцієнтів мас внутрішніх органів самиць F_1 вказує на більше виражений стимулюючий вплив тривалого випоювання Ge цитрату у застосованих дозах на формування і розвиток органів системи дихання, ніж у тварин F_0. Про це свідчать вірогідно вищі коефіцієнти маси легень у щурів F_1 всіх дослідних груп порівняно до контролю (табл. 3.16). Вказані міжгрупові відмінності можуть зумовлюватися здатністю Ge посилювати газообмін і споживання тканинами різних органів O_2 [6]. Можливий вплив Ge цитрату і на протеїн-синтезувальну здатність організму та проліферативну функцію тканин окремих органів. Зокрема, виявлено стимулюючий вплив ізопроксигерматрону на біосинтетичні процеси зі збільшенням у тканинах різних органів вмісту нуклеїнових кислот, оксипроліну, глікозаміногліканів [18].

Однак, більше виражене зростання коефіцієнтів мас легень встановлено у тварин II ($P < 0,01$), III, IV і VI ($P < 0,05$) груп, що підтверджується й вищими показниками їх маси тіла у віці 90–100 днів, ніж в інших групах. Тоді як абсолютна маса легень зберігалась на рівні контролю, проте в III групі — зменшувалась ($P < 0,05$).

Таблиця 3.16

Маса внутрішніх органів та їх коефіцієнти до маси тіла вагітних самиць щурів F_1 (M±m, n=4, 5)

Орган	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
	Маса органу (г) / коефіцієнт маси (г/кг)				
Серце	0,66±0,02 3,3±0,22	0,63±0,04 3,3±0,15	0,58±0,03* 3,5±0,08	0,83±0,03** 3,4±0,10	0,69±0,06 3,4±0,14
Легені	1,4±0,06 4,7±0,28	1,3±0,06 6,9±0,34**	1,1±0,11* 6,7±0,54*	1,5±0,09 5,9±0,37*	1,2±0,09 5,8±0,25*
Селезінка	0,72±0,058 3,6±0,30	0,55±0,050 2,8±0,18	0,65±0,123 3,9±0,66	0,80±0,223 3,2±0,88	0,63±0,185 3,1±0,86
Нирки	1,2±0,11 5,6±0,20	1,4±0,09 7,3±0,36**	1,2±0,03 7,3±0,17***	1,3±0,07 5,4±0,25	1,3±0,10 6,2±0,31
Печінка	8,2±0,64 40,3±1,33	6,8±0,34 37,0±1,05	6,5±0,27* 39,3±1,56	10,6±0,63* 43,2±1,52	9,2±0,60 46,0±2,61

Характерно, що коефіцієнти маси нирок були вірогідно більшими також у II ($P < 0,01$) і III ($P < 0,001$) групах і зберігали тенденцію до вищого рівня у тварин VI групи. Очевидно, низькі дози GeЦ посилювали формування органів системи виділення, а також їх функцію у період вагітності. Відзначено також вплив різних доз германію цитрату на масу серця та печінки, що характеризувався зменшенням ($P < 0,05$) їх маси за випоювання 20 мкг Ge/кг, тоді як за дії 200 мкг вона вірогідно збільшувалась.

Результати досліджень цього підрозділу опубліковані у журналах «Біологія тварин» 2015, 2016 [121, 124], «Експерементальна та клінічна фізіологія і біохімія», 2016 [123], та матеріалах конференції (Молдова, 2016) [120].

3.6. Репродуктивна функція організму самиць щурів F_0 та F_1 за дії різних доз германію цитрату

Дослідженнями фертильності самиць F_0 за комплексними показниками їх відтворювальної функції встановлено, що застосування германію цитрату 3 тижні до спаровування не пригнічувало їх запліднюваність в II, III і IV дослідних групах, яка зберігалася на рівні I — контрольної групи і становила 100 %. Тоді як

у V групі, де застосовували GeЦХС, запліднилась тільки одна самиця, яка народила 11 щуренят. Однак, 9 з них загинули впродовж перших 10 діб, що може бути зумовлено гіпогалактією самиці, оскільки паталогічних змін розвитку щуренят не встановлено. Це може бути пов'язано з тим, що у водних розчинах низької концентрації відбувається незначний розпад GeЦХС, в результаті якого утворюється більш токсичний GeO_2.

Щільність народження щуренят у самиць контрольної групи коливалась до 13 діб, а дослідних — 12 діб. Найбільш близькими (до 8 діб) дати народження щуренят були у самиць III та VI груп. Ці результати свідчать про більш виражений вплив цитрату германію в дозі 20 мкг Ge з GeЦ і 2 мг Ge з GeЦХС на запліднюваність самиць, яка в контрольній групі була найнижчою, оскільки 70 % цих самиць запліднились після 2 та 3-ого овуляційного циклу. Характерно, що у дослідних і контрольній групах кількість приплоду коливалася в межах фізіологічної норми і серед новонароджених не було виявлено щуренят з патологією розвитку. У самиць II – IV дослідних груп різні дози GeЦ не однаково вплинули на кількість приплоду, яка на першу добу життя становила в II групі — 35; III — 43, IV — 49, тоді як у контрольній групі — 34 щуренят від 5-ти самиць (табл. 3.17).

Таблиця 3.17

Багатоплідність самиць F_0 і динаміка змін чисельності приплоду впродовж двох місяців лактації (M±m, n = 5)

Група / доза Ge мкг/кг м. т.	Доба життя / кількість щуренят на самицю			
	1	20	40	60
I – контроль	6,8±1,8	6,6±1,9	6,2±1,8	5,0±1,5
II – 10 % до контролю	7,0±0,9 102,9	6,6±1,2 100	6,2±0,9 100	6,2±0,9** 124
III – 20 % до контролю	8,6±1,0** 126,5	7,8±1,0* 118,2	7,6±0,8** 122,6	7,6±0,8*** 152
IV –200 % до контролю	9,8±0,9*** 144,1	8,6±1,2** 130,3	8,4±1,2*** 135,5	8,4±1,2*** 168
VI – 2000 % до контролю	10,6±1,3*** 155,9	5,8±1,9** 87,9	5,2±1,7 83,9	5,0±1,5 100

Незважаючи на загибель щуренят у всіх групах у підсисний період, їхня кількість в III і IV дослідних групах була більшою на 22,6 і 35,5 % на 40 добу щодо контролю, тоді як у VI — зменшилася на 16,1 %, а для II групи зберігалася на рівні контролю. Отримані дані підтверджують стимулюючий вплив GeЦ на багатоплідність та молочність самиць щурів, а також резистентність організму щуренят та їх життєздатність у перші 2 місяці. Про це свідчить кількість щуренят у гнізді в наступні періоди, яка на 60 добу становила у контрольній і VI дослідній групах — 25, II — 31, III — 38, IV — 42 щуренят від 5-ти самиць. Це вказує на те, що життєздатність щуренят у самиць контрольної (I) і дослідних груп за 60 діб була різною. Найвищою вона була у самиць II (88,6 %) і III (88,4 %) груп, але зменшувалася в IV групі — 85,7 % проти 73,5 % у контрольній групі (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Життєздатність щуренят F_1 впродовж двох місяців життя (M±m, n = 5)

Група	Доба життя					Загинуло за 60 діб		
	1	20	40	60				
	Збереженість щуренят (%)				Збережено щуренят	Щуренят у групі	%	Щуренят на самицю
I	100	97,1	91,2	73,5	25	9	26,5	1,8±0,7
II	100	94,3	88,6	88,6	31	4	11,4	0,8±0,5
III	100	90,7	88,4	88,4	38	5	11,6	1,0±0,4
IV	100	87,8	85,7	85,7	42	7	14,3	1,4±0,7
VI	100	54,7	49,1	47,2	25	28	52,8	5,6±1,3

Вищою на 60 добу була також і середня кількість щуренят на самицю у дослідних групах, яким випоювали GeЦ, зокрема: в II — 6,2; III — 7,6 і IV — 8,4 проти 5 у контрольній і VI групах. Характерно, що серед щуренят усіх дослідних груп у віці 60 діб переважали самиці, чисельність яких була більшою у 1,4; 2,3 і 2,7 раза – II – IV і 1,09 раза — в VI групах порівняно з контролем. Відзначена спрямованість міжгрупових різниць зберігалася і для кількості щуренят, які загинули за 60 діб, що становила 28 (52,8 %) в VI групі, 4 (11,4 %), 5 (11,6 %) і 7 щуренят (14,3 %) — у II – IV групах проти 9 (26,5 %) у контрольній. Кількість щуренят на 1 самицю, які загинули була найбільшою також у VI групі, що може

бути зумовлено високою дозою Ge та найбільшою кількістю народжених щуренят у цій групі.

Аналіз показників репродуктивної функції організму самиць F_1 вказує на відсутність вірогідних змін, порівняно з контролем, за кількістю жовтих тіл вагітності, місць імплантації та живих плодів у тварин III і IV груп (табл. 3.19). Однак, у самиць VI групи, за дії 2 мг Ge цитрату, отриманого хімічним синтезом, середня кількість живих плодів на самицю, порівняно з контрольною групою, була меншою на 29 % ($P < 0,05$), що зумовлено високою постімплантаційною смертністю плодів у цій групі.

Таблиця 3.19

Показники репродуктивної функції організму самиць щурів F_1 (M ± m, n=4, 5)

Показник	Групи			
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.		
	I	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Кількість вагітних самиць	5	4	4	5
Кількість жовтих тіл вагітності	11,4±0,75	11,3±0,48	11,0±0,41	9,6±0,25
Кількість місць імплантації	9,8±0,49	10,0±0,58	10,3±0,48	9,2±0,58
Кількість живих плодів	9,8±0,49	10,0±0,58	10,0±0,41	6,8±0,86*
Доімплантаційна смертність, на самицю / %	1,6 / 14	1,3 / 11,1	0,75 / 6,8	0,4 / 4,2
Постімплантаційна смертність, на самицю / %	0	0	0,25 / 2,4	2,4 / 26
Загальна ембріональна загибель, на самицю / %	1,6 /14	1,3 / 11,1	1 / 9,1	2,8 / 29,2

Очевидно, довготривале (впродовж всього онтогенетичного періоду) застосування високої дози Ge у вигляді GeЦХС самицям F_1 викликало протилежний, порівняно з самицями F_0, вплив на їх багатоплідність, що знижувало показник кількості живих плодів у VI групі. Характерно, що застосований GeЦ в дозі 200 мкг Ge (IV група), викликає також постімплантаційну загибель ембріонів і плодів, проте в 10,2 раза меншу, ніж у VI групі. У самиць контрольної (I) та дослідної – III груп постімплантаційної смертності не виявлено. Однак, у самиць I і III груп встановлено вищий рівень доімплантаційної загибелі ембріонів (8 і 5 відповідно), ніж у IV (3) і VI (2) групах.

Це може вказувати на стимулюючий вплив більшої дози Ge, порівняно з меншими, на розвиток і приживлення ембріонів у щурів. Важливим чинником такого позитивного впливу може бути здатність Ge у комплексних сполуках переносити O_2 до тканин окремих органів і стимулювати його поглинання.

Доведено, що низька концентрація Ge (<0,096 ммоль/л) стимулює, а вища — зменшує поглинання O_2 тканинами печінки і мозку щурів [6]. Вказана залежність виявляється й у наших дослідженнях, оскільки підвищення дози Ge супроводжується появою постімплантаційної загибелі ембріонів у самиць IV (1 / 2,4 %) і високим її рівнем в VI (12 / 26 %) групах. Це зумовило найвищу загальну внутрішньоутробну смертність в VI групі, порівняно з III (5 / 11,1 %), IV (4 / 9,1 %) і контрольною (8 / 14 %) групами. Отже, застосування цитрату Ge у низьких дозах зменшує доімплантаційну загибель ембріонів у самиць щурів, проте збільшення дози до 200 і 2000 мкг Ge/кг м. т. підвищує їх постімплантаційну смертність.

Результати досліджень цього підрозділу опубліковані у журналах «Біологія тварин» 2015, 2016 [80, 121, 124] та «Експерементальна та клінічна фізіологія і біохімія», 2016 [123].

3.7. Онтогенетичні відмінності щуренят F_1 за тривалого впливу різних доз германію цитрату

Оцінка постнатального розвитку тварин за живою масою щуренят F_1 та їх життєздатністю, фізіологічними реакціями протягом перших двох місяців життя, свідчить про позитивний вплив надходження різних кількостей германію цитрату в організм самиць та їх приплоду. За показниками маси тіла щуренят F_1 на 1-шу добу після народження не виявлено вірогідних відмінностей у дослідних групах проти контролю. Динаміка змін маси тіла щуренят відповідала фізіологічним величинам росту молодих щурів щодо кожного періоду. Однак, середня маса новонародженого щуреняти у II і III групах була більшою на 9,7 і 3,2 % відповідно до контролю (табл. 3.20). Тоді як у тварин IV та VI дослідних груп встановлено нижчі показники середньої маси тіла щуренят на 6,5 і 4,8 %

відповідно, що зумовлено значно більшою кількістю приплоду (9,8 і 10,6 щуренят на самицю).

Таблиця 3.20

Динаміка показників середньої маси тіла одного щуреняти F_1 до двох місяців (M ± m, n = 25–53)

Доба після народження	Показник	Групи				
		контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
		I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
1	маса, г	6,2±0,26	6,8±0,57	6,4±0,16	5,8±0,26	5,9±0,198
	% до конт.	100	109,7	103,2	93,5	95,2
20	маса, г	25,3±4,16	29,0±2,58	27,3±2,62	20,7±2,65	23,6±3,38
	% до конт.	100	114,6	107,9	81,8	93,3
40	маса, г	60,7±7,68	57,5±5,34	56,2±4,54	48,3±5,81	57,9±3,95
	% до конт.	100	94,7	92,6	79,6	95,4
60	маса, г	93,6±7,77	92,3±5,11	91,0±4,94	87,1±5,67	90,1±3,84
	% до конт.	100	98,6	97,2	93,1	96,3

Вищими були і значення середнього показника маси тіла щуреняти на 20 добу в II і III групах, яка становила в II групі 29,0 г (114,6 %), III — 27,3 г (107,9 %) проти 25,3 г у контролі. Це вказує на виражений позитивний вплив GeЦ у дозі 10 і 20 мкг Ge/кг м. т. на молочність самиць цих дослідних груп. Однак, в IV групі маса тіла одного щуреняти на 20 добу була нижчою на 18,2 % і становила 20,7 г, що може зумовлюватися як вищою дозою GeЦ, так і більшою (43) кількістю щуренят у групі. Маса тіла щуреняти VI групи у цей період була вищою, ніж у IV групі, але меншою на 6,7 % порівняно до контролю. Інтенсивність росту щуренят дослідних груп за масою тіла не вірогідно знижувалась порівняно до контролю на 40 добу, що може зумовлюватись більшою чисельністю щуренят у цих групах самиць. Маса тіла щуренят була незначно меншою від показника контролю в II, III і VI групах на 40 і 60 доби випоювання Ge цитрату. Найнижча інтенсивність росту впродовж 2-ох місяців відзначена у тварин IV групи, що може бути зумовлено високими показниками багатоплідності (49 щуренят) самиць і їх збереженості (86 %) у цій групі, а також меншою на 6,5 % масою тіла на першу добу життя порівняно з контролем. Однак, відставання в інтенсивності росту щуренят IV групи на 60 добу зменшилось до

6,9 % проти 18,2 і 20,4 % на 20 і 40-ву доби, що вказує на стимулюючу дію цієї дози Ge на розвиток їх організму у період споживання рослинних кормів.

Оцінка росту і розвитку щуренят з визначенням абсолютних величин і коефіцієнтів маси внутрішніх органів показала не однакову спрямованість їх значень для легень, селезінки, нирок та печінки самців щурів дослідних груп (табл. 3.21). Зокрема, показники маси серця та його коефіцієнти у самців III, IV і VI груп зростали порівняно до контролю з вірогідними різницями для тварин III і VI груп.

Таблиця 3.21

Показники маси внутрішніх органів і коефіцієнти їх маси самців щурів F_1 у віці двох місяців (M±m, n=6)

Орган	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
	Маса органу (г) / коефіцієнт маси (г/кг)				
Серце	0,35±0,01 3,8±0,20	0,39±0,02 3,7±0,09	0,41±0,03** 4,4±0,43	0,36±0,03 4,3±0,12	0,38±0,01* 4,3±0,19
Легені	0,80±0,04 9,6±0,47	0,80±0,06 7,9±0,91	0,74±0,04 8,5±0,70	0,71±0,03 8,4±0,18	0,66±0,04 7,5±0,38
Селезінка	0,18±0,01 2,2±0,11	0,22±0,02 2,1±0,14	0,18±0,01 1,9±0,18	0,18±0,02 2,0±0,19	0,18±0,01 1,7±0,29
Нирки	0,84±0,04 9,2±0,17	0,87±0,05 8,4±0,22	0,82±0,06 8,3±0,53	0,71±0,03 8,5±0,17	0,74±0,01 8,3±0,27*
Печінка	3,2±0,12 37,6±0,76	3,6±0,13* 35,0±0,74	3,3±0,22 34,8±1,04	2,8±0,15 33,5±0,51	3,0±0,17 34,0±0,79

Отже, GeЦХС не зумовлював вірогідно вираженого впливу на ріст і розвиток серця у самиць F_0, які отримували 2 мг Ge/кг м. т. (див. табл. 3.14), але стимулював формування цього органу у їх приплоду аналогічно як GeЦ у дозі 20 мкг у тварин III групи. Дещо іншими були результати досліджень маси решти органів, що, очевидно, пов’язано із залежністю їх від змін маси тіла щуренят. Зокрема, показники маси легень, селезінки та нирок самців дослідних груп вірогідно не відрізнялись від їх величин у контрольній групі. Коефіцієнти маси цих органів були найнижчими у тварин VI групи, з вірогідною різницею до контролю для нирок. Маса печінки вірогідно зростала тільки у самців II групи

порівняно до контролю та залишалась на його рівні у решти дослідних груп з тенденцією до нижчого значення коефіцієнтів маси.Встановлено виражений стимулюючий вплив застосованих доз цитратів Ge на показники постнатального розвитку організму самців F_1 дослідних груп у наступні вікові періоди, що зумовлювало міжгрупові відмінності їх маси тіла порівняно до контрольної групи. Зокрема, показники маси тіла, що характеризують інтенсивність росту і розвитку самців дослідних груп, переважали їх величини у тварин контрольної групи. Динаміка маси тіла самців II – IV дослідних груп у вікові періоди 70–120 діб була вищою порівняно з контролем на 1,3–12,2 % (табл. 3.22). Найвищі позитивні міжгрупові різниці порівняно з контролем відзначено у тварин III групи (7,3–12,2 %), у той час як у II і IV групах ці відмінності становили 1–5 %, а для VI групи маса тіла самців була меншою на 2–9 %. Характерно, що вищий рівень міжгрупових різниць маси тіла у щурів II–IV груп порівняно з контрольною групою встановлено у віковому періоді 100–120 діб (4–10 %). У першу декаду після відлучення (60–70 діб) маса тіла самців II і IV дослідних груп становила 101,3 і 101,7 % і зросла до 103,4–105,4 і 103,6–105 % відповідно на 100–120 доби.

Таблиця 3.22

Динаміка маси тіла самців щурів F_1 у віці 70–120 діб, г (M±m, n=5)

Група / доза Ge в мкг/кг м. т.	Вікові періоди постнатального росту і розвитку, діб					
	70	80	90	100	110	120
I – кон-ль %	106,8±5,15 100	117,2±5,79 100	132,0±5,77 100	148,4±5,91 100	164,8±5,81 100	179,2±5,41 100
II – 10 %	108,2±5,37 101,3	119,6±5,37 102,0	135,6±5,68 102,7	153,4±5,95 103,4	171,2±6,11 103,9	188,8±6,12 105,4
III – 20 %	114,6±5,64 107,3	126,6±5,30 108,0	143,4±5,31 108,6	162,0±5,64 109,2	181,8±5,32 110,3	201,0±4,92* 112,2
IV – 200 %	108,6±4,99 101,7	119,2±4,86 101,7	136,4±4,93 103,3	153,8±5,58 103,6	172,4±5,52 104,6	188,2±5,56 105,0
VI – 2000 %	104,8±5,15 98,1	114,6±4,82 97,8	127,2±4,91 96,4	140,4±4,64 94,6	152,0±5,03 92,2	163,2±5,29 91,1

Маса внутрішніх органів самців дослідних груп вірогідно не відрізнялася від їх величини у тварин контрольної групи (табл. 3.23), що підтверджує відсутність токсичного чи інгібуючого впливу за умов тривалої дії різних доз

германію цитрату на їх розвиток. Однак, відзначено не вірогідне зниження показників маси печінки, нирок, селезінки і легень у щурів дослідних груп, що більше виражено у тварин III, а для легень — VI груп.

Таблиця 3.23

Маса внутрішніх органів і коефіцієнти їх маси у самців щурів F_1 у віці 4-4,5 місяці (M±m, n=5)

Орган	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
	Маса органу (г) / коефіцієнт маси (г/кг)				
Серце	0,6±0,06 3,5±0,19	0,6±0,03 3,5±0,20	0,6±0,03 3,8±0,15	0,6±0,03 3,6±0,13	0,6±0,02 3,4±0,08
Легені	1,4±0,27 8,1±0,99	1,3±0,07 7,5±0,51	1,2±0,03 7,8±0,57	1,5±0,10 8,5±0,63	1,07±0,04 6,6±0,25
Селезінка	0,4±0,04 2,1±0,14	0,3±0,01 1,6±0,04**	0,3±0,03 1,7±0,11	0,4±0,01 2,0±0,19	0,3±0,02 1,9±0,08
Нирки	1,4±0,12 7,8±0,17	1,3±0,03 7,4±0,16	1,2±0,05 8,0±0,14	1,3±0,08 7,4±0,27	1,3±0,08 7,9±0,25
Печінка	5,8±0,51 35,8±0,87	4,9±0,22 28,3±0,98***	4,6±0,36 30,7±0,85**	5,5±0,37 31,2±0,61**	5,3±0,23 32,7±0,26**

Виявлена тенденція може зумовлюватися більшим анаболічним впливом Ge в дозі 20 мкг, що стимулювало інтенсивніший приріст м’язової маси тіла, ніж розвиток внутрішніх органів у самців III групи. Відсутність вірогідних різниць показників маси внутрішніх органів, порівняно з контрольною групою, підтверджує це і вказує на доцільність експериментальної перевірки цієї тенденції. У той час як вірогідно нижчі коефіцієнти маси печінки у тварин усіх дослідних груп, а селезінки — в II групі, підтверджують припущення про більше виражений анаболічний вплив Ge на приріст м’язової маси і менше — паренхіматозних органів.

Результати досліджень цього підрозділу опубліковані у журналі «Біологія тварин», 2016 [124], Віснику КНУ ім. Шевченка, 2016 [130], матеріалах міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини», 2016 [136] та матеріалах конференції (Молдова, 2016) [120].

3.8. Імунофізіологічні показники організму щуренят F_1 за дії різних доз германію цитрату

Аналіз імунофізіологічних показників крові самців щурів F_1 дослідних груп у віці 2–2,5 місяці вказує на збереження аналогічної як для самиць, спрямованості змін щодо вищого вмісту імуноглобулінів, ЦІК, ГЗБ, сіалових кислот, але нижчого — молекул середньої маси, проте на нижчому рівні порівняно з контрольною групою (табл. 3.24). Менше виражені міжгрупові відмінності зазначених показників у самців, ніж у їхніх матерів, можуть зумовлюватися різною тривалістю випоювання цитрату Ge для самиць (4 міс) і самців (1,5–2 міс). Тоді як вміст церулоплазміну у крові самців II, III і IV груп, на відміну від самиць, був вірогідно вищим, ніж у тварин контрольної групи. Однак у самців VI групи ця різниця не була вірогідною, що вказує на можливі відмінності впливу високої дози германію цитрату, який отримували методом хімічного синтезу, на обмін цього глікопротеїну та його вміст у периферичній крові.

Таблиця 3.24

Вміст імунних комплексів, глікопротеїнів та їх вуглеводних компонентів у крові самців щурів F_1 у віці 2–2,5 міс. (M±m, n = 6)

Показник	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Імунні глобуліни, г/л	12,7±0,34	14,1±0,39*	13,8±0,36*	13,3±0,44	13,0±0,38
МСМ, ум. од.	0,31±0,006	0,29±0,009*	0,26±0,003***	0,29±0,003***	0,25±0,006***
ЦІК, ммоль/л	70,9±2,02	89,8±1,49***	110,3±2,06***	143,2±8,88***	98,6±4,21***
Гексози, зв’язані з білками, г/л	1,27±0,05	1,24±0,05	1,50±0,09	1,53±0,08*	1,69±0,06***
Сіалові кислоти, ум. од.	118,7±1,87	127,3±7,49	187,2±7,60***	164,7±5,08***	174,7±7,55***
Церулоплазмін, ум. од.	234,0±11,21	335,7±8,08***	326,0±4,79***	312,5±14,11**	270,0±11,68

Отримані результати можуть свідчити про збереження основних закономірностей біологічної дії Ge цитрату у застосованих дозах на гуморальну

ланку імунофізіологічної активності організму як самиць щурів, так і їх приплоду, зокрема самців F_1. Вищий вміст церулоплазміну у крові самців дослідних груп, але нижчий у їх матерів порівняно з контролем, може зумовлюватися як тривалістю застосування Ge цитрату, так і віковими і статевими особливостями його впливу.

Підтвердженням цього є відсутність вірогідних різниць вмісту церулоплазміну в крові вагітних самиць F_1 всіх дослідних груп порівняно з контролем (див. табл. 3.4). Крім того, ці результати вказують на стимулювальну дію германію цитрату у використаних дозах на антиоксидантну здатність печінки самців. Тоді як для германію цитрату хімічно синтезованого у кількості 2000 мкг Ge/кг такий вплив відзначено на нижчому рівні, про що свідчить вищий вміст церулоплазміну у крові самиць VI групи, але без вірогідної різниці.

Аналіз інших імунофізіологічних показників організму самців вказує на вірогідно виражене зниження фагоцитарної активності крові та тенденції до підвищення фагоцитарного індекса за дії всіх застосованих доз Ge (табл. 3.25). Однак фагоцитарне число було меншим тільки у тварин IV і VI груп ($P \leq 0,01$), які отримували 200 і 2000 мкг Ge. У тварин II–IV дослідних груп встановлено підвищення кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну, показника гематокриту, що вказує на стимулювальний вплив GeЦ у дозах 10, 20 і 200 мкг на гемопоетичну функцію організму молодих щурів. Однак, висока доза GeЦХС виявляла лише тенденцію до підвищення цих показників у самців VI групи. Встановлені відмінності регуляторного впливу цих сполук на гемопоетичну функцію організму можуть зумовлюватися як застосованими дозами Ge цитрату, так і методами його отримання. Міжгрупові відмінності кількості лейкоцитів, зокрема лімфоцитів і моноцитів, у крові самців II–IV груп не відзначалися вірогідними різницями порівняно з контролем.

У той час як у крові тварин VI групи число лейкоцитів було вищим ($P < 0,01$), ніж у контролі. Це може вказувати на більше виражений вплив високої дози хімічно синтезованого германію цитрату на інтенсивність утворення цих клітин крові, як підвищену імунофізіологічну реакцію організму щурів ніж

германію цитрату, але у менших концентраціях. Однак кількість гранулоцитів вірогідно зростала у крові тварин всіх груп. Це свідчить про високу активність їх утворення та вивільнення з селезінки і меншою мірою — з кісткового мозку, з можливим залученням до синтезу інтерферонів у самців за дії як низьких, так і високих доз.

Таблиця 3.25

Імунофізіологічні показники крові самців щурів F_1 у віці 2–2,5 міс. (M±m, n = 9)

Показник	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Фагоцитарна активність, %	26,8±0,85	22,3±0,56***	22,4±0,86**	20,7±0,95***	21,1±0,74***
Фагоцитарний індекс, ум. од.	1,38±0,04	1,43±0,04	1,56±0,06**	1,45±0,03	1,42±0,04
Фагоцитарне число, ум. од.	0,37±0,02	0,32±0,01	0,35±0,02	0,30±0,02**	0,30±0,01**
Еритроцити, 10^{12}/л	6,4±0,18	6,9±0,19	7,2±0,27*	7,3±0,30**	6,7±0,31
Гемоглобін, г/л	125,1±3,62	138,0±2,80*	135,8±3,27*	152,9±6,35**	133,7±5,30
Гематокрит, л/л	0,37±0,009	0,40±0,008*	0,41±0,009**	0,42±0,014*	0,36±0,018
Лейкоцити, 10^9/л	4,9±0,34	6,0±0,44	5,1±0,99	5,8±0,63	7,0±0,30**
Лімфоцити, 10^9/л	2,7±0,58	3,1±0,359	2,3±0,75	2,7±0,46	4,0±0,35
Моноцити, 10^9/л	0,58±0,09	0,72±0,08	0,43±0,09	0,76±0,08	0,61±0,05
Гранулоцити, 10^9/л	1,6±0,04	2,2±0,05***	2,3±0,15***	2,4±0,17***	2,4±0,12***
Тромбоцити, 10^9/л	541,8±13,58	486,1±13,82*	511,7±13,96	429,2±13,99***	416,6±12,72***

Відомо, що гранулоцити, як і деякі популяції макрофагів та інших лімфоїдних елементів, відносяться до клітин з цитолітичною дією за наявності антитіл. Доведено, що активність цих клітин у периферичній крові та селезінці мишей найвища, а кістковому мозку – найнижча [83]. Очевидно, вказана популяція лейкоцитів у молодих щурів-самців найбільш чутлива до

стимулювальної дії цитрату Ge у застосованих дозах незалежно від методів його отримання. Це вказує також на те, що стимулювальний вплив на надходження лімфоцитів у периферичну кров щурів проявляє, очевидно, не комплексна цитратна сполука, а іон Ge. Характерно, що лейкоцити з цитологічною дією, до яких віднесені гранулоцити, не здатні до фагоцитозу. Отже, вірогідне підвищення кількості гранулоцитів у крові самців дослідних груп могло зумовити зниження ФА їх крові.

Однак, така особливість впливу германію цитрату властива тільки для молодих щурів, оскільки у крові самиць F_0, які отримували його 4 міс., ФА була нижчою у тварин III–VI дослідних груп, а кількість гранулоцитів зменшувалася лише у III і V (P <0,001) групах (див. табл. 3.2). Встановлено зниження кількості тромбоцитів у крові самців усіх дослідних груп, проте вірогідно нижчим, порівняно з контролем, цей показник був у тварин II, IV і VI груп, у той час як в їх матерів — III, IV і VI груп. Отже, випоювання щурам F_1 германію цитрату, що отриманий методами нанотехнології та хімічного синтезу, зумовлює виражений його вплив на імунофізіологічний стан самиць і самців, що характеризується як стимулювальною, так і супресивною дією на клітинну та гуморальну ланки імунної системи та гематологічний профіль їх організму.

Аналіз гематологічних показників вказує на відсутність вірогідних різниць у кількості еритроцитів, гемоглобіну (крім III групи) і величини гематокриту у тварин дослідних і контрольної груп. Однак, для кількості еритроцитів і величини гематокриту спостерігається виражена тенденція до підвищення цих показників у тварин всіх дослідних груп порівняно до контролю. Найвищий рівень цих показників встановлено у щурів III групи, що підтверджується й вірогідно вищим вмістом гемоглобіну. Очевидно, 20 мкг Ge/кг м. т. для самців щурів у період статевого дозрівання діє ефективніше на біосинтез цього протеїну еритроцитів і надходження їх у периферичну кров, ніж 10, 200 і 2000 мкг Ge.

Дослідження клітин крові самців щурів F_1 у віці 4–4,5 місяці вказує на вірогідно виражену імунофізіологічну реакцію організму та імунної системи на тривале застосування германію цитрату. Зокрема, у крові тварин усіх дослідних

груп вірогідно збільшувалась кількість лейкоцитів, у тому числі лімфоцитів і гранулоцитів (табл. 3.26).

Таблиця 3.26

Гематологічні показники організму самців щурів F_1 у віці 4–4,5 міс. (M±m, n=5)

Показник	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Еритроцити, 10^12/л	6,4±0,45	7,2±0,37	7,8±0,47	7,7±0,40	7,0±0,40
Гемоглобін, г/л	145,0±3,62	147,2±3,61	156,2±2,96*	146,8±2,15	142,8±3,51
Гематокрит, л/л	0,36±0,029	0,38±0,015	0,44±0,022	0,41±0,021	0,38±0,011
Лейкоцити, 10^9/л	7,8±0,57	10,5±0,58*	9,7±0,39*	10,1±0,51*	10,1±0,47*
Лімфоцити, 10^9/л	4,5±0,27	6,3±0,47**	5,7±0,46	5,8±0,36*	6,3±0,39**
Моноцити, 10^9/л	0,9±0,13	1,4±0,10*	1,2±0,20	1,5± 0,22	1,1 ± 0,23
Гранулоцити, 10^9/л	2,5±0,09	2,7±0,07*	2,9±0,11*	2,8±0,08*	2,7±0,11
Тромбоцити, 10^9/л	323,3±14,48	338,4±14,04	396,3±14,93**	342,7±16,44	330,3±11,02

Збільшення кількості лімфоцитів і гранулоцитів, а не вірогідно — й інших клітин у крові самців щурів усіх дослідних груп, вказує на високу інтенсивність їх утворення та виходу з селезінки і менше — кісткового мозку за дії застосованих доз германію цитрату. Відомо, що активність гранулоцитів, як і деяких інших лімфоїдних елементів, у периферичній крові та селезінці гризунів найвища, а кістковому мозку – найнижча [3]. Очевидно, вихід лімфоцитів і гранулоцитів у периферичну кров більш чутливий до стимулювальної дії германію цитрату у застосованих дозах, ніж інших форм лейкоцитів. Число моноцитів було вірогідно вищим порівняно з контролем лише у крові тварин II групи, але зберігалася виражена тенденція до вищого рівня їх у щурів інших дослідних груп. Це може вказувати на менше виражений стимулюваний вплив застосованих вищих доз германію цитрату на надходження цих клітин у периферичну кров. Характерним є

також вірогідне підвищення кількості тромбоцитів у крові щурів III групи зі збереженням тенденції до вищого рівня у тварин інших дослідних груп.Отримані результати досліджень гематологічних показників вказують на відсутність токсичного впливу застосованих доз Ge цитрату. Відзначено виражену стимулюючу дію дози в 20 мкг Ge на рівень гемоглобіну і тромбоцитів у периферичній крові самців щурів у період завершення фізіологічного дозрівання.

Аналіз отриманих результатів вказує на виражений стимулюючий вплив застосованих доз германію цитрату, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу, на функціональну активність імунної системи організму щурів F_1. Це підтверджується вірогідно вищим вмістом імуноглобулінів, МСМ, сіалових кислот (крім IV групи) у крові самців щурів дослідних груп F_1 у віці 4–4,5 місяці (табл. 3.27). Характерно, що більше виражені відмінності вмісту цих речовин у крові тварин були у III і VI групах порівняно з контрольною групою. У той час як у крові самців IV групи рівень імуноглобулінів був вищим на 29 %, а сіалових кислот — на 8 % стосовно контролю, але не вірогідно.

Таблиця 3.27

Вміст імунних комплексів, глікопротеїнів та їх вуглеводних компонентів у крові самців щурів F_1 у віці 4–4,5 міс. (M±m, n=5)

Показник	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Імуноглобуліни, г/л	5,4±0,26	6,1±0,37	8,9±0,33***	7,0±0,77	10,1±0,44***
МСМ, у.о.	0,21±0,018	0,26±0,010	0,27±0,006*	0,26±0,006*	0,28±0,004**
ЦІК, ммоль/л	73,2±3,12	42,7±2,51***	42,5±2,01***	78,8±4,26	32,3±2,06***
Гексози, зв’язані з протеїнами, г/л	3,5±0,12	2,8±0,16**	2,9±0,17*	4,3±0,38	4,2±0,34
Сіалові кислоти, у. о.	132,2±4,81	162,2±4,10**	166,8±4,72***	142,8±3,26	154,6±6,73*
Церулоплазмін, у. о.	374,2±13,67	358,4±24,46	386,2±14,39	390,8±22,69	404,8±18,15

Встановлені відмінності стимулювального впливу застосованих доз GeЦ на імунофізіологічну активність організму самців щурів можуть вказувати на певні

вікові та біологічні особливості дії низьких і високих доз цієї сполуки, зокрема на синтез імуноглобулінів і глікопротеїнів. Таке припущення підтверджують міжгрупові відмінності й інших досліджених показників — ЦІК і гексоз, зв'язаних з протеїнами. Зокрема, вміст ЦІК у крові самців II, III і VI груп був вірогідно нижчим, проте у тварин IV групи їх рівень виявляв тенденцію до підвищення порівняно з контролем.

Вміст гексоз, зв'язаних з протеїнами також знижувався у крові самців II ($P \leq 0,05$) і III ($P \leq 0,01$) груп, але в IV і VI групах рівень їх був не вірогідно вищим, як і церулоплазміну в III, IV і VI групах. Встановлені відмінності вмісту глікопротеїнів та їх компонентів у крові самців дослідних груп вказують на не однакову дію різних доз германію цитрату на обмін глікопротеїнів. Це можна пов'язувати з імунологічними властивостями їх вуглеводних компонентів. Відомо, що окремі глікопротеїни крові можуть брати участь у ранніх імунофізіологічних реакціях організму, а сполуки Ge здатні їх посилювати за дії стресових та аліментарних чинників. У той час як вірогідне зниження вмісту гексоз, зв'язаних з протеїнами у крові самців II і III груп виявляє позитивний зв'язок зі зниженням рівня ЦІК у цих тварин. Це може вказувати на функціональну спорідненість цих компонентів за дії не високих доз Ge.

Результати досліджень цього підрозділу опубліковані у «Фізіологічному журналі», 2017 [122] та Віснику КНУ ім. Шевченка, серія «Проблеми регуляції фізіологічних функцій», 2016 [130].

3.9. Біохімічні процеси в крові щуренят F_1 за дії різних доз германію цитрату

Випоювання самцям щурів F_1 германію цитрату різної концентрації сприяло вірогідному підвищенню у крові вмісту загального протеїну в VI групі, а також зменшенню альбуміну в II і VI групах на тлі збільшення ($P < 0,001$) його рівня у тварин III групи (табл. 3.28). Позитивний біологічний вплив застосованих доз германію цитрату підтверджується вірогідним зниженням у крові самців активності АлАТ ($P < 0,001$) у всіх дослідних групах та АсАТ — в III і не

вірогідно — II, IV і VI, а також креатиніну в III, IV і VI групах. Це вказує на високу функціональну активність тканин печінки та клубочкової зони нефрону нирок щодо очищення крові від продуктів розпаду протеїнів, креатину та окремих амінокислот.

Таблиця 3.28

Біохімічні показники крові самців щурів F_1 у віці 2–2,5 місяці (M±m, n = 5)

Показник	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI – 2000
Загальний протеїн, г/л	66,6±0,68	66,6±1,02	68,2±1,09	68,4±0,93	72,6±1,90**
Альбумін, г/л	31,8±0,68	29,0±0,61*	40,9±1,29***	34,0±0,98	28,2±0,61*
АлАТ, мккат/л	0,53±0,01	0,38±0,02***	0,29±0,01***	0,36±0,01***	0,40±0,02***
АсАТ, мккат/л	0,81±0,01	0,77±0,02	0,65±0,02***	0,75±0,03	0,73±0,04
Креатинін, мкмоль/л	64,0±1,07	65,9±1,38	60,3±0,98*	56,7±1,71*	50,4±1,65***
Фосфор, ммоль/л	1,70±0,10	1,90±0,15	2,00±0,13	2,50±0,06***	3,20±0,07***
Кальцій, ммоль/л	4,30±0,31	3,30±0,11*	2,50±0,09**	3,10±0,12*	2,50±0,07**
ТАГ, ммоль/л	1,70±0,07	1,49±0,08	1,06±0,10**	1,76±0,06	1,56±0,10

За даними [6] органічні сполуки Ge здатні відновлювати функції нирок і печінки, у тому числі знижувати рівень активності трансаміназ крові. Отримані результати вказують на регулюючий вплив германію цитрату на вміст Фосфору і Кальцію у кров'яному руслі щурів F_1. Зокрема, встановлено дозозалежне підвищення вмісту Фосфору у крові щурів дослідних груп з високою вірогідністю різниць у IV і VI групах. У той час як рівень Кальцію у крові тварин дослідних груп був вірогідно нижчим, що вказує на можливий синергічний для Фосфору й антагоністичний для Кальцію зв'язок Ge в організмі ссавців. Відзначено нижчий вміст ТАГ у крові самців щурів II, III ($P < 0,01$) і VI груп, що спостерігали й у самиць цих груп, проте у IV групі самців ця залежність не підтверджується.

Результати досліджень фракційного складу фенолів у тканинах печінки, скелетних м’язів і нирок самців щурів не виявляли вірогідних змін вмісту вільних фенолів порівняно до контролю (табл. 3.29). Тоді як для комплексних парних сполук з фенолами встановлено вірогідне зростання кон’югованих з сірчаною та глюкуроновою кислотами фенолів у всіх досліджуваних тканинах щурів III групи.

Таблиця 3.29

Уміст фенолів у тканинах самців щурів у віці 2–2,5 місяці (M±m, n=3, 4)

Показник	Група / доза Ge, мкг/кг м. т.	Тканини		
		печінка	скелетні м’язи	нирки
Вільні феноли, мкмоль/кг тканини	I – кон-ль	67,6±0,55	67,3±1,04	48,3±0,43
	II – 10	70,8±1,82	68,3±1,49	46,9±1,41
	III – 20	68,5±1,56	69,1±0,89	48,5±0,16
	IV – 200	70,2±0,10	67,6±0,10	48,6±0,10
	VI – 2000	70,5±1,29	69,7±1,36	49,8±1,00
Фенолсульфати, мкмоль/кг тканини	I – кон-ль	79,8±1,11	78,1±0,86	59,4±0,81
	II – 10	83,2±1,55	76,7±1,08	66,5±3,08
	III – 20	86,5±1,17**	81,3±0,74*	63,3±0,67**
	IV – 200	85,8±1,47*	81,4±1,41	64,7±0,81**
	VI – 2000	78,0±1,74	82,1±1,65	63,0±1,13*
Фенолглюкуроніди, мкмоль/кг тканини	I – кон-ль	192,1±3,45	197,8±2,09	157,1±1,62
	II – 10	201,2±2,86	206,3±3,75	153,9±1,55
	III – 20	204,2±2,01**	209,0±2,66*	166,5±2,38*
	IV – 200	190,7±3,41	202,2±1,49	164,3±2,38
	VI – 2000	199,8±2,64	196,5±2,49	159,8±1,96

Характерним є також вірогідно вищий вміст фенолсульфатів у тканинах печінки та нирок щурів IV групи з не вірогідно вищим рівнем їх у скелетному м’язі. Отже, одержані результати вказують, що різні дози Ge цитрату, отриманого методом нанотехнології та хімічного синтезу, зумовлюють не однаковий їх вплив на фізіолого-біохімічні реакції та детоксикаційну здатність організму самиць F_0 і самців F_1, оскільки біологічна дія цих сполук характеризується як стимулюючим, так і супресивним проявом щодо цих процесів.

Аналіз фізіолого-біохімічних показників крові самців щурів F_1 у віці 4–4,5 місяці, вказує на міжгрупові різниці вмісту загального протеїну, альбуміну, триацилгліцеролів і Кальцію, а також аланін- та аспартатамінотрансферазної активності крові. Зокрема, відзначено зниження концентрації загального протеїну

у крові тварин дослідних груп, крім IV, з вірогідною її різницею в VI групі (на 9,5 %) за випоювання високої концентрації GeЦХС порівняно до контролю (табл. 3.30).

Таблиця 3.30

Біохімічні показники крові самців щурів F_1 у віці 4–4,5 місяці (M±m, n = 5)

Показник	Групи				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II – 10	III – 20	IV – 200	VI –2000
Загальний протеїн, г/л	74,6±1,48	70,7±1,07	71,6±1,52	79,2±3,19	67,6±1,31*
Альбумін, г/л	37,1±1,09	33,5±0,37*	45,8±0,77***	40,8±1,26	36,4±0,78
АлАТ, мккат/л	0,52±0,023	0,43±0,039	0,43±0,049	0,55±0,020	0,53±0,035
АсАТ, мккат/л	0,73±0,026	0,92±0,056*	0,74±0,033	0,74±0,049	0,72±0,025
Креатинін, мкмоль/л	51,3±1,86	63,8±1,44***	57,9±1,11**	55,1±1,04	56,9±2,01
ТАГ, ммоль/л	1,17±0,027	0,68±0,043***	1,32±0,060*	1,49±0,056**	1,25±0,059
Фосфор, ммоль/л	2,8±0,11	2,7±0,13	3,0±0,40	2,4±0,13	2,4±0,19
Кальцій, ммоль/л	2,8±0,09	2,6±0,05	2,6±0,05	2,6±0,04	2,7±0,06

Вищий на 6 % рівень протеїну в крові тварин IV групи можливо зумовлювався не вірогідним зростанням вмісту альбуміну, в той час як у самців II і VI груп рівень альбуміну був нижчим. Це підтверджується й нижчим вмістом загального протеїну у крові тварин цих груп, проте у III групі вміст альбуміну зростав на 23 %, що не відповідає тенденції до зменшення загального протеїну у крові самців цієї групи. Вищий вміст загального протеїну у крові самців IV групи може вказувати на фізіологічно зумовлений оптимізуючий вплив застосованої дози (200 мкг Ge) на синтез протеїнів, транспортну здатність крові й забезпечення тканин організму киснем. Встановлено, що тривале застосування диоксиду германію з кормом у дозі 0,9 мг/кг на добу зумовлювало збільшення приростів

маси щуренят [159]. Там же вказується, що низька (0,0956 ммоль/л) концентрація Ge стимулює, а висока — зменшує поглинання O_2 тканинами печінки та мозку.

Аланінамінотрансферазна активність крові не виявляла вірогідних різниць у тварин дослідних груп, проте спрямованість відмінностей була протилежна за дії малих (10 і 20 мкг) і високих (200 і 2000 мкг) доз Ge. Аспартатамінотрансферазна активність крові залишалась на рівні контролю у щурів дослідних груп, за винятком II групи, у тварин якої її активність вірогідно зростала на 26 %. Це може мати зв'язок з протеїн-синтетичною активністю тканин печінки і нижчим на 9,7 % вмістом альбуміну в крові щурів цієї групи.

Вміст креатиніну зростав у крові тварин усіх дослідних груп порівняно з контрольною з вірогідними різницями для самців щурів II і III груп, яким випоювали низькі дози Ge. Однак, рівень креатиніну в крові залишався в межах фізіологічних величин, що може вказувати на зростання інтенсивності катаболізму протеїнів за дії Ge у щурів дослідних груп. Характерно, що вміст креатиніну в крові щурів, які отримували малу кількість (10 і 20 мкг GeЦ) був вищим, порівняно з рівнем його у тварин, яким випоювали високі дози – 200 мкг з GeЦ і 2000 мкг — з GeЦХС. Вказана закономірність відзначалася в проведених нами попередніх дослідженнях [202]. Це може обумовлювати стимулюючий вплив малих доз Ge цитрату на перетворення креатину в креатинфосфат, який інгібує утворення креатиніну.

Дозозалежні зміни були відмічені для концентрації триацилгліцеролів у крові – зниження за впливу низької концентрації GeЦ (II група) та зростання за вищих доз (III, IV групи). Однак, у крові тварин VI групи рівень ТАГ виявляв тільки незначну тенденцію до зростання порівняно з контролем, що вказує на відмінності впливу високої дози GeЦХС, порівняно з нижчими дозами GeЦ в III і IV групах. У літературі наявні дані щодо впливу спірогерманію на ліпідний обмін зі зниженням рівня холестеролу в крові собак [77].

Досліджені показники мінерального обміну за вмістом P і Ca у крові самців дослідних груп суттєво не змінювалися порівняно з контролем і залишалися в межах фізіологічних величин. Відстежується незначна тенденція до зменшення

рівня Са в організмі тварин II, III і IV груп, що відзначалось у самців цих груп у віці 2 місяці і може вказувати на слабо виражений інгібуючий вплив германію цитрату на рівень цих макроелементів у крові. Однак, дані інших авторів вказують на позитивний вплив карбоксиетилгермсесквіоксану на мінералізацію кісток [240], а інших координаційних сполук Ge з органічними кислотами — на фосфорно-кальцієвий обмін у тканинах зубів [66].

Оцінка показників детоксикаційної здатності організму самців щурів дослідних груп не показала вірогідних змін вмісту вільних фенолів у тканинах печінки, скелетних м'язів і нирок порівняно з контролем (табл. 3.31).

Таблиця 3.31

Уміст вільних і кон'югованих фенолів у тканинах самців щурів F_1 у віці 4–4,5 місяці (M±m, n=3, 4)

Показник	Група / доза Ge, мкг/кг м. т.	Тканини		
		печінки	скелетних м'язів	нирок
Вільні феноли, мкмоль/кг тканини	I – кон-ль	68,6±0,42	47,6±0,57	66,2±0,84
	II – 10	69,2±0,62	47,8±1,08	65,2±0,77
	III – 20	70,8±1,23	48,4±0,78	66,6±0,55
	IV – 200	69,8±0,10	47,3±0,10	67,2±0,10
	VI – 2000	69,8±0,71	49,8±1,41	68,1±1,13
Фенолсульфати, мкмоль/кг тканини	I – кон-ль	78,1±1,15	63,3±1,30	76,9±0,36
	II – 10	82,3±1,00	67,12±1,79	78,0±0,95
	III – 20	85,0±1,14**	61,9±0,67	81,3±1,03**
	IV – 200	81,5±0,26	60,9±1,16	78,8±0,94
	VI – 2000	83,9±1,56*	67,1±1,29	78,8±1,14
Фенолглюкуроніди, мкмоль/кг тканини	I – кон-ль	189,1±1,45	177,6±1,40	187,2±1,62
	II – 10	193,4±2,09	180,6±2,60	189,5±1,19
	III – 20	203,6±2,88**	182,6±2,93*	197,6±2,25**
	IV – 200	195,5±2,93	185,4±2,36	197,1±2,06**
	VI – 2000	192,1±2,09	180,6±1,68	188,6±2,38

Дослідження концентрації фенолсульфатів і фенолглюкуронідів свідчить про вірогідне зростання їх вмісту у тканинах печінки та нирок, а також фенолглюкуронідів у скелетних м'язах самців щурів III групи порівняно з контролем. Однак, вищий вміст кон'югованих фенолів у тканинах печінки і нирок відмічено також для тварин II, IV та VI (тільки печінки) груп з вірогідною

різницею для фенолсульфатів у печінці щурів VI групи. У тканинах нирок самців щурів IV групи вірогідно підвищувався вміст фенолглюкуронідів зі збереженням тенденції до вищої концентрації фенолсульфатів порівняно з контрольною групою. У скелетних м’язах щурів II, IV та VI груп відзначено виражену тенденцію до вищого вмісту фенолглюкуронідів, що вказує на певні фізіолого-біохімічні відмінності дії Ge на детоксикаційну здатність тканин м’язів і внутрішніх органів.

Одержані результати вказують на те, що випоювання щурам різних доз Ge цитрату, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу, зумовлює не однаковий їх вплив на детоксикаційну здатність організму самців щурів F_1, оскільки біологічна дія цих сполук у вищих дозах характеризується більше вираженим стимулюючим проявом щодо інтенсивності цих процесів у досліджених тканинах. Однак, вірогідно виражених відмінностей перебігу детоксикаційних процесів в організмі самців щурів II–IV груп порівняно з VI групою за дослідженими показниками у період дії германію цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого не встановлено. Отримані результати досліджень не вказують на виражений токсичний вплив високої (2 мг Ge/кг м. т.) дози цитрату германію, отриманого методом хімічного синтезу на організм, проте вірогідне зниження вмісту загального протеїну у крові та збільшення — фенолсульфатів у печінці самців щурів VI групи може свідчити про певне напруження обміну протеїнів і фенолів в організмі цих тварин.

Результати досліджень цього підрозділу опубліковано у Віснику ЛНУ ім. Франка, 2016, 2017 [131, 134] та матеріалах конференції м. Одеса, 2016 [135].

3.10. Регуляторний вплив різних доз германію цитрату на вміст мікроелементів у тканинах самців щурів F_1

Випоювання германію цитрату самцям щурів F_1 до досягнення 2-місячного віку характеризувалося однаково спрямованою дією його як у їх матерів на вміст досліджених мікроелементів. Відзначено як збільшення, так і зменшення вмісту окремих мікроелементів у тканинах щурів дослідних груп за дії найнижчої

(10 мкг Ge), середньої та високих доз. Про це вказує аналогічне як у самиць F_0 вірогідне збільшення у тканинах печінки та нирок самців II групи вмісту Cu, Mn і Zn, а в м'язах — тільки Mn порівняно з контролем (табл. 3.32).

Таблиця 3.32

Вміст мікроелементів у тканинах самців щурів F_1 у віці 2–2,5 місяці, мг/кг м. т. (n = 4–5)

Тканини	Елементи	Групи				
		контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
		I	II–10	III–20	IV–200	VI–2000
Печінки	Cu	5,6±0,25	7,7±0,36**	4,7±0,36	5,0±0,46	3,8±0,38***
	Co	3,8±0,28	3,5±0,24	2,0±0,18**	2,3±0,21**	2,0±0,12**
	Mn	3,5±0,21	4,9±0,19**	3,6±0,18	1,2±0,21***	2,0±0,13***
	Fe	40,7±1,89	24,5±1,07**	50,3±3,01*	33,7±4,95	62,2±2,58***
	Zn	68,1±2,13	74,6±1,74*	70,6±1,40	60,8±1,87*	62,4±1,51
Нирок	Cu	9,9±0,34	11,9±0,25**	4,0±0,18***	5,3±0,44***	8,3±0,31*
	Co	8,1±0,35	8,5±0,22	4,1±0,05***	4,7±0,22***	6,2±0,43*
	Mn	8,8±0,11	14,9±0,27***	7,4±0,23**	3,0±0,28***	3,3±0,14***
	Fe	58,9±3,27	39,6±1,36**	61,8±3,14	66,3±1,99	62,7±1,63
	Zn	124,8±4,85	142,5±4,33	89,7±2,48***	127,6±4,88	117,9±1,11
Легень	Cu	6,7±0,27	4,9±0,22**	5,2±0,25**	5,2±0,37*	4,0±0,23**
	Co	5,0±0,07	4,5±0,06**	1,7±0,08***	3,4±0,09***	2,6±0,03***
	Mn	5,0±0,18	4,8±0,21	4,0±0,20*	3,0±0,16***	3,4±0,19**
	Fe	34,1±2,59	37,4±3,33	32,7±3,07	45,5±2,39*	41,2±1,70
	Zn	72,7±3,63	61,4±4,14	83,5±2,81	80,9±5,12	59,8±0,66*
М'язів	Cu	3,9±0,29	3,1±0,22	2,7±0,18**	2,8±0,12*	2,1±0,18**
	Co	2,0±0,17	2,2±0,13	2,2±0,14	2,0±0,15	1,2±0,04**
	Mn	1,7±0,14	2,5±0,20*	2,6±0,18**	1,6±0,14	1,4±0,11
	Fe	22,6±1,03	21,8±1,89	11,9±0,99***	32,7±1,01***	31,5±2,04**
	Zn	24,9±2,44	25,6±2,37	28,1±2,31	21,8±0,51	27,5±1,56

Однак, відмінним від матерів є вірогідне зменшення у самців II групи вмісту Fe (40 і 33 %) у цих органах та не вірогідне — Cu (20 %) — м'язах порівняно до контролю. Слід також відзначити, що за дії малої концентрації GeЦ зменшується вміст Cu ($P < 0,01$) і Co ($P < 0,01$) у тканинах легень самців II групи. У III групі відзначено зниження вмісту Co ($P < 0,01$) та збільшення Fe ($P < 0,05$) у тканинах печінки, що спостерігалось й у самиць F_0 цієї групи (див. табл. 3.9). У нирках та легенях вірогідно зменшувався вміст Cu ($P < 0,001$; $P < 0,01$), Co ($P < 0,001$), Mn ($P < 0,01$; $P < 0,05$), а також Zn тільки в нирках ($P < 0,001$), що було відзначено

й у їх матерів. У тканинах м’язів самців III групи встановлено аналогічне як у їх матерів зниження вмісту Cu ($P < 0,01$), але протилежно спрямоване, ніж у самиць F_0 підвищення рівня Mn ($P < 0,01$) і не вірогідно — Zn на тлі значно нижчого вмісту Fe ($P < 0,001$).

Доза GeЦ в 200 мкг Ge/кг маси тіла зумовлювала аналогічно як у самиць F_0 зменшення вмісту окремих мікроелементів у досліджених тканинах внутрішніх органів самців IV групи з вірогідно нижчим рівнем в печінці — Co, Mn та Zn; нирках і легенях — Cu, Co та Mn, а м’язах — Cu. Однак, вміст Zn виявляв протилежну, ніж у самиць спрямованість, оскільки рівень Fe збільшувався у легенях ($P < 0,05$) та у м’язах ($P < 0,001$).

Вплив GeЦХС у високій дозі (2 мг Ge/кг) характеризувався зменшенням вмісту Cu, Co, Mn, що відзначено й у самиць F_0 VI групи (див. табл. 3.9), а також Zn (крім м’язів), у всіх досліджуваних тканинах самців цієї групи порівняно з контролем. Встановлені відмінності можуть бути пов’язані з пригніченням абсорбції цих елементів у травному каналі високою дозою Ge, або інгібуванням їх метаболічного засвоєння у цих тканинах на тлі підвищеного рівня Fe, зумовленого, очевидно, посиленням його всмоктування. У зв’язку з цим важливо відзначити збільшення вмісту Fe у тканинах як самиць, так і самців цих груп, що більше виражено у м’язовій тканині ($P < 0,01$). Це вказує на однаковий стимулюючий вплив GeЦХС у дозі 2 мг Ge в лактуючих самиць F_0, а також самців з їх приплоду у період інтенсивного росту, на надходження у кров і лімфу Fe та його депонування у тканинах печінки, легень і найінтенсивніше — м’язів.

Аналіз показників абсолютного вмісту мікроелементів в печінці, нирках і легенях свідчить про прямий позитивний зв’язок їх з рівнем у тканинах та масою органу. Зокрема, на це вказують вірогідне збільшення вмісту Cu, Mn і Zn в печінці та нирках, але зменшення Cu в легенях ($P < 0,05$), Fe — печінці ($P < 0,01$) та нирках ($P < 0,001$) самців II групи порівняно до контролю (табл. 3.33). У самців III групи зменшувався вміст Cu, Co, Mn та Zn в нирках ($P < 0,001$; $P < 0,01$) і легенях ($P < 0,05$, $P < 0,001$), (крім Zn), а також Co — печінці ($P < 0,01$), проте вірогідно збільшувався рівень Fe в печінці, а Zn — легенях ($P < 0,05$).

Таблиця 3.33

Абсолютний вміст Cu, Co, Mn, Fe і Zn у внутрішніх органах самців щурів F_1 у віці 2–2,5 місяці, мкг (n = 4–5)

Орган / Елементи	Група / доза Ge, мкг/кг м. т.				
	контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
	I	II–10	III–20	IV–200	VI–2000
Маса печінки, г	3,2±0,09	3,6±0,12*	3,3±0,15	3,2±0,20	3,3±0,16
Cu	18,0±0,81	27,8±1,29**	15,6±1,19	10,0±2,22*	12,4±1,24*
Co	12,1±0,89	12,7±0,88	6,7±0,61**	7,2±0,66**	6,6±0,40**
Mn	11,3±0,68	17,7±0,68***	11,9±0,61	3,7±0,68***	6,6±0,43**
Fe	130,2±6,05	88,3±3,86**	165,9±9,93*	107,7±15,83	205,1±8,53***
Zn	218,0±6,80	268,6±6,26**	232,9±4,61	194,7±5,99*	206,1±4,99
Маса нирок, г	0,80±0,03	0,85±0,04	0,83±0,04	0,75±0,03	0,75±0,01
Cu	7,9±0,27	10,1±0,21**	3,3±0,15***	4,0±0,33***	6,2±0,23**
Co	6,5±0,28	7,2±0,19	3,4±0,04***	3,5±0,16***	4,6±0,32*
Mn	7,1±0,09	12,7±0,23***	6,1±0,19**	2,2±0,21***	2,5±0,11***
Fe	47,1±2,62	33,7±1,16***	51,3±2,61	49,7±1,49	47,0±1,22
Zn	99,8±3,88	121,1±3,68*	74,4±2,06**	95,7±3,66	88,4±0,83*
Маса легень, г	0,70±0,05	0,79±0,06	0,73±0,03	0,70±0,03	0,69±0,04
Cu	4,7±0,19	3,9±0,17*	3,8±0,18*	3,6±0,26*	2,8±0,16**
Co	3,5±0,05	3,5±0,05	1,3±0,06***	2,4±0,06***	1,8±0,02***
Mn	3,5±0,12	3,8±0,16	2,9±0,15*	2,1±0,11***	2,3±0,13**
Fe	23,9±1,81	29,5±2,63	23,9±2,24	31,8±1,67*	28,4±1,17
Zn	50,9±2,54	48,5±3,27	61,0±2,05*	56,7±3,59	40,8±1,43*

Застосування дози в 200 мкг Ge з GeЦ зберігало спрямованість і величини вірогідних різниць між IV і контрольними групами у самиць і самців щодо нижчого вмісту Cu, Co і Mn у печінці, нирках і легенях на тлі зменшення ($P < 0,05$) рівня Zn в печінці та збільшення — Fe у легенях самців. Випоювання високої дози GeЦХС, в кількості 2 мг Ge/кг маси тіла, зумовило вірогідне зменшення вмісту Cu, Co та Mn в печінці, нирках і легенях, Zn — нирках та легенях і збільшення ($P < 0,001$) Fe в печінці порівняно з контрольною групою. Встановлені різниці абсолютного вмісту досліджених елементів в органах самців щурів VI групи зберігають їх тенденцію щодо відмінностей цих величин у самиць F_0 цієї групи, крім Fe і Zn у печінці та нирках.

У літературі відзначено певну залежність вмісту окремих мікроелементів у тканинах та органах тварин за дії екстрату з рослин із високим вмістом Ge. Зокрема, доведено, що застосування з водою екстракту женьшеню у лабораторних щурів вірогідно підвищує вміст Cu і Zn у тканинах нирок, селезінки і серця, а також зменшує рівень Zn у кишечнику. У той час як у тканинах скелетних м’язів відзначено не вірогідне збільшення вмісту Cu і Zn [177]. Ці дані можуть вказувати на опосередкований регуляторний вплив Ge на засвоєння та кумуляцію інших мікроелементів у тканинах та органах тварин.

Аналіз результатів досліджень вмісту Cu, Co, Mn, Fe і Zn у тканинах печінки, нирок, легень і скелетних м’язів щурів F_1 у віці 4 місяці свідчить про виражений регуляторний вплив застосованих доз германію цитрату на рівень цих мікроелементів у життєво важливих органах і м’язах. Зокрема, встановлено вищий вміст Cu у тканинах печінки, нирок (II, III, $P \leq 0,001$) і легень (II – IV і VI, $P \leq 0,001$) груп порівняно з контрольною (табл. 3.34). Вірогідно вищий вміст Cu у тканинах легень щурів усіх дослідних груп вказує на стимулюючий вплив застосованих доз цитрату германію, отриманого методами як хімічного синтезу, так і нанотехнології, на нагромадження та можливе виділення Cu у легенях. У той час як для печінки і нирок ця дія відзначена тільки для низьких (10 і 20 мкг) доз. Однак, вміст Cu у тканинах скелетних м’язів самців II дослідної групи суттєво не змінювався порівняно з контрольною групою, а для тварин III, IV і VI груп відзначено вірогідне зниження рівня цього елемента ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$). Характерним є також вищий рівень Cu у тканинах легень, але нижчий – печінки, нирок ($P \leq 0,01$) і скелетних м’язів ($P \leq 0,01$) щурів VI групи, які отримували 2000мкг Ge з GeЦХС.

У доступній для аналізу літературі нами не виявлено інших прямих даних, крім зазначених вище щодо синергічного чи антагоністичного впливу сполук Ge на рівень інших мікроелементів у тканинах та органах тварин. Однак вказується, що Ge діє опосередковано на тіосполуки інших елементів, серед яких цей зв'язок відзначений для Fe, Cu, Se. На певну залежність вмісту Ge, Fe, Cu, Se у вигляді біоорганічних сполук опосередковано вказують також результати дослідження

рослинної лікарської сировини, у якій відзначено прямо пропорційний зв'язок вмісту цих елементів в коренях женьшеню, деревію, кульбаби [53].

Таблиця 3.34

Уміст мікроелементів у тканинах самців щурів F_1 у віці 4–4,5 місяці, мг/кг (M ± m, n=3, 4)

Тканини	Елемент	Групи				
		контроль	дослід, мкг Ge/кг м. т.			
		I	II–10	III–20	IV–200	VI–2000
Печінка	Cu	3,5±0,78	10,6±0,42***	11,5±0,69***	4,0±0,31	1,7±0,26
	Co	0,9±0,09	1,4±0,21*	1,2±0,13	0,7±0,05	1,0±0,12
	Mn	2,2±0,55	8,6±1,12**	5,0±0,52*	1,2±0,17	1,4±0,04
	Fe	20,9±1,06	25,0±0,82*	23,6±0,73	29,0±1,06**	18,4±0,69
	Zn	86,7±6,35	82,8±6,44	124,1±6,32*	109,5±5,8	77,5±0,74
Нирка	Cu	5,1±0,33	9,5±051***	7,8±0,4**	4,5±0,36	3,3±0,27**
	Co	1,8±0,31	1,9±0,17	1,3±0,26	1,5±0,21	2,3±0,23
	Mn	2,5±0,95	4,2±0,76	3,9±0,20	3,6±0,28	2,8±1,45
	Fe	28,0±1,70	38,9±1,87*	29,8±1,22	20,9±0,93*	14,3±1,12**
	Zn	161,4±6,67	150,5±6,01	191,4±6,38*	108,1±0,48**	148,2±3,21
Легені	Cu	1,4±0,09	4,3±0,37***	4,7±0,31***	4,4±0,27***	2,8±0,16***
	Co	1,0±0,11	1,2±0,06	1,0±0,12	0,7±0,05*	1,1±0,07
	Mn	1,9±0,49	2,1±0,33	2,2±0,28	3,3±0,25*	4,1±0,25*
	Fe	20,2±1,46	35,3±2,35**	27,2±1,96*	27,8±2,22*	28,2±1,91*
	Zn	79,1±1,25	93,1±2,75**	72,5±1,09*	77,8±1,85	110,2±5,89**
М'язи	Cu	2,4±0,12	2,6±0,18	1,6±0,18*	1,3±0,15**	1,3±0,15**
	Co	0,54±0,05	0,49±0,05	0,29±0,02**	0,30±0,03**	0,23±0,04**
	Mn	1,4±0,26	1,5±0,49	0,9±0,08	0,7±0,11*	0,8±0,09
	Fe	17,4±1,18	12,0±0,62*	15,4±0,75	11,3±2,37	6,38±0,32***
	Zn	25,0±1,16	31,8±1,10*	27,3±1,30	16,3±0,64**	44,1±1,67***

Суттєві відмінності між дослідними і контрольною групами встановлено щодо вмісту Mn у тканинах печінки: вірогідно вищий рівень в II і III групах, але не вірогідно нижчий – в IV і VI групах. Уміст Mn у тканинах нирок тварин II – IV і VI дослідних груп зберігав тенденцію до вищого рівня порівняно з контролем. Однак, у тканинах легень тварин IV і VI груп вміст Mn підвищувався в 1,74 і 2,16 раза ($P \leq 0,05$). Це вказує на можливе нагромадження Mn в легенях та збільшення інтенсивності його виділення через дихальні шляхи за дії германію цитрату у високих (200 і 2000 мкг) дозах, отриманого методами як нанотехнології, так і хімічного синтезу. Збереження для Mn рівня контрольної групи у тканинах

скелетних м’язів щурів II групи зі зниженням у III, IV ($P \leq 0,05$) і VI групах може вказувати на антагоністичну дозозалежну дію германію цитрату на вміст цього елемента у м’язах щурів. Уміст Co у тканинах печінки щурів підвищувався в II ($P \leq 0,05$) і не вірогідно – III групах, проте у м’язах щурів III, IV і VI дослідних груп, а легень – IV групи рівень його був вірогідно нижчим, ніж у тварин контрольної групи. У тканинах нирок вірогідних змін концентрації Co не відзначено.

Відмінності між контрольною і дослідними групами вмісту Fe і Zn характеризувались вищим рівнем їх у тканинах печінки щурів III, IV груп, та II – тільки Fe, а також нирок (II – Fe, III – Zn), легень (II – IV і VI груп для Fe і II, VI – для Zn) і м’язів (II і VI груп для Zn). Відзначено зниження рівня цих елементів у тканинах нирок щурів IV і VI, а м’язів – II-IV і VI груп (для Fe) і IV групи – для Zn. Характерно, що високі дози цитратів Ge в IV і VI групах зумовлювали вірогідно нижчий вміст Fe і Zn у тканинах нирок, але вищий – легень, крім Zn для IV групи. Метаболічна дія цитратів Ge у м’язах щурів IV і VI груп характеризувалася нижчим вмістом всіх досліджених мікроелементів у цих тканинах за винятком рівня Zn у II і VI групах. Низький вміст Fe у тканинах м’язів щурів усіх дослідних груп може зумовлюватися посиленням доставки і використання O_2 у м’язах з участю цитратної сполуки Ge та зменшенням надходження гемоглобіну. На це вказують отримані раніше дані інших авторів про важливе значення Ge у забезпеченні O_2 тканинного метаболізму [6].

Результати досліджень цього підрозділу опубліковано у Віснику ЛНУ ім. Франка, 2017 [134] та журналі «Біологія тварин», 2017 [15].

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Результати дослідження імунофізіологічного стану оранізму самиць щурів батьківського покоління вказують на стимулюючий вплив різних доз GeЦ та GeЦХС на вміст імуноглобулінів, тоді як вміст молекул середньої маси знижувався. Однак, зростає рівень циркулюючих імунних комплексів і сіалових кислот у тварин за випоювання германію цитрату у кількості 20, 200 та 2000 мкг Ge.

З огляду на ці результати можна припустити, що надходження германію в організм активує клітинний імунітет, тим самим посилюючи функцію імунної системи, що відзначали інші автори за дії біотиту германію [338]. Проте фізіологічний вплив біотиту германію з активацією Т-клітин зумовлюється специфічними Т-клітинними відповідями, що можуть відрізнятися від дії германію цитрату.

Характерно, що зростає вміст гексоз, зв’язаних з протеїнами у крові самиць, яким випоювали германій цитрат, отриманий методом хімічного синтезу. Відзначено вищий вміст сіалових кислот у крові самиць III-VI груп, тоді як концентрація церулоплазміну у тварин цих груп знижувалася. Отримані нами результати щодо вищого вмісту глікопротеїнів у крові свідчать про властивість германію цитрату, отриманого методоми нанотехнології та хімічного синтезу, змінювати глікопротеїновий статус та підвищувати імунофізіологічну здатність організму самок щурів батьківського покоління. Про це свідчить зростання концентрації як самих глікопротеїнів, так і їх вуглеводних компонентів, що виступають у якості сигнальних молекул імунної системи та можуть впливати на імунну взаємодію щонайменше двома шляхами [299]. Вони визначають конформацію молекули глікопротеїнів, а також її біологічну акивність, що залежить від структурного поєднання вуглеводного компоненту з протеїнами. З іншої сторони, вуглеводні ланцюги в силу своєї структурної різноманітності

служать детермінантою для розпізнавання імунних молекул або клітин. Проведені дослідження інших авторів вказують, що зміни активності імунної системи можуть бути пов’язані з імуностимулюючою дією германію цитрату [79, 182, 202].

Дослідження загальної фагоцитарної активності та гематологічних показників крові самиць F_0 вказує на тенденцію до їх зниження за дії германію цитрату, отриманого методом нанотехнології в кількості 20 і 200 та хімічного синтезу — 200 і 2000 мкг Ge. Тоді як за випоювання низької (10 мкг Ge) дози їх рівень залишався на рівні контролю. Характерно, що найнижчі значення фагоцитарної активності та фагоцитарного числа відзначено у самиць V групи (200 мкг Ge), проте у III групі (20 мкг Ge) зростав фагоцитарной індекс. За даними Xue Wanli et al. [191] після внутрішньошлункового введення германію сесквіоксиду (Ge-132), Zn і Se у мишей покращувалися показники фагоцитозу, зокрема макрофагоцитозу та індексу фагоцитозу за дії 100 мг Ge/кг. Вказується, що ця доза може підвищувати швидкість утворення еритроцитарної розетки, трансформації лімфоцитів та рівня активності інтерлейкіну-6.

Відзначено виражений вплив різних доз германію цитрату на гематологічні показники організму вагітних самиць щурів F_1. Випоювання германію цитрату в кількості 10 та 20 мкг зумовлювало збільшення кількості еритроцитів і показника гематокриту. Тоді як рівень гемоглобіну вірогідно зростав за дії 10 та 2000 мкг германію цитрату. Збільшувалась також кількість лейкоцитів, у зв’язку зі зростанням лімфоцитів і моноцитів у всіх дослідних групах, а також гранулоцитів за дії 10 мкг Ge. З літературних джерел відомо, що сполуки Германію посилюють імунофізіологічні характеристики лімфоцитів: Т-хелперів і цитотоксичних Т-супресорів, натуральних кілерів та індукують вироблення декількох цитокінів [306]. Також встановлено, що Германій посилював імунні реакції та збільшував загальну кількість Т-лімфоцитів і цитотоксичних Т-супресорів за додавання його як харчової добавки в сполуці германій біотиду [238].

На активацію процесів кровотворення сполуками Германію вказують дослідження інших авторів. Зокрема, введення внутрішньом’язово телятам

препарату Гермакап, що містив 5,0 мг Ge у 100 мл препарату, зумовлювало не вірогідне підвищення кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну та показника гематокриту на 14 добу, з досягненням вірогідності цих різниць на 21 добу. На активацію імунної функції організму телят за дії препарату вказувало також поступове зростання числа лейкоцитів і стабілізація лейкоформули. Зокрема, встановлено нормалізацію відносної кількості сегментоядерних нейтрофілів та еозинофілів, а також підвищення лімфоцитів, що свідчить про покращення стану захисних систем організму [47].

Результати дослідження вмісту імуноглобулінів у крові вагітних самиць щурів F_1 вказують на неоднаковий вплив різних кількостей германію цитрату у тварин дослідних груп. Тривале випоювання самицям F_1 GeЦ в кількості 20 мкг Ge зумовлювало збільшення у крові вмісту Ig та ЦІК. Характерно, що концентрація ЦІК зменшувалась лише у II дослідній групі, а в III, IV та VI групах залишалась на рівні контролю. Концентрація МСМ залишалась на рівні контрольної групи за дії різних кількостей GeЦ, тоді як випоювання GeЦХС зумовлювало вірогідне зменшення їх рівня. Тривале введення внутрішньом’язово наноаквахелату германію щурам зумовлювало збільшення рівня загального білка та ЦІК в сироватці крові [48]. Вказані результати підтверджуються двохразовим введенням наноаквахелату германію курчатам в кількості 0,005 та 0,01 мл/гол, що посилювало утворення ЦІК на 7,7 і 16,6 % відповідно через 14 і 21 добу, а 28 добу — на 25 % порівняно до контролю.

Підвищення рівня глікопротеїнових показників у крові тварин F_1 дослідних груп вказує на активацію імунної системи їх організму аналогічно батьківському поколінню. Враховуючи, що глікозильовані імунні молекули відіграють важливу роль у забезпеченні імунного захисту, вміст вуглеводних компонентів глікопротеїнів може відображати фізіологічну реактивність організму. Зокрема, у період застосування щурам цитратів Ge, Cr і Se, а також цитратів Ge і Cr відзначена стійка підвищена імунобіологічна реакція організму [182]. Дослідники вказують на збільшення рівня сіалових кислот та церулоплазміну, але зменшення гексоз, зв’язаних з протеїнами у крові цих тварин. Доведено, що низка

фізіологічних ефектів Ge цитрату в організмі щурів залежить від концентрації моносахаридів вуглеводних компонентів глікопротеїнів. Це може мати суттєвий вплив на неспецифічну резистентність організму тварин, оскільки глікопротеїни беруть участь у функціонуванні імунної системи та формуванні антиоксидантного захисту.

Встановлено збільшення активності ензимів антиоксидантної системи крові самиць щурів F_1 за дії різних доз германію цитрату. Відзначено, що лише у III групі (20 мкг) зростала активність каталази та СОД, проте у IV та VI групах активність цього ензиму знижувалась. З літературних джерел відомо, що органічний германій (Ge-132) збільшував активність СОД у крові щурів [200].

Результати досліджень з введення внутрішньоочеревно германійвмісного препарату Медгерм (0,4 мг/кг) щурам із гострим токсичним гепатитом вказують на підвищення вмісту ТБК-активних продуктів на 3-ю добу, зменшення активності каталази у крові та печінці, в той час як СОД не відрізнялася від контролю. Слід відмітити здатність германійвмісного препарату попереджувати генерацію і накопичення кінцевих продуктів ПОЛ, а також зберігати активність ензимів антиоксидантної системи, що в комплексному поєднанні забезпечує попередження порушеннь функцій мембран гепатоцитів [118].

Характерно, що у крові самиць F_1 всіх дослідних груп підвищувалась активність глутатіонпероксидази, тоді як вміст гідропероксидів ліпідів зростав лише за дії 20 і 200 мкг Ge з GeЦ. Вміст ТБК-активних продуктів у крові вагітних самиць зменшувався за дії 20 мкг Германію, але у IV (200) та VI (2000 мкг) групах зберігався на рівні контролю. У дослідженнях Коваленко Л.В. [48] застосування наноаквахелату германію у птиці зумовлювало зниження активності процесів ПОЛ за показниками дієнових кон’югатів і малонового диальдегіду у сироватці крові. Також встановлено, що застосування наноаквахелату германію щурам та курчатам зумовлювало підвищення активності каталази на 14 та 21 добу після першого введення порівняно до контролю зі збереженням цих різниць на 28 добу.

Результати вивчення впливу розчину аквахелату германію на рівень пероксидного окиснення ліпідів, стан ензиматичної ланки антиоксидантної

системи та ендогенної інтоксикації організму птиці вказують, що ензими антиоксидантного захисту, як і рівень пероксидного окиснення ліпідів у тканинах печінки перепелиних ембріонів по різному реагують на дію хелатного розчину германію. Так, доза 5,0 мкг Ge/кг вказаного розчину позитивно впливає на активність ферментів антиоксидантного захисту і не викликає інтоксикації ембріонів [40].

Аспартат- та аланінамінотрансферазна активність крові має важливе значення для виявлення метаболічних порушень, оскільки її зміна може вказувати на ранній прояв біохімічних і клінічних ознак. Дослідження впливу германію цитрату на стан білкового обміну показали, що активність аланінамінотрансферази у крові самиць щурів батьківського покоління всіх дослідних груп вірогідно зменшувалась порівняно до тварин контрольної групи. Тоді як активність аспартатамінотрансферази зменшувалась у самиць, які отримавали 10 і 20 мкг GeЦ та 200 мкг GeЦХС. Дослідженнями Бусол В. О. та Ситнік М. Г. [12], на відміну від результатів наших досліджень, не відзначено вірогідних змін активності амінотрансфераз у сироватці крові курчат-бройлерів за випоювання 0,01 мкг Ge/мл води. Вказані відмінності фізіологічного впливу германію цитрату можуть бути зумовлені видовими особливостями дії різних доз Германію у птиці та щурів. Встановлено також низький рівень креатиніну у крові самиць щурів, яким випоювали 200 та 2000 мкг GeЦХС, проте за дії низьких доз (10 та 20 мкг Ge з GeЦ) його вміст зростав, що може вказувати на посилення обміну протеїнів.

Випоювання самицям батьківського покоління германію цитрату зумовлювало зниження, проте в межах фізіологічної норми, показників мінерального і ліпідного обміну порівняно до контролю. Зменшувався вміст P у крові тварин II та V груп, а також Ca — у всіх дослідних групах порівняно до контролю. Низький вміст триацилгліцеролів встановлено у самиць щурів батьківського покоління всіх дослідних груп.

Результати досліджень фракційного складу фенолів у тканинах самиць щурів батьківського покоління вказують на підвищення синтезу фенолсульфатів

та фенолглюкуронідів у печінці, скелетних м’язах і нирках за дії 20 мкг GeЦ порівняно до контролю. Збільшувався рівень фенолів, кон’югованих з сірчаною кислотою у скелетних м’язах тварин VI групи, яким випоювали 2000 мкг Ge і нирках V групи — 200 мкг з GeЦХС . Тоді як рівень фенолів, кон’югованих з глюкуроновою кислотою, збільшувався у печінці самиць щурів V та нирках — IV груп. Ці дані вказують на можливий слабовиражений токсичний вплив високих доз германію цитрату на організм самиць щурів батьківського покоління, що зумовлює посилення зв’язування їх і виведення з тканин печінки, нирок та м’язів у вигляді парних сполук [126, 182]. Результати досліджень з вивчення впливу комплексної фізіологічної дії цитратної сполуки трьох елементів – Хрому, Селену (по 50 мкг/кг м.т./добу) і Германію (1,5 мг Ge/кг м. т./добу) за випоювання самицям щурів, а також їхньому приплоду, вказують на більше виражений стимулюючий вплив на дезінтоксикаційні процеси в організмі щуренят, порівняно з випоюванням розчину цитрату хрому та германію у дозах по 50 мкг/кг м.т./добу кожного. Підтвердженням цього є підвищений синтез фенолсульфатів та фенолглюкуронідів у тканинах печінки та скелетних м’язів приплоду самиць щурів за дії цитратів Хрому, Селену і Германію [125].

Дослідження біохімічних показників крові вказують на зменшення вмісту альбуміну у вагітних самиць щурів F_1 за дії GeЦХС в кількості 2000 мкг Ge, проте підвищення — креатиніну. У дослідженнях інших авторів відзначено вірогідно вищий вміст альбуміну, але не встановлено вірогідних змін вмісту креатиніну у крові курчат-бройлерів у період випоювання їм низької дози (0,01 мкг/мл води) германію цитрату [12]. У наших дослідженнях встановлено інгібуючий вплив германію цитрату в кількості 10, 20 та 200 мкг Ge на рівень Кальцію, однак стимулюючий — за дії 10 та 20 мкг на вміст Фосфору у крові самиць. У той час як за даними [69] у печінці вагітних самиць щурів порівняно з невагітними виявлено вірогідне збільшення Кальцію на 40 % та Фосфору — на 13%. Характерно, що випоювання GeЦ самицям F_1, на відміну від батьківського покоління, не зумовлювало вірогідних змін у концентрації триацилгліцеролів, тоді як

випоювання 2000 мкг Ge сприяло вірогідному зменшенню їх концентрації у крові тварин обох поколінь.

Сьогодні не викликає сумнівів той факт, що більшість мікроелементозів розвиваються через дефіцит, надлишок або дисбаланс мікроелементів в організмі. Це пов’язано з тим, що хімічні елементи виконують не лише структурну функцію, але є активними центрами ензимів, гормонів і регулюють обмінні процеси в організмі [37]. Дослідження окремих мікроелементів у самиць щурів батьківського покоління вказують на дозозалежний вплив германію цитрату на їх вміст в органах і тканинах. Дія германію цитрату характеризувалась збільшенням вмісту Cu у досліджуваних тканинах самиць II групи, яким випоювали низьку дозу (10 мкг Ge) з GeЦ, а також у легенях тварин V групи (200 мкг Ge) та скелетних м’язах — IV (200 мкг Ge) та V груп. Проте зменшувався вміст Cu у печінці тварин III (20 мкг Ge) та V, нирках — III, IV та VI (2000 мкг Ge) і м’язах — III дослідних груп порівняно до контролю. Встановлено збільшення вмісту Co у печінці самиць щурів V групи, у легенях і м’язах — II та V груп, однак він зменшувався у печінці та нирках тварин III, IV і VI, легенях — III, а м’язах — VI груп. Випоювання самицям щурів GeЦХС у кількості 200 мкг зумовлювало збільшення вмісту Mn у всіх тканинах дослідних груп, тоді як за дії 2000 мкг — лише у нирках, а 10 мкг GeЦ — у печінці та м’язах. Зменшувався вміст Mn у печінці та м’язах тварин III, IV і VI, нирках — IV та легенях — II, III, IV і VI груп. Характерно, що вміст Fe у тканинах залишався на рівні контрольної групи у всіх дослідних груп, проте у легенях і м’язах самиць щурів VI групи його рівень збільшувався. Це може вказувати на кумуляцію Fe у цих тканинах і прояв його токсичного впливу впродовж вагітності та лактації за дії високої дози GeЦХС.

Дослідження Мельничука Д. О. зі співавторами [69] вказують на гальмування включення Fe в протопорфіринове кільце і посилення виділення елемента із сечею за токсичного впливу Плюмбуму у вагітних самиць щурів. Це підтверджується збільшенням вмісту Fe в нирках на 23,1 та 47 % у вагітних та не вагітних щурів. Встановлено, що під час вагітності в організмі тварин значно збільшується вміст Cu. У той же час отруєння вагітних самиць Плюмбумом

викликає зменшення вмісту Cu в нирках на 17,2% порівняно з вагітними не отруєними щурами. Відзначено збільшення вмісту Купруму і Цинку в нирках вагітних самиць на 36,8 і 51,3% порівняно з інтактними тваринами. Стверджується, що фізіологічний перебіг вагітності викликає зміни в розподілі мікро- і макроелементів зі змінами біохімічних, морфологічних та імунологічних показників крові і тканин.

В іншій роботі проаналізовано біологічну дію наночастинок Феруму, розміром 40 нм, отриманих методом хімічного синтезу. У дослідженнях не відзначено токсичного впливу цих частинок на морфологію крові і кісткового мозку, широкий спектр біохімічних показників крові, шлункового вмісту, стан мікрофлори кишечника. Встановлено, що за перорального введення наночастинки Феруму володіють вираженою протианемічною дією як в умовнотерапевтичній дозі, так і в дозі, яка становить 1/10 від умовно терапевтичної.

Вміст Zn збільшувався у нирках тварин II і VI та м’язах — II, III, V і VI груп, однак випоювання самицям GeЦ в кількості 20 мкг зумовлювало зменшення Zn у печінці, а також нирках і легенях — за дії 200 мкг. Однак вказується, що Ge діє опосередковано на тіолові сполуки інших елементів, серед яких цей зв'язок відзначений для Fe, Cu, Se [6]. На певну залежність вмісту Ge, Fe, Cu, Se у вигляді біоорганічних сполук опосередковано вказують також результати дослідження рослинної лікарської сировини, у яких відзначено прямо пропорційний зв’язок вмісту цих елементів в коренях женьшеню, деревію, кульбаби [53].

Результати проведених досліджень Seaborn and Nielsen [324] зі згодовування 5 пг Ge/г корму щурам вказують на збільшення вмісту Mg, Mn, P, Zn, K, Cu та Ca у тканинах печінки та стегна, а хребта ще й Na і Fe. Встановлено, що Ge синергічно впливає на метаболізм K і Cu у печінці, а також мінеральний склад тканин хребта і стегнової кістки, сприяючи їх макромінералізації. Збільшення вмісту Ge у раціоні з 5 до 60 пг/г зумовлювало зменшення концентрації K у стегновій кістці тварин дослідних груп.

Аналіз абсолютного вмісту мікроелементів у самиць щурів батьківського покоління вказує на його зменшення у печінці тварин III, IV, V і VI груп, проте вміст Cu та Mn збільшувався у II групі. Також зменшувався вміст Cu, Co, Mn, Fe і Zn у нирках самиць III, IV і V груп та Cu і Co — VI групи, однак збільшувався у ній вміст Mn. Характерно, що за випоювання високих доз GeЦ (200 мкг) та GeЦХС (2000 мкг)зменшувався вміст Cu, Co, Mn, Fe і Zn у легенях. Тоді як за дії GeЦ в кількості 10 мкг відзначено збільшення вмісту Cu і Co у легенях, зниження — Mn, а 20 мкг — Cu, Co і Mn. За дії 200 мкг GeЦХС вміст Fe і Zn зменшувався у легенях, проте Co і Mn — збільшувався. Характерно, що на відміну від самиць щурів батьківського покоління вміст Cu, Co, Fe і Zn зменшувався у печінці вагітних самиць першого покоління II та III дослідних груп. Вміст Cu зменшувався у нирках і легенях тварин III, а м’язах — II груп порівняно до контролю, що може вказувати на регуляторну здатність цитрату германію щодо розподілу мікроелементів в тканинах та їх впливу на активність окремих ензимів і функції цих органів.

Відомо, що Купрум відіграє важливу роль у системі антиоксидантного захисту організму, зокрема як компонент ензимів і церуроплазміну. Цей елемент стимулює первинну і вторинну імунну відповідь, фагоцитоз і функціональну активність Т- і В- лімфоцитів, входить до активного центру гідролаз, декарбоксилази, трансфераз, піруваткарбоксилази мітохондрій, впливає на кількість лізоциму [37].

Встановлено низький вміст Co у легенях самиць II та III груп і м’язах — III групи, проте його рівень збільшувався у м’язах за випоювання високої дози (200 мкг) GeЦ. Одним з головних елементів, що мають прямий стосунок до імунної системи і захисту клітинних мембран через окремі ензими є Mn. Зокрема, він підвищує активність клітин - натуральних кілерів, продукцію ними інтерферонів [37]. Слід відзначити високий вміст Mn у печінці, нирках та скелетних м’язах самиць щурів II і III груп, тоді як у IV групі він зменшувався у легенях. Очевидно, застосовані дози GeЦ зумовлюють неоднаковий регуляторний

вплив на вміст цього елемента в окремих органах і тканинах, що може визначати зміни їх функцій та властивостей.

Дослідження регуляторного впливу GeЦ на вміст мікроелементів у тканинах внутрішніх органів і стегнового м’яза вагітних самиць щурів F_1 вказує на вірогідно нижчий вміст Ge у цих тканинах за дії 20 (крім нирок) і 200 мкг Ge. Вірогідне зменшення вмісту Ge у більшості досліджених тканин самиць F_1 може вказувати на інгібуючу дію германію цитрату у застосованих дозах на трансформацію з корму та кумуляцію цього елемента в їх організмі за умов тривалого надходження з водою. Результати досліджень інших авторів з вивчення впливу на організм щурів женьшеню, який містить більшу від інших рослин кількість Ge, свідчать про найбільший його вміст у селезінці, а також у нирках, печінці, легенях, шлунку, серці та підшлунковій залозі. Проте, концентрації Ge були дуже низькими і майже не відрізнялися від контролю [177].

Дослідженнями Schroedher et al. [322] встановлено, що найбільший вміст Германію є у тканинах селезінки щурів. Результати досліджень неорганічних сполук Германію на кроликах та собаках вказують, що найвищий його вміст був виявлений у тканинах нирок, печінки, селезінки, шлунково-кишковому тракті та кістках. Також встановлено, що застосування щурам германату натрію зумовлює підвищення вмісту Германію у нирках [148].

Випоювання вагітним самицям щурів F_1 200 мкг GeЦ зумовлювало збільшення вмісту Fe і Zn у печінці, проте зменшення їх за дії 10 мкг у нирках, а Zn — у легенях, що може змінювати активність їх імунної системи впродовж вагітності. Збільшення вмісту Fe у печінці самиць за дії 200 мкг Ge може бути зумовлено впливом цієї дози Германію на метаболізм цього елемента і його важливим значенням у функціонуванні систем та органів вагітних самиць щурів. Відомо, що Fe, як мікроелемент, відіграє важливу роль у функціонуванні імунної системи, входить до складу ензимів, протеїнів і рецепторного апарату клітин, впливає на продукцію антитіл (IgG), сприяє насиченню тканин гранулоцитами і макрофагами, нормалізує продукцію інтерферону, посилює цитотоксичну

активність клітин-кілерів, стимулює фагоцитоз і респіраторний вибух у нейтрофілах і макрофагах.

Одержані результати вмісту Zn у тканинах внутрішніх органів самиць F_1 дослідних груп підтверджують зв'язок його з дією різних доз Германію. Це підтверджують і дані літератури, що вказують на важливу роль Zn у підтримці балансу між клітинним і гуморальним імунітетом. Він є активатором синтезу Т-лімфоцитами цитокінів, що регулюють імунну відповідь [37]. Дослідження інших авторів вказують, що у вагітних тварин рівень цього елемента зростає на 35 % порівняно з не вагітними [65].

Результати дослідження абсолютного вмісту мікроелементів у печінці вагітних самиць щурів першого покоління вказують на зменшення вмісту у тканинах Cu, Co, Fe і Zn у II та III дослідних групах. Випоювання GeЦ в кількості 10 та 20 мкг зумовлювало високий вміст Mn у печінці та Cu — за дії 200 мкг. Результати досліджень інших авторів з вивчення вмісту мікроелементів у тканинах вагітних самиць щурів вказують на вірогідне збільшення вмісту Mn на 70 % у печінці порівняно з не вагітними тваринами [65].

Встановлено міжгрупові відмінності абсолютного вмісту й інших мікроелементів в окремих органах. Зокрема, зменшувався вміст Cu у нирках та легенях тварин III групи, проте 200 мкг Ge з GeЦ зумовлювало його високий рівень у нирках. Відзначено, що за дії цієї дози германію цитрату вміст Co у нирках збільшується, тоді як 10 та 20 мкг Ge зумовлювали його зменшення у легенях. Вміст Mn збільшувався у нирках вагітних самиць щурів першого покоління всіх дослідних груп, однак спостерігався його низький вміст у легенях тварин II та IV груп. Слід відзначити зменшення вмісту Fe у нирках тварин II групи та Zn — у легенях II і III груп порівняно до контролю. У легенях вагітних самиць F_1 щурів встановлено менший, ніж у невагітних, вміст Co на 39,2%, а кількість Cu, Fe, Mn — збільшувалася на 37, 49, 75 % відповідно [65].

Дослідження впливу германію цитрату у дозі 10 і 20 мкг Ge на гістологічну структуру селезінки самиць щурів F_1 вказують на збільшення кількості клітин білої пульпи та утворення лімфатичних вузликів з реактивними центрами. Це

вказує на активну лімфопоетичну функцію органу. Тоді як доза 200 мкг Ge зумовлювала структурне порушення селезінки, що проявлялось гіперемією, набряком і повнокрів'ям органу, зменшенням вмісту мікро- і макрофагів, атрофією лімфоїдних вузликів. Це свідчить про пригнічення функції лімфоцитопоезу у самиць щурів F_1 за дії високої дози Германію. Зростання коефіцієнтів маси селезінки у тварин за дії 20 і 200 мкг Ge може бути частково зумовлене посиленим кровонаповненням червоної пульпи.

Мікроструктура печінки самиць щурів F_1 за випоювання різних доз германію цитрату свідчить про незначні токсичні зміни в гепатоцитах щурів дослідних груп, що було більше виражено за дії високої (200 мкг) дози GeЦ. Збільшення просвіту центральних і портальних вен вказує на застійну гіперемію печінки щурів за дії 20 і 200 мкг Ge. Збільшення кількості жовчних капілярів у печінкових тріадах за дії 20 (4-8 шт.) та 200 (до 10 шт.) мкг Ge, а також зміни структури клітин Купфера вказують на посилену дезінтоксикаційну роботу цього органу. Встановлено, що у щурів дослідних груп розвивались помірні гістоструктурні зміни (зерниста дистрофія гепатоцитів), які мали зворотний характер. Випоювання щурам 200 мкг Ge зумовлювало більшу регенерацію клітин, порівняно до тварин, які отримували 20 мкг. У печінці щурів за дії 200 мкг виявлено виражене порушення гемоциркуляції та атрофічно-дистрофічні зміни гепатоцитів У дослідженнях інших авторів встановлено, що гістологічна структура печінки щурів, яким згодовували дріжджі з високим вмістом Германію (500, 1000 та 2000 мкг) свідчить про мінімальні вогнища запальних клітин [292].

Дослідження Тимчишин О. Л. [114] із внутрішньоочеревинного введення щурам Медгерму, що містив крім Ge , ще й Cu в широкому діапазоні доз, вказують на помірні гемодинамічні і незначні патоморфологічні зміни паренхіматозних органів. Зміни були виражені на тлі введення Медгерму дозою 1/40 ЛД50, а застосування середньоефективної дози (1/160 ЛД50) не впливало на гістологічну структуру тканин серця, печінки і нирок, яка не відрізнялася від контролю. Також встановлено, що профілактично-курсове застосування Медгерму на фоні гострого галактозамінового гепатиту зумовлює значні

зменшення патоморфологічних і патогістохімічних змін у тканинах печінки. На це вказують менш виражені некротичні, дистрофічні та дисциркуляторні зміни в тканинах печінки у щурів, які одержували Медгерм в дозі 0,4 мг/кг (1/160 ЛД50) [116].

Мікроструктура тимусу щурів яким випоювали германій цитрат, у кількості 10 та 20 мкг Ge, вказує на покращення морфофункціонального стану та повноцінну імунореактивну здатність органу. Тривале випоювання 200 мкг Ge самицям щурів зумовлювало помірний набряк строми та звуження кіркової зони, внаслідок виведення Т-лімфоцитів, що привело до зниження функціональної здатності цього імунокомпетентного органу.

Морфоструктура лімфатичних вузлів кишкової брижі самиць F_1 щурів, яким випоювали 10 і 20 мкг Ge, вказує на збільшення кількості лімфатичних вузликів із світлими центрами і широкою мантійною зоною у кірковій зоні. В гермінативному центрі відзначена активна проліферація і диференціація лімфоцитів, паракортикальна зона широка, густо заповнена Т-лімфоцитами, м’якушеві тяжі мозкової зони інфільтровані лімфоцитами і плазмоцитами, що вказує на покращення стану імунної системи. У лімфатичних вузлах самиць спостерігався набряк і розволокнення капсули та паренхіми, розширення центральних синусів, зменшення лімфатичних вузлів, які мали нечітке окреслення і стоншену мантійну зону за дії 200 мкг Ge. Паракортикальна зона звужена зі зниженою кількістю лімфоцитів. М’якушеві тяжі потоншені, набряклі, заповнені малою кількістю лімфоцитів. Таким чином, тривале введення германію цитрату у високих дозах зумовлювало різке зменшення вмісту клітин кіркової та мозкової зон у периферичних імунних органах, що вказує на пригнічення імунної системи.

Виявлені порушення структури імунних органів у щурів за дії 200 мкг Ge вказують на послаблення клітинного імунітету, пригнічення лімфопоетичної функції, що віддзеркалилось тенденційним зниженням кількості лімфоцитів та фагоцитарної активності нейтрофілів. На зміни структури печінки і нирок за дії високої дози Ge вказують й інші дослідники. Зокрема, тривале застосування лактат цитрату германію в кількості 12 мг Ge за карциноми молочної залози

жінки вказує на високу вакуолізацію цитоплазми епітеліальних клітин дистальних ниркових канальців і появу везикулярних стеатозів центрально-клубочкових гепатоцитів печінки [364].

Вивченням впливу різних доз (500, 1000 та 2000 мкг) германійвмісних дріджів на організм щурів встановлено їх токсичний вплив на структурно-функціональний стан мітохондрій нирок, що характеризувався їх набуханням у ниркових канальцях і м’язах [292].

Короткотривале застосування щурам різних кількостей женьшеню, що містив від 0,007 до 0,45 мг Ge/г сировини, не викликало патоморфологічних змін у нирках, печінці та серці. У той час як довготривале його застосуванння зумовлювало низку структурних змін кори та мозкової речовини нирок. Дослідники відзначали м’яке розширення ниркових клубочків та гіперемію їх кортикальної частини з клітинними інфільтратами за тривалої дії великої кількості женьшеню [177].

Вивчення онтогенетичних відмінностей у щурів F_0 та F_1 за дії різних доз GeЦ вказує на певні фізіологічні особливості розвитку окремих органів і систем їх організму. Випоювання самицям щурів батьківського покоління германію цитрату у різних дозах протягом 40 діб зумовлювало збільшення інтенсивності росту маси тіла за дії 20 мкг GeЦ (крім 30 доби) та 2000 мкг GeЦХС до періоду спаровування. Тоді як за випоювання 200 мкг GeЦ та GeЦХС маса тіла самиць F_0 зменшувалась з 20 доби, а за дії 10 мкг Ge — з 30 доби порівняно з контрольною групою.

Аналіз маси внутрішніх органів та їх коефіцієнтів маси самиць щурів батьківського покоління дослідних груп вказує на вірогідні різниці між контрольною та дослідними групами цих показників в серці, легенях, селезінці, нирках та печінці. Це свідчить про виражений вплив 20, 200 і 2000 мкг Ge з GeЦ та відповідних доз GeЦХС на фізіологічні механізми регуляції росту і розвитку цих органів. Зокрема, дія GeЦ в кількості 20 і 200 мкг Ge зумовлювала збільшення коефіцієнтів маси серця, проте зменшувались в цих групах коефіцієнти маси печінки. Застосування самицям щурів GeЦ в кількості 20 і 200 мкг Ge зумовлювало зменшення маси селезінки, нирки та печінки. Мала кількість (10 мкг

Ge) з GeЦ зумовлювала зменшення маси нирок та їх коефіцієнтів. Слід відмітити, що застосування GeЦХС в кількості 200 мкг Ge викликало вірогідне зменшення маси всіх досліджуваних органів та коефіцієнтів маси селезінки, нирок і печінки. Тоді як за дії найвищої дози GeЦХС (2000 мкг Ge) зменшувалась маса легень, нирок, а також печінки і коефіцієнт її маси у самиць VI групи.

З літературних джерел відомо, що згодовування дріжджів, які містять Ge (Geranti Bio-Ge Yeast) в дозі 2000 мкг біомаси/кг не вірогідно впливало на зменшення маси тіла щурів, але зумовлювало вірогідне збільшення коефіцієнта маси серця у самців та самиць щурів [292].

Аналіз динаміки маси тіла самиць щурів першого покоління за випоювання GeЦ та GeЦХС вказує на стимулюючий вплив цих сполук у всіх застосованих дозах на ріст та онтогенетичний розвиток їх організму на відміну від батьківського покоління. Характерно, що найбільший приріст маси тіла спостерігався у тварин, яким випоювали 20 мкг Ge з GeЦ.

Результати досліджень впливу германію наноаквахелату, у вигляді цитрату, на організм свиноматок в дозі 11,16 мкг/кг, застосованого в період від 1 до 9 днів до опоросу, підвищувало кількість новонароджених нормально розвинених поросят [61]. Згодовування германію наноаквахелату свиноматкам зумовило тенденцію до збільшення живої маси кнурців на 1,9 %. Германію цитрат, що отриманий цим же методом, зумовлював стимулюючий вплив на інтенсивність росту (2,3 %) молодняку гусенят, їх життєздатність і збереженість (3,0 %) [33].

Аналіз маси внутрішніх органів вагітних самиць щурів першого покоління вказує на неоднаковий вплив різних доз германію цитрату на їх формування та розвиток. Зокрема, випоювання 20 мкг Ge з GeЦ зумовлювало зменшення маси серця, легень та печінки у III групі і збільшення у IV групі за дії 200 мкг Ge. Характерно, що у всіх вагітних самиць F_1 дослідних груп зростали коефіцієнти маси легень, а також нирок за дії 10 та 20 мкг Ge.

Комплексним показником відтворювальної функції самиць є ефективність їх спаровування, що відображає фертильність тварин, яка може змінюватися за різних умов мінерального живлення. Встановлено, що випоювання германію

цитрату, отриманого методом нанотехнології, самицям щурів за 3 тижні до спаровування не вплинуло негативно на їх фертильність, яка становила 100 %. Випоювання хімічно синтезованого германію цитрату в кількості 200 мкг Ge, зумовлювало найнижчу фертильність самиць, тоді як вища доза (2000 мкг) цієї сполуки сприяла їх багатоплідності. Відзначено, що підвищення дози германію цитрату з 10 до 200 мкг Ge самицям щурів батьківського покоління зумовлювало збільшення кількості щуренят F_1. Незважаючи на високі показники загибелі щуренят F_1 у дослідних і контрольній групах, найбільша збереженість їх була у тварин III та IV груп за дії 20 і 200 мкг Ge відповідно.

Результати дослідження репродуктивної здатності організму самиць щурів першого покоління вказують на менше виражений вплив германію цитрату, отриманого методом нанотехнології, на цю функцію порівняно з батьківським поколінням. Зокрема, у дослідних групах зменшувалась доімплантаційна та загальна смертність ембріонів за дії 20 та 200 мкг Ge. Випоювання германію цитрату хімічно синтезованого зумовлювало зменшення кількості живих плодів внаслідок збільшення постімплантаційної смертності щуренят порівняно з контрольною групою.

Вплив германійвмісних препаратів на репродуктивну функцію самиць тварин відзначали й інші дослідники. Зокрема, введення свиноматкам під час вагітності препаратів, що містять Ge, збільшувало загальну кількість новонароджених поросят. Комплексне застосування германію наноаквахелату з препаратом Глютам 1М за 4 – 9 днів до родів у першу та другу вагітність проявляло позитивний вплив на їх репродуктивну здатність. Вплив препарату проявлявся збільшенням багатоплідності свиноматок у другому опоросі на 25,8 %, але не впливав на кількість мертвонароджених поросят [60, 61]. Також встановлено, що згодовування свиноматкам германію наноаквахелату (5 мкг/кг м.т.) з препаратом Глютам 1М (18 мг/кг м.т.) зумовлює збільшення виживаності поросят за весь підсисний період (21 і 28 доби) на 19 % та 10,9 % порівняно до контролю [41].

Оцінка постнатального розвитку щуренят першого покоління за середньою масою тіла протягом 60 діб життя вказує на збільшення цього показника у тварин II і III, та зменшення — IV і VI груп у перші 20 діб порівняно до контролю. Тоді як на 40 добу маса тіла щуренят була меншою у всіх дослідних групах, що більше виражено у тварин, яким випоювали 200 та 2000 мкг Ge. Згодовування свиноматкам препарату Глютам 1М в комплексі з германієм аквахелатом інтенсифікувало ріст маси тіла поросят у підсисний період. Комплексне згодовування свиноматкам германію в дозі 8,37 мкг/кг упродовж 13–15 днів зумовлювало збільшення маси тіла поросят на 9,7 % порівняно з контролем [63]. Також встановлено, що згодовування свиноматкам препарату Глютам 1М (9 мг/кг м.т.) з наноаквахелатом германію (5 мкг/кг м.т.) вірогідно збільшує масу тіла поросят-сисунів на 21 та 28 доби відповідно на 8,4 % та 11,5 % [41].

Результати досліджень інших авторів вказують, що згодовування гусенятам датської породи легарт протягом 70 днів комбікормів, збагачених германієм цитрату у різних дозах (0,1; 0,2 та 0,3 мг/кг), позитивно вплинуло на інтенсивність їх росту, життєздатність та ефективність використання корму упродовж періоду вирощування. Найбільш ефективною виявилася доза 0,2 мг Ge/кг маси тіла. Введення Германію до складу комбікорму у такій кількості сприяло підвищенню живої маси гусенят на 2,3 %, їхньої збереженості – на 3,0 % та зниженню витрат корму на одиницю приросту продукції на 2,5 %, порівняно з контрольною групою [33, 35].

Визначення впливу Ge з GeЦ та GeЦХС на ріст і розвиток внутрішніх органів самців щурів першого покоління вказує на збільшення маси серця у III і VI групах та печінки — у II групі у віці 2 місяці. Збільшення маси органів у цих групах не вплинуло на коефіцієнти їх маси, однак відзначено зменшення коефіцієнта маси нирок за дії 2000 мкг Ge з GeЦХС.

Встановлено виражений стимулюючий вплив застосованих доз цитратів Ge на показники постнатального розвитку організму самців F_1 дослідних груп у наступні вікові періоди, що зумовлювало міжгрупові відмінності їх маси тіла порівняно до контрольної групи. Динаміка приросту маси тіла самців II –

IV дослідних груп у вікові періоди 70–120 діб була вищою порівняно з контролем на 1,3–12,2 %. Найвищі позитивні міжгрупові різниці порівняно з контролем відзначено за дії 20 мкг Ge (7,3–12,2 %), тоді як випоювання 2000 мкг GeЦХС зумовлювало нижчий приріст маси тіла самців VI групи на 2-9 %.

Маса внутрішніх органів самців щурів F_1 дослідних груп вірогідно не відрізнялася від їх величини у тварин контрольної групи. Однак, відзначено не вірогідне зниження показників маси печінки, нирок, селезінки і легень у щурів дослідних груп. У той час як коефіцієнти маси печінки у тварин усіх дослідних груп, а селезінки — за дії 10 мкг Ge, були вірогідно нижчими. Це свідчить про більше виражений анаболічний вплив Ge на приріст м’язової маси і менше — паренхіматозних органів тварин цих дослідних груп.

Оцінка росту і розвитку внутрішніх органів самців у віці 4–4,5 місяці вказує на певні відмінності показників їх маси та коефіцієнтів мас у дослідних групах. Зокрема, відзначено нижчі показники маси селезінки, а також печінки та її коефіцієнта маси у самців, які отримували 10 мкг Ge, а також легень, серця і печінки за дії 20 мкг порівняно з контролем. Проте, випоювання високої дози (200 мкг) GeЦ самцям зумовлювало вірогідне зменшення маси селезінки та коефіцієнта її маси.

Аналіз імунофізіологічних показників крові самців щурів F_1 дослідних груп у віці 2–2,5 місяці вказує на збереження аналогічної як для самиць F_0, спрямованості змін щодо вищого вмісту імуноглобулінів, ЦІК, ГЗБ, сіалових кислот, але нижчого — молекул середньої маси порівняно з контрольною групою. Тоді як вміст церулоплазміну у крові самців II, III і IV груп, на відміну від самиць-матерів, був вірогідно вищим, ніж у тварин контрольної групи. У літературі наявні дані щодо впливу наноаквахелату германію (10 мг/л води) на стан неспецифіної резистентності організму курчат і щурів. Дія цієї дози Германію характеризувалася збільшенням вмісту ЦІК у крові курчат на 14 та 21 доби після першого введення відповідно на 7,7 і 16,6 %, а також щурів — на 21 (на 27,2 %) та 28 (20,1 %) доби порівняно до контролю [48]. Результати досліджень інших авторів свідчать про стимулюючий вплив Германію у вигляді

препарату Медгерм на збільшення вмісту церулоплазміну у сироватці крові та тканинах печінки, відповідно на 37,0 і 21,2 % [116].

Аналіз інших імунофізіологічних показників організму самців вказує на вірогідно виражене зниження фагоцитарної активності крові тварин всіх дослідних груп та підвищення фагоцитарного індекса за дії 20 мкг Ge. Характерно, що фагоцитарне число було меншим у тварин, які отримували 2000 мкг Ge. Встановлено, що випоювання GeЦ зумовлювало підвищення кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну, показника гематокриту. Висока доза хімічно синтезованого германію цитрату зумовлювала збільшення числа лейкоцитів. Випоювння різних доз германію цитрату збільшувало кількість гранулоцитів у крові тварин всіх груп. Очевидно, вказана популяція лейкоцитів у молодих щурів-самців найбільш чутлива до стимулюючої дії Ge цитрату у застосованих дозах незалежно від методів його отримання. Це вказує також на те, що стимулюючий вплив на надходження лімфоцитів у периферичну кров щурів Ge проявляє через активацію імунної системи, зокрема елементів клітинного захисту.

У літературі наявні дані щодо збільшення активності клітин імунного захисту (натуральних кілерів і макрофагів) у мишей після перорального введення Ge-132, що опосередковується з індукцією інтерферону [230].

У дослідженнях Bawadi встановлено, що як біс-метіонінгерманат, так і біс-глютатіонгерманат значно підвищують рівень сироваткового інтерлейкіну (IL-12) та інтерферону (IFN-g) через механізми, які діють як нейрохімічні активатори імунної системи. Вказується, що синтезовані хелатні комплекси Ge на основі метіоніну та глутатіону можуть використовуватись як імуномодулятори, що підтвержено на лабораторних тваринах [162].

Встановлено виражений стимулюючий вплив застосованих доз германію цитрату, отриманого методами нанотехнології та хімічного синтезу, на функціональну активність імунної системи організму самців щурів F_1 у віці 4–4,5 місяці. Відзначено збільшення вмісту імуноглобулінів у крові тварин, які отримували 20 та 2000 мкг та МСМ за дії 20, 200 та 2000 мкг Ge. Відмінності

стимулювального впливу застосованих доз GeЦ на імунофізіологічну активність організму самців щурів можуть вказувати на певні вікові особливості дії низьких і високих доз цієї сполуки, зокрема на синтез імуноглобулінів і глікопротеїнів. Вірогідно знижувався вміст ЦІК у крові самців щурів за дії 10, 20 і 2000 мкг та гексоз, зв'язаних з білками — 10 і 20 мкг Ge. Встановлені відмінності вмісту глікопротеїнів та їх компонентів у крові самців дослідних груп вказують на не однакову дію різних доз германію цитрату на обмін глікопротеїнів, що можуть змінювати імунофізіологічні реакції організму. Відомо, що окремі глікопротеїни крові можуть брати участь у ранніх імунофізіологічних реакціях організму, а сполуки Ge здатні їх посилювати за дії стресових та аліментарних чинників.

Отримані результати досліджень гематологічних показників самців щурів F_1 у віці 4–4,5 місяці вказують на відсутність токсичного впливу застосованих доз Ge цитрату. Дія цих доз Ge характеризується вірогідним збільшенням кількості лейкоцитів, у тому числі лімфоцитів і гранулоцитів. Очевидно, вихід лімфоцитів і гранулоцитів у периферичну кров більш чутливий до стимулювальної дії германію цитрату у застосованих дозах, ніж інших форм лейкоцитів. Число моноцитів було вірогідно вищим порівняно з контролем лише за дії низької дози (10 мкг) Ge. Встановлено виражену стимулюючу дію дози в 20 мкг Ge на рівень гемоглобіну і тромбоцитів у периферичній крові самців щурів у цьому віці, що може пов'язуватись з періодом завершення фізіологічного дозрівання організму.

Результати досліджень інших авторів [292] вказують на невірогідний вплив біомаси Ge–вмістних дріжджів на більшість досліджених гематологічних показників у щурів, проте спостерігалося вірогідне зменшення співвідношення альбуміну і глобулінів у крові тварин, що отримували середню дозу біомаси (1000 мг/кг).

На даний час існують різні погляди щодо механізмів впливу сполук Ge на гемопоез. Зокрема, відзначено збільшення кількості еритроцитів за дії GeO_2, що автори пояснюють не стимулюючим впливом Ge на селезінку і кістковий мозок, а зневодненням організму у період впливу GeO_2. За даними інших авторів дія Ge на

гемопоез опосередковується через його вплив на метаболізм Fe, Cu, Se та інших елементів [324].

За даними інших авторів виявлено посилення біосинтетичних процесів в організмі мишей зі збільшенням вмісту глікопротеїнів і глікозаміногліканів у тканинах за дії 1-ізопроксигерматрану [18].

Випоювання самцям щурів F_1 германію цитрату різної концентрації у віці 4 місяці сприяло вірогідному підвищенню у крові вмісту загального протеїну за дії 2000 мкг Ge, а також зменшенню альбуміну за отримання 10 і 2000 мкг, тоді як за 20 мкг його рівень збільшувався. Встановлено вірогідне зниження активності АлАТ у крові самців всіх дослідних груп, АсАТ — за дії 20 мкг Ge, а креатиніну — за 20, 200 і 2000 мкг. Це вказує на високу функціональну активність тканин печінки та клубочкової зони нефрону нирок з добрим очищенням крові від продуктів розпаду протеїнів, креатину та окремих амінокислот. За даними [6, 59] органічні сполуки Ge здатні відновлювати функції нирок і печінки, у тому числі знижувати рівень активності трансаміназ крові. Результати досліджень інших авторів вказують на вірогідно не виражений вплив різних доз германійвмісних дріжджів на концентрацію загального протеїну у крові самців та самиць щурів [292].

Вивчення гепатопротекторних властивостей цитрату германію показало, що у тварин з модельованим токсичним ураженням печінки за умов уведення германію цитрату, спостерігається зниження в 2,5 раза активності досліджуваних амінотрансфераз сироватки крові та коефіцієнта де Рітіса порівняно з тваринами, які не отримували Ge [55]. Германію цитрат не мав гепатотоксичних властивостей, оскільки активність ензимів функціонального стану печінки (АлАТ, АсАТ) і коефіцієнт де Рітіса залишалися на рівні контролю.

Застосування різних доз германію цитрату впливало на показники мінерального обміну у тварин. Встановлено підвищення вмісту Фосфору у крові щурів F_1 за дії високих доз GeЦ та GeЦХС. У той час як рівень Кальцію у крові тварин дослідних груп був вірогідно нижчим, що вказує на можливий синергічний для Фосфору й антагоністичний для Кальцію зв’язок Ge в організмі

цих тварин. Відзначено нижчий вміст ТАГ у крові самців щурів за випоювання 20 мкг германію цитрату, що спостерігали й у самиць F_0 цих груп.

Дослідження фракційного складу фенолів у тканинах печінки, скелетних м'язів і нирок самців щурів F_1 не показали вірогідних змін вмісту вільних фенолів порівняно до контролю. Проте, визначення парних сполук з фенолами вказуєть на вірогідне зростання кон'югованих з сірчаною та глюкуроновою кислотами фенолів у всіх досліджуваних тканинах щурів, яким випоювали 20 мкг Ge. Характерним є також вірогідно вищий вміст фенолсульфатів у тканинах печінки та нирок щурів за дії 200 мкг Ge.

Фізіолого-біохімічні показники крові самців щурів F_1 у віці 4–4,5 місяці, які утримувалися за умов випоювання різних кількостей цитрату Ge, вказують на міжгрупові різниці вмісту загального протеїну, альбуміну, триацилгліцеролів і Кальцію, а також аланін- та аспартатамінотрансферазної активності крові. Відзначено зниження концентрації загального протеїну у крові тварин за випоювання високої концентрації GeЦХС. Випоювання 10 мкг Ge зумовлювало зменшення вмісту альбуміну, тоді як за дії 20 мкг його вміст зростав.

Аспартатамінотрансферазна активність крові самців щурів F_1 зростала за впливу 10 мкг Ge цитрату. Це може мати зв'язок з протеїн-синтетичною активністю тканин печінки, що характеризувалася нижчим на 9,7 % вмістом альбуміну в крові щурів цієї групи. Вміст креатиніну зростав у крові тварин, яким випоювали 10 та 20 мкг Ge. Збереження рівня креатиніну в межах фізіологічних величин може вказувати на зростання інтенсивності катаболізму протеїнів за дії Ge у щурів дослідних груп. Результати досліджень інших авторів [158] свідчать про стимулюючий вплив порошкоподібного Германію (65,1 мг/м^3) на підвищення рівня креатиніну у крові щурів. Нашими дослідженнями встановлено дозозалежні зміни для концентрації триацилгліцеролів у крові самців щурівF_1 – зниження за впливу низької (10 мкг) концентрації GeЦ та зростання за дії його вищих доз (20 і 200 мкг).

Досліджені показники мінерального обміну за вмістом P і Ca у крові самців дослідних груп у віці 4–4,5 місяці суттєво не змінювалися порівняно з контролем і

залишалися в межах фізіологічних величин. Результати досліджень інших авторів вказують на позитивний вплив карбоксиетилгермсесквіоксану на мінералізацію кісток [188], а інших координаційних сполук Ge з органічними кислотами — на фосфорно-кальцієвий обмін у тканинах зубів [324].

Дослідження концентрації фенолсульфатів і фенолглюкуронідів свідчить про вірогідне зростання вмісту фенолглюкуронідів у тканинах печінки та нирок, а також скелетних м’язів у самців щурів за отримання 20 мкг германію цитрату. Випоювання GeЦХС зумовлювало вірогідно вищу різницю концентрації фенолсульфатів у печінці щурів III дослідної групи порівняно з контрольною на тлі збільшення вмісту фенолглюкуронідів за дії високої (200 мкг) дози GeЦ у нирках щурів цієї групи.

Застосування германію цитрату самицям F_0 і самцям щурів F_1 до досягнення 2-місячного віку характеризувалося однаково спрямованою дією його як у їх матерів на мінеральний обмін. Про це вказує аналогічне як у самиць F_0 вірогідне збільшення у тканинах печінки та нирок самців II групи вмісту Cu, Mn і Zn, та в м’язах — тільки Mn порівняно з контролем. Слід також відзначити, що за дії низької концентрації GeЦ зменшується вміст Cu і Co у тканинах легень самців.

Випоювання 20 мкг германію цитрату зумовлювало зниження вмісту Co та збільшення Fe у тканинах печінки. У нирках і легенях вірогідно зменшувався вміст Cu, Co, Mn, а також Zn тільки в нирках, що було відзначено й у їх матерів. У тканинах м’язів самців III групи встановлено аналогічне як у їх матерів зниження вмісту Cu, але протилежно спрямоване, ніж у самиць, підвищення рівня Mn ($P < 0,01$) і не вірогідно — Zn на тлі значно нижчого вмісту Fe ($P < 0,001$).

Доза GeЦ в 200 мкг Ge/кг маси тіла зумовлювала аналогічно як у самиць F_0 зменшення вмісту в печінці Co, Mn та Zn; нирках і легенях — Cu, Co та Mn, а м’язах — Cu. Однак, вміст Zn і Fe виявляв протилежну, ніж у самиць спрямованість змін цих величин у легенях та м’язах.

Вплив GeЦХС у високій дозі (2 мг Ge/кг) характеризувався нижчим вмістом Cu, Co, Mn, що відзначено й у самиць VI групи, а також Zn (крім м’язів), у всіх досліджуваних тканинах самців цієї групи порівняно з контролем. Встановлені

відмінності можуть бути пов’язані з пригніченням абсорбції цих елементів у травному каналі високою дозою Ge, або інгібуванням їх засвоєння на тлі підвищеного рівня Fe. Збільшення вмісту Fe у тканинах як самиць, так і самців цих груп, що більше виражено у м’язовій тканині, вказує на однаковий стимулюючий вплив GeЦХС у дозі 2 мг Ge в лактуючих самиць, а також самців з їх приплоду у період інтенсивного росту.

Аналіз показників абсолютного вмісту мікроелементів в печінці, нирках і легенях вказує на вірогідне збільшення вмісту Cu, Mn і Zn в печінці та нирках, але зменшення Cu в легенях, Fe — печінці та нирках самців II групи порівняно до контролю. У самців III групи зменшувався вміст Cu, Co, Mn та Zn в нирках і легенях, (крім Zn), а також Co — печінці, проте вірогідно збільшувався рівень Fe в печінці, а Zn — легенях.

Застосування 200 мкг Ge з GeЦ зберігало спрямованість вірогідних різниць між IV і контрольними групами у самиць і самців щодо нижчого вмісту Cu, Co і Mn у печінці, нирках і легенях на тлі зменшення ($P < 0,05$) рівня Zn в печінці та збільшення — Fe у легенях самців F_1 у 2 місяці. Висока доза (2 мг Ge/кг) GeЦХС, зумовлювала вірогідне зменшення вмісту Cu, Co та Mn в печінці, нирках і легенях, Zn — нирках та легенях і збільшення ($P < 0,001$) Fe в печінці порівняно з контрольною групою. Різниці абсолютного вмісту досліджених елементів в органах самців щурів VI групи зберігають їх тенденцію щодо відмінностей цих величин у самиць F_0 цієї групи, крім Fe і Zn у печінці та нирках. У літературі відзначено певну залежність вмісту окремих мікроелементів у тканинах та органах тварин за дії екстракту з рослин із високим вмістом Ge. Зокрема доведено, що застосування з водою екстракту женьшеню у лабораторних щурів вірогідно підвищує вміст Cu і Zn у тканинах нирок, селезінки і серця, але зменшує рівень Zn у кишечнику. У той час як у тканинах скелетних м’язів відзначено не вірогідне збільшення вмісту Cu і Zn [177]. Ці дані можуть вказувати на опосередкований регуляторний вплив Ge на засвоєння та кумуляцію інших мікроелементів у тканинах та органах тварин.

Вміст Cu, Co, Mn, Fe і Zn у тканинах печінки, нирок, легень і скелетних м’язів щурів F_1 у віці 4 місяці свідчить про виражений регуляторний вплив застосованих доз германію цитрату на рівень цих мікроелементів у тканинах органів і м’язів. Вищий вміст Cu у тканинах печінки, нирок (II, III, $P \leq 0,001$) і легень (II – IV і VI груп, $P \leq 0,001$) порівняно з контрольною, вказує на стимулюючий вплив застосованих доз цитрату германію, отриманого методами як хімічного синтезу, так і нанотехнології, на кумулювання та можливе виділення Cu у легенях. Для печінки і нирок ця дія відзначена тільки для низьких (10 і 20 мкг) доз. Характерним є також вищий рівень Cu у тканинах легень, але нижчий – печінки, нирок ($P \leq 0,01$) і скелетних м’язів ($P \leq 0,01$) щурів VI групи, які отримували 2000мкг Ge з GeЦХС. Встановлено вірогідно вищий рівень Mn у тканинах печінки тварин II і III груп порівняно з контролем. У доступній для аналізу літературі вказується, що Ge діє опосередковано на тіосполуки інших елементів, серед яких цей зв'язок відзначений для Fe, Cu, Se [53]. На певну залежність вмісту Ge, Fe, Cu, Se у вигляді біоорганічних сполук опосередковано вказують також результати дослідження рослинної лікарської сировини, у якій відзначено прямо пропорційний зв’язок вмісту цих елементів в коренях женьшеню, деревію, кульбаби.

У тканинах легень тварин IV і VI груп вміст Mn підвищувався в 1,74 і 2,16 раза ($P \leq 0,05$). Це вказує на можливе нагромадження Mn в легенях та збільшення інтенсивності його виділення через дихальні шляхи за дії германію цитрату у високих (200 і 2000 мкг) дозах. Підвищення вмісту Co у тканинах печінки щурів II ($P \leq 0,05$) і зниження у м’язах — III, IV і VI, а легень – IV груп, ніж у тварин контрольної групи, вказує на неоднаково спрямовану дію різних доз Ge на рівень цього ультраелементу в окремих органах.

Характерно, що високі дози цитратів Ge в IV і VI групах зумовлювали вірогідно нижчий вміст Fe і Zn у тканинах нирок, але вищий – легень. Біологічний вплив Ge цитратів у щурів IV і VI груп характеризувався нижчим вмістом всіх досліджених мікроелементів у тканинах м’язів за винятком рівня Zn у II і VI групах. Це може зумовлюватися зменшенням надходження гемоглобіну,

доставки і використання O_2 за дії високої дози Ge. На це вказують отримані раніше дані інших авторів про важливе значення Ge у забезпеченні Оксигеном тканинного метаболізму [6, 249, 360].

Отже, на основі аналізу літературних даних і результатів власних досліджень можна відзначити стимулюючий вплив додавання до питної води водного розчину цитрату германію у різні періоду росту та розвитку організму на фізіологічний стан тварин, що характеризувалось впливом на репродуктивну функцію самиць лабораторних тварин. Виявлено стимулюючу дію цитрату германію на імунобіологічний стан самок та самців щурів у їх крові вищим був вміст окремих глікопротеїнів та їх вуглеводних компонентів, імуноглобулінів та циркулюючих імунних комплексів, а також позитивно вплинуло на гемопоез тварин.

Узагальнюючи результати власних досліджень і дані літератури можна стверджувати про високу біологічну активність різних сполук Германію, що вже використовуються для виготовлення біологічно активних добавок, препаратів, лікарських засобів. Фізіологічні ефекти цих сполук і засобів у значній мірі залежать від їх форми, способу застосування, дози, віку та фізіологічного стану організму. Вивчення германію цитрату, як багатофункціонального наноматеріалу, тільки розпочато окремими дослідниками. Однак, отримані в дисертаційних дослідженнях результати вказують на перспективність використання германію цитрату, виготовленого методом нанотехнології у біології, медичній та ветеринарній практиці для корекції імунофізіологічного стану організму підвищення його резистентності та репродуктивної здатності, а також оптимізації функцій інших фізіологічних систем.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вивчено вплив Ge у малій – 10, середній – 20, великій – 200 мкг/кг м. т. дозах у вигляді германій цитрату, отриманого нанотехнологічним способом і великих (200 і 2000 мкг) – хімічно синтезованого, на стан імунної, антиоксидантної та дезінтоксикаційної систем організму у лабораторних щурів двох поколінь різних статі й віку, а також репродуктивної здатності самиць F_0 і F_1. З'ясовано особливості онтогенетичного розвитку самців щурів F_1 за дії застосованих доз германію цитрату. Обгрунтовано можливість використання малих і середніх доз германію цитрату для стимулювання імунної та антиоксидантної систем організму, його репродуктивної здатності у самиць багатоплідних тварин.

1. Застосовані дози германію цитрату чинили регулювальний вплив на імунофізіологічний й антиоксидантний стан організму самиць щурів F_0 і F_1 із підвищенням у крові тварин F_0 вмісту імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів, а F_0 і F_1 – сіалових кислот, гексоз, зв'язаних з білками (за дії великих доз), на тлі нижчого вмісту молекул середньої маси, церулоплазміну, меншої кількості лейкоцитів, лімфоцитів, моноцитів і тромбоцитів (крім дії 10 мкг). Вищий антиоксидантний захист організму зі зростанням каталазної, супероксиддисмутазної, глутатіонпероксидазної активності крові та зменшенням вмісту метаболітів пероксидних процесів відзначено у самиць F_1, які отримували 20 мкг Ge.

2. Біологічна дія германію цитрату у самиць щурів F_0 характеризувалась зниженням аланін- і аспартатамінотрансферазної активності крові, вмісту Ca, P, триацилгліцеролів, креатиніну (200 і 2000 мкг), на тлі вищої його концентрації у тварин, які отримували 10 і 20 мкг Ge, та підвищенням вмісту фенолсульфатів і фенолглюкуронідів у тканинах печінки, нирок і м'язів за дії 20 мкг Ge. У крові самиць F_1 виявлено нижчий вміст Ca за дії 10, 20 і 200 мкг Ge та альбуміну і триацилгліцеролів – 2000 мкг Ge на тлі вищого вмісту P – 10 і 20 мкг Ge.

3. Регулювальний вплив германію цитрату на обмін мікроелементів у організмі самиць щурів F_0 і F_1 характеризувався змінами вмісту Cu, Co, Mn і Zn у

тканинах печінки, нирок, легень і м’язів тварин F_0, що залежали як від дози, так і від методу виготовлення германію цитрату. У тканинах самиць F_1 виявлено нижчі рівні Cu, Co, Fe, Zn і Ge за дії 20 і 200 (крім нирок) мкг, але вищий – Mn у тканинах печінки, нирок і м’язів тварин усіх дослідних груп та зниження його у легенях за дії 200 мкг.

4. Дія германію цитрату у самиць F_1 зумовлювала морфоструктурні зміни в їх імунокомпетентних органах, що характеризувались: збільшенням кількості та розмірів фолікулів і заповненням їх лімфоцитами у лімфатичних вузлах; зростанням кількості гепатоцитів у печінці, а тимоцитів і лімфоцитів – у тимусі; зменшенням кількості клітин у лімфатичних вузлах за дії 200 мкг Ge.

5. Онтогенетичні особливості впливу германію цитрату у самиць F_0 характеризувалися вищими показниками маси тіла до запліднення (крім 30 і 40 діб) та коефіцієнтів маси серця і легень, але нижчими – селезінки, нирок і печінки за дії 20 і 200 мкг Ge. Надходження 10 і 200 мкг Ge в організм самиць F_0 зумовлювало зменшення маси їх тіла, що більш виражено на 30-ту і 40-ву доби за дії 200 мкг Ge, отриманого методом хімічного синтезу.

6. Виявлено підвищення багатоплідності самиць щурів F_0, більш виражене за дії 20, 200 і 2000 мкг Ge, проте збереженість щуренят була меншою з найнижчими показниками за дії 2000 мкг Ge. У самиць F_1 відзначено зниження доімплантаційної, але підвищення – постімплантаційної та загальної ембріональної летальності за дії 200 і 2000 мкг Ge, унаслідок чого кількість живих плодів у самиць, які отримували 2000 мкг Ge зменшувалася.

7. Застосування германію цитрату самицям F_0 під час лактації стимулювало ріст і розвиток щуренят F_1 у перші 20 діб життя, що більше виражено за дії 10 і 20 мкг Ge. Вплив германію цитрату у щурів F_1 зумовлював нижчу на 8,9 % 18 інтенсивність росту у тварин, які отримували 2000 мкг Ge, але вищу за дії 10, 20 і 200 мкг Ge. Констатовано стимулювальний вплив германію цитрату дозою 20 мкг Ge на розвиток ембріонів і плодів у самиць F_1 та інгібувальний – дозою 200 мкг Ge.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Активация лимфоцитов под воздействием гриппозной вакцины в сочетании с низкомолекулярным германий-органическим соединением / В. А. Ляшенко, Н. К. Ахматова, И. В. Амбросов, С. К. Мателo, Э. А. Ахматов, А. С. Сухно, В. Г. Хоменков. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2012. № 6. С. 64–68.

2. Анасашвили А. Ц. Гликопротеиды сыворотки крови и мочи. *М.: Медицина.* 1968. 226 с.

3. Арцимович Н. Г., Корнева Е. А. Иммунофизиология. Основы современной физиологии. *Наука.* 1993. 683 с.

4. Бабенко М. Н., Сейфуллина И. И., Ткаченко В. Н. Изучение возможных путей детоксикации при остром отравлении динитроортокрезолом и применении координационного соединения германия с никотинамидом. *Одеський медичний журнал*. 2005. №4 (90). С. 18–20.

5. Багатофункціональні наноматеріали для біології і медицини: молекулярний дизайн, синтез і застосування / Р. С. Стойка та ін.; за ред. Р. С. Стойки. *Київ: Наукова думка*. 2017. 364 с.

6. Биологическая активность соединений германия / Лукевиц Э. Я., Гар Т. К., Игнатович Л. М. и др. *Рига: Зинатне*. 1990. 191 с.

7. Биць Г. О. Використання препаратів германію в профілактиці гастроентеритів телят. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Ґжицького*. 2010. Т. 12, № 3 (45), Ч. 1. С. 3–6.

8. Биць Г. О. Пошук оптимальної дози сполук германію за патогенетичного лікування гастроентеритів телят. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Ґжицького.* 2008. Т. 10, № 3 (38), Ч. 1. С. 27–31.

9. Бишовець Т. Ф. Експериментальне вивчення ембріотоксичної дії лікарських засобів. *Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / за ред. О. В. Стефанова*. 2001. С. 115−138.

10. Біологічна активність нативних і модифікованих ліпополісахаридів *Pragia fontium* / Л. Д. Варбанець, В. В. Шубчинський, С. І. Похил,

І. Й. Сейфулліна, Н. В. Шматкова, С. Е. Самбурський. *Український біохімічний журнал.* 2009. Т. 81, № 1. С. 31–40.

11. Брич О. І., Синетар Е. О., Каплуненко В. Г. Перспективи застосування наноаквахелатів металів. *Дослідження в біології та медицині*. 2015. № 2 (26). С. 64–66.

12. Бусол В. О., Ситнік М. Г. Вплив споживання нанокарбоксилатів Германію і Заліза на гематологічні та біохімічні показники крові курчат-бройлерів. *Наук. праці Півд. філ. Нац. ун-ту біоресурсів і природокористування України "Крим. агротехнол. ун-т". Сер.: Ветеринарні науки.* 2013. Вип. 151. С. 160–164.

13. Взаємодія мікроелементів: біологічний, медичний і соціальний аспекти / І. М. Трахтенберг, І. С. Чекман, В. О. Линник та ін.. *Вісник НАН України.* 2013. № 6. С. 11–20.

14. Влияние аквахелатных растворов селена и германия на динамику содержания иммуноглобулинов и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови молодняка перепелов / Н. П. Нищеменко, А. А. Емельяненко, А. В. Емельяненко, О. А. Порошинская, Л. С. Стовбецкая. *Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария*. 2016. № 3. С. 63–68.

15. Вміст мікроелементів у тканинах самиць щурів F_0 та самців F_1 за випоювання нано і хімічно синтезованого германію цитрату / М. І. Храбко, Р. С. Федорук, М. І. Храбко, О. Е. Марцинко, Г. Г. Денис. *Біологія тварин.* 2017. Т. 19, № 1. С. 125–134.

16. Внукова М. О. Фармакологічна корекція гепатотоксичності протитуберкульозних засобів координаційною сполукою германію з нікотинамідом. *Військова медицина України*. 2007. № 1-2. С. 41–47.

17. Волкова О. В., Елецкий Ю. К.Основы гистологии с гистологической техникой. *М.: Медицина.* 1982. 303 с.

18. Воронков М. Г., Нурбеков М. К., Расулов М. М. Гепатопротекторная активность 1-этоксилитрана и 1-изопропоксигерманата. *Бюл. Эксп. Биол. Мед*. 2002. Вип. 134, № 4. С. 342–344.

19. Вплив препарату Максідін на загальну резистентність організму собак розплідникового утримування / О. В. Санін, В. В. Анніков, О. Н. Наровлянський, О. В. Пронін, М. В. Мезенцева, Т. М. Кожевнікова, В. А. Бехало, М. О. Спірідонов. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Ґжицького.* 2017. 19 (78) С. 90-93.

20. Встановлення ступеню токсичності цитрату германію, отриманого за допомогою аквананотехнології / М. П. Гуліч, Н. Л. Ємченко, Л. А. Томашевська, О. О. Харченко, О. В. Ященко, І. Є. Моісеєнко, О. Д. Ольшевська, Л. С. Любарська. *Збірник наукових публікацій «Велес», II Міжнародна конференція «Наука і сучасність: виклики глобалізації».* (м. Київ, 29 червня 2016 р.). С. 62–67.

21. Гар Т. К., Миронов В. Ф. Биологическая активность соединений германия. *М.: НИИТЭХИМ.* 1982. 26 с.

22. Гар Т. К., Миронов В. Ф. Герматраны и их аналоги. *Металлоорг. химия.* 1988. Т. 1, № 2. С. 260–276.

23. Гематологічні і біохімічні показники організму щурів F_2 у період тривалого випоювання нано-Ge цитрату / Р. С. Федорук, У. І. Тесарівська, М. І. Храбко, М. М. Цап, О. П. Долайчук, С. Й. Кропивка. *Біологія тварин.* 2017. Т. 19, № 3. С. 115–121.

24. Германий и иммунный ответ. В кн. «Иммунофармакология микроэлементов» / А. В. Кудрин, А. В. Скальный, А. А. Жаворонков, М. Г. Скальная, О. А. Громова. *Изд-во КМК. Москва.* 2000. 386 с.

25. Гістоструктура внутрішніх органів самиць щурів першого покоління за дії різних доз цитрату германію / М. І. Храбко, Р. С. Федорук, Ю. В. Мартин, У. І. Тесарівська, М. І. Шумська. *Біологія тварин.* 2017. 19 (4). С. 73–82.

26. Годован В. В. Мембранотропные эффекты новых производных никотиновой кислоты. *Ліки*. 1996. 4. С. 57–62.

27. Годован В. В. Фармакологія гепатозахисної дії нових координаційних сполук германію з біолігандами. *Автореф. канд. мед. наук*: 14.03.05. *Одеський держ. мед. ун-т*. Одесса, 1998. 17 с.

28. Годован В. В., Кресюн Н. В. Вивчення протиаритмічних властивостей біологічно активних речовин – похідних дифосфонатів германію. *Одеський медичний журнал*. 2006. 1 (93). С. 11–15.

29. Годован В. В., Кресюн Н. В. Вплив магнієвої солі дифосфонату германію на активність АТФ-аз мітохондрій міокарда на експериментальній міокардіодістрофії. *Досягнення біології та медицини*. 2006. 1 (7). С. 24–29.

30. Годован В. В., Матюшкіна М. В. Модуляція генералізованої судомної активності під впливом нових координаційних сполук германію, олова та магнію. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2014. № 2, Т. 18. С. 359–362.

31. Цитрати магнію, отримані за аквананотехнологією: хімічна та біологічна характеристики / М. П. Гуліч, О. О. Харченко, Н. Л. Ємченко, В. П. Єрмоленко, І. Є. Моісеєнко // Довкілля та здоров'я. 2014. № 4. С. 14–18

32. Гриневич Ю. А., Алферов А. Н. Определение имунных комплексов в крови онкологических больных. Лабораторное дело. 1981. № 8. С. 493–496.

33. Гуньчак О. В., Каплуненко В. Г. Вплив добавок германію в комбікорми на продуктивні якості гусенят, що вирощуються на м’ясо. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць.* Біла Церква. 2015. № 1. С. 156–159.

34. Гуньчак О. В., Каплуненко В. Г. Продуктивні якості гусенят, що вирощуються на м’ясо, за використання у комбікормах добавок германію. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць.* Біла Церква. 2013. Вип. 9 (103). С. 51–54.

35. Гуньчак О. В., Соболєв О. І. Вплив добавок германію в комбікорми на м’ясну продуктивність гусенят. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва.* 2013. Вип. 10 (105). С. 28–31.

36. Динаміка маси тіла молодих щурів F_2 за дії різних доз германію цитрату / У. І. Тесарівська, Р. С. Федорук, М. І. Храбко, С. Я. Мартиник, Т. В. Юринець. *Збірник наукових праць. «Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини». Ветеринарні науки*. 2017. 34 (2). С. 109–113.

37. Дмитруха Н. М. Мікроелементи та імунна система. *Материалы международной научно-практической конференции. 24-26 сентября. Одесса.* 2014. С. 64–68.

38. Долайчук О. П., Федорук Р. С. Глікопротеїни сироватки крові самок щурів за дії «наноаквацитратів» германію, хрому і селену. *Матеріали Міжнародної наукової конференції «Механізми функціонування фізіологічних систем», приурочена до 70-ліття біологічного факультету та 230-ліття фізіології у Львівському університеті*. 2014. С. 36.

39. Долайчук О. П., Федорук Р. С., Каплуненко В. Г. Фізіологічний вплив наноцитрату германію за умов його випоювання лактуючим самкам щурів та їх приплоду. *Фізіологічний журнал*. 2014. Т. 60, № 3. С. 222-223.

40. Ємельяненко А. А. Деякі показники антиоксидантного захисту тканини печінки перепелів в ембріональному періоді розвитку за дії розчину аквахелату германію. *Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК.* 2014. Т. 2, № 2. С. 40–45.

41. Захарченко К. В., Себа М. В., Мартинова М. Є., Каплуненко В. Г. Вплив біологічно активних препаратів на ріст та виживаємість поросят-сисунів. *Науковий вісник НУБіП України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва.* 2017. № 271. С. 102–109.

42. Зінко Г. О., Слівінська Л. Г. Вплив препаратів Селену та Германію на окремі ланки патогенезу за гастроентериту телят. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Ґжицького.* 2013. Т. 15, № 1 (1). С. 74–81.

43. Зінко Г. О. Вплив препаратів Селену та Германію на систему антиоксидантного захисту у телят за гастроентериту. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Ґжицького*. 2014. Т. 16, № 2 (59). С. 60–67.

44. Іскра Р. Я., Влізло В. В., Федорук Р. С., Антоняк Г. Л. Хром у живленні тварин. *Київ: «Аграрна наука».* 2014. 312 с.

45. Изучение эффекта производных индолил-3-ацетата и германий-органических соединений на модели аутоиммунного гломерулонефрита, индуцированного хронической реакцией трансплантат против хозяина /

О. П. Колесникова, М. Н. Тузова, И. В. Сафронова, О. Т. Кудаева, В. А. Козлов. *Иммунология.* 1996. № 3. С. 43–46.

46. К методике определения фенолов в материале животного происхождения / Ф. Ю. Палфий, О. Г. Малик, О. Т. Несвячена и др. *Докл. ВАСХНИЛ.* 1974. № 7. С. 21–23.

47. Клінічні дослідження терапевтичної ефективності препарату гермакап на телятах / М. І. Жила, І. К. Авдосьєва, А. Г. Пащенко, Л. В. Калиновська, Г. М. Михалусь. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Ґжицького.* 2016. Т. 18, № 1 (65), Ч. 1. С. 42–47.

48. Коваленко Л. В. Оцінка стимулюючої дії наноаквахелатів германію на природну резистентність тварин. *Науковий вісник НУБіП України. Серія*: *Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва.* 2012. Вип. 172, Ч. 1. С. 203–209.

49. Коваленко Л. В. Порівняльне вивчення впливу наноаквахелату германію та селену на активність процесів ліпопероксидації в крові птиці. *Ветеринарна медицина.* 2012. Вип. 96. С. 292–293.

50. Ковальчук И. И. Содержание тяжелых металлов в тканях организма пчел при скармливании цитрата германия. *Микроэлементы в медицине*. 2014. Т. 15, № 3. С. 42–47.

51. Ковальчук І. І., Федорук Р. С., Рівіс Й. Ф., Романів Л. І. Ліпідний і жирнокислотний склад тканин організму медоносних бджіл та перги за умов підгодівлі наноаквацитратами германію та селену. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*. 2014. Вип. 15, № 2, 3. С. 31–36.

52. Колесникова О. П., Тузова М. Н., Козлов В. А. Скрининг иммуноактивных свойств производных алканкарбоновых кислот и германийорганических соединений in vivo. *Иммунология.* 1997. № 2. С. 36–38.

53. Комаров Б. А., Комаров А. Б., Комарова К. Б. Об элементе германий и его роли в биопроцессах [Електронний ресурс]. *Фитотерапия.* 2014. Режим доступу до ресурсу: http://www.treskunov.ru/fitohitodezi/komarov_o_germanii.html.

54. Кондрахин И. П., Курилов Н. В., Малахов А. Г. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии. *Справочное издание. М.: Агромпроиздат.* 1985. 287 с.

55. Копильчук Г. П., Волощук О. М., Баландюк О. В. Біохімічні маркери функціонального стану печінки щурів із токсичним гепатитом за умов введення цитрату германію. *Біологія тварин*. 2017. Т. 19, № 1. С. 59–64.

56. Корнева Е. А. Введение в иммунофизиологию. *СПб.: Элби-СПб*. 2003. 48 с.

57. Кресюн В. Й., Сейфуллина И. И., Волошенков Б. А., Годован В. В. Новые биологически активные вещества на основе германия. *Праці наук. конф. «Вчені України вітчизняній фармації». Харків.* 2000. 44 с.

58. Кресюн В. Й., Шемонаєва К. Ф., Відавська Г. Г. Фармакологічна характеристика сполук германію. *Клінічна Фармація.* 2004. Т. 4. С. 64–68.

59. Кудрин А. В., Скальный А. В. Микроэлементы в онкологии. Часть 2. Микроэлементы и противоопухолевый иммунитет. *Микроэлементы в медицине*. 2001. 2 (2). С. 31–39.

60. Кулдонашвили К. В., Шеремета В. И., Каплуненко В. Г. Влияние препарата «Германий» на крупноплодие свиноматок и рост поросят-сосунов. *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: матер. XVII Международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию кафедры зоогигиены, экологии и микробиологии УО «БГСХА»* (29–30 мая 2014 г.). Горки: БГСХА. 2014. С. 132–136.

61. Кулдонашвілі К. В., Шеремета В. І., Каплуненко В. Г. Вплив нейротропно-метаболічного препарату Глютам 1М та наноаквахелат германию на багатоплідність свиноматок. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Тваринництво.* 2016. Вип. 5 (29). С. 183–186.

62. Кулдонашвілі К. В., Шеремета В. І., Каплуненко В. Г. Дія наноаквахелат германію на ріст поросят у пренатальний період. *Розведення і генетика тварин.* 2016. № 51. С. 261–266.

63. Кулдонашвілі К. В., Шеремета В. І., Каплуненко В. Г. Стимуляція росту поросят-сисунів біологічно активними препаратами. *Науковий вісник НУБіП України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2015. Вип. 205. С. 308–313.

64. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.; за ред. В. В. Влізла. *Львів: Сполом.* 2012. 764 с.

65. Лизурчик Л. В. Содержание химических элементов в тканях крыс-самок при различном физиологическом состоянии / Л. В. Лизурчик, К. С. Абалова. *Материалы международной научно-практической конференции. 24-26 сентября. Одесса*. 2014. С. 148–151.

66. Лукьянчук В. Д., Немятых О. Д. Влияние координационного соединения германия с никотиновой кислотой на активность ферментов энергетического обмена при экстремальном кислорододефицитном состоянии. *Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаєва.* 2003. № 1. С. 62–66.

67. Лук'янчук В. Д., Сейфулліна І. Й., Літвиненко Д. Ф., Марцинко О. Е. Фармакологічні властивості органічних і координаційних сполук германію сучасні уявлення. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 1 (47). С. 3–13.

68. Лукевиц Э. Я., Германе С. К. Синтез, нейротропная и противоопухолевая активность ряда герматранов, гермсесквиоксанов и их оловоорганических аналогов. *Хим. фармац. журн.* 1984. Т. 18, № 2. С. 154–159.

69. Мельничук Д. О., Мельникова Н. М., Ткаченко Т. А. Мінеральний склад нирок вагітних щурів за умови введення плюмбуму ацетату. *Доповіді Національної академії наук України.* 2009. 1. С. 168–171.

70. Мельничук С. Д., Моклячук Л. І., Драга М. В. Комплексне забезпечення життєдіяльності людини мікроелементами проблеми та шляхи розв'язання. *Агроекологічний журнал.* 2012. № 2. С. 24–27.

71. Менчиков Л. Г., Игнатенко М. А. Биологическая активность органических соедигнений германия. *Химико-фармацевтический журнал*. 2012. Т. 46, № 11. С. 3–6.

72. Методика визначення ембріотоксичності та тератогенності в морфологічних експериментах / В. Ф. Шаторна, В. І. Гарець, І. І. Колосова, В. В. Майор, О. О. Нефьодова, Ю. О. Бельська. *Вісник проблем біології і медицини.* 2014. Вип. 3, Т. 3 (112). С. 239–240.

73. Механизмы иммуномодулирующего эффекта германийорганических соединений / О. П. Колесникова, М. Н. Тузова, О. Т. Кудаева и др. *Иммунология*. 1995. 1. С. 27–30.

74. Нанотехнології та їх застосування у тваринництві й ветеринарній медицині / В. В. Влізло, М. І. Бащенко, Р. Я. Іскра, Р. С. Федорук, О. М. Жукорський, Л. М. Мезенцева. *Вісник аграрної науки*. 2015. 11. С. 5–9.

75. Нароха В. П. Вплив різних доз координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою на процеси перекисного окиснення ліпідів та порівняльний вплив координаційних сполук германію з різними біолігандами на жирнокислотний спектр ліпідів кардіоміоцитів при хронічній інтоксикації доксорубіцином. *Український науково-медичний молодіжний журнал.* 2016. № 2 (95). С. 86–91.

76. Ніженковська І. В., Нароха В. П., Бакун А. В., Брюзгіна Т. С. Дослідження впливу координаційних сполук германію з нікотиновою та оксиетилидендифосфоновою кислотами на жирнокислотний спектр ліпідів сироватки крові. *Scientific Journal «ScienceRise: Pharmaceutical Science».* 2017. № 1 (5). С. 32–35.

77. Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных. Наука СПб. 2008. 544 с.

78. Образование и реакционная способность бисцитратогерманатных кислот / И. И. Сейфуллина, Е. А. Чебаненко, Е. Э. Марцинко, А. Г. Песарогло, А. Ф. Пожарицкий. *Вісник Одеського національного університету.* 2012. Т. 17, Вип. 3 (43). С. 13–22.

79. Основи глікобіології / Н. О. Сибірна, А. І. Шевцова, Г. О. Ушакова, І. В. Бродяк, І. Ю. Письменецька; за ред. Н. О. Сибірної. *ЛНУ імені Івана Франка. Львів.* 2015. 492 с.

80. Пат. України на корисну модель № 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. № 1.

81. Пат. України на корисну модель № 119458. МПК (2017.01): A61D 19/00, A01K 67/00, B82Y 5/00. Спосіб підвищення багатоплідності самок і збереженості їх приплоду у гризунів / Федорук Р. С., Храбко М. І. Опубл. 25.09.2017. Бюл. № 18.

82. Перспективи створення нових лікарських препаратів на основі комплексних сполук германію / В. Й. Кресюн, К. Ф. Шемонаєва, Г. Г. Відавська, І. Й. Сейфуліна, С. В. Щербаков. *Одеський медичний журнал.* 2010. № 1 (123). С. 31–35.

83. Полетаев А. Б. Иммунофизиология и иммунопатология. *М.: Медицинское информационное агентство*. 2008. 207 с.

84. Порівняльна оцінка фармакологічної активності координаційних сполук біс(цитрато)германатів та станатів на моделі закритої черепно-мозкової травми / В. Д. Лук’янчук, Є. М. Поліщук, І. Й. Сейфулліна, Н. В. Рисухіна, О. Е. Марцинко, О. А. Чебаненко. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2014. № 2 (38). С. 36–43.

85. Порівняльна протигіпоксична активність координаційних сполук германію / В. Д. Лук’янчук, А. А. Шутка, І. Й. Сейфулліна та ін. *Одеський медичний журнал*. 2010. № 2 (118). С. 11–14.

86. Протективний ефект цитрату германію при ендотоксин-індукованій оваріальній дисфункції в мишей / О. А. Кондрацька, Н. Г. Грушка, В. Г. Каплуненко, С. І. Павлович, В. О. Срібна, Р. І. Янчій. *Медичні перспективи. Серія: Клінічна медицина.* 2018. 18 (XXIII) 1 ч. 1. С. 71–77.

87. Протизапальна активність комплексів германію з саліцилальгідразонами нітробензойної кислоти / І. І. Сейфулліна, О. В. Нікітін, Б. М. Галкін и др. *Одес. мед. журн*. 2003. 3 (77). С. 21–23.

88. Регуляторний вплив наногерманію цитрату на вміст макро- і мікроелементів у тканинах вагітних самиць щурів F_1 / Р. С. Федорук, М. І. Храбко, М. М. Цап, Г. Г. Денис, У. І. Тесарівська. *Вісник Київського нац. унів-ту ім. Т. Шевченка. Серія Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2017. 2 (23). С. 47–50.

89. Ріст і розвиток самиць F_0 і самців F_1 щурів та обмінні процеси в крові за дії лимонної кислоти / М. І. Храбко, У. І. Тесарівська, О. П. Долайчук, М. М. Цап, О. В. Фаріон. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017. № 2 (4). С. 252–257.

90. Розробка режиму дозування координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою в умовах гіпоксії замкнутого простору / І. Й. Сейфулліна, О. Д. Нем'ятих, О. П. Гудзенко та ін. *Фармацевт. журн*. 2002. 4. С. 86–90.

91. Саноцкий П. В. Токсическая характеристика германия. *Токсикология новых пром. хим. веществ. М.: Медгиз*. 1961. С. 83–94.

92. Саханда І. В. Препарати Германію та їх застосування в медицині. *Український науково-медичний молодіжний журнал.* 2014. № 4 (84). С. 83–86.

93. Сейфуллина И. И., Марусенко Е. В., Илюхин А. Б. Новая страница в координационной химии германия. *Вісник Одеського національного університету*. 2003. Т. 8, № 3. С. 8–25.

94. Сейфуллина И. И., Марусенко Е. В., Илюхин А. Б. Синтез, свойства и строение комплексов германия с этилентриаминпентауксусной кислотой. *Журнал неорганической химии.* 1998. Т. 43, № 10. С. 1628–1631.

95. Сейфуллина И. И., Марцинко Е. Э. Координационные соединения германия (IV) с анионами лимонной, винной и ксиларовой кислот. *Одесса: «Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова»*. 2015. 148 с.

96. Сейфулліна І. Й., Бабенко М. М., Ткаченко В. М. Вивчення можливих шляхів детоксикації при гострому отруєнні динітроортокрезолом і застосуванні

координаційної сполуки германію з нікотинамідом. *Одес. мед. журн*. 2005. 4 (90). С. 18–20.

97. Сейфулліна І. Й., Немятих О. Д., Лук'янчук В. Д., Ткаченко Є. В. Фармакологічні ефекти германієвих сполук. *Одеський медичний журнал.* 2003. № 6. С. 111–114.

98. Скальный А. В., Рудаков И. А. Биоэлементы в медицине. М.: Оникс 21 век. Мир. 2004. 272 с.

99. Скринінг і порівняльна оцінка ефективності засобів детоксикації серед координаційних сполук германію з біолігандами при синдромі тривалого розчавлювання / В. Д. Лук'янчук, І. Й. Сейфулліна, Н. В. Рисухіна та ін. *Одеський медичний журнал.* 2007. № 1. С. 15–19.

100. Скринінгове дослідження церебропротекторної активності координаційних сполук германію на моделі закритої черепно-мозкової травми / В. Д. Лук'янчук, О. І. Ніженковський, В. С. Федорова, Д. С. Кравець, І. Й. Сейфулліна, О. Е. Марцинко, О. Г. Пєсарогло. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2012. № 6 (31). С. 63–68.

101. Слівінська Л. Г., Зінко Г. О. Вплив препаратів мікроелементів Селену та Германію на показники Т І В-клітинного імунітету телят. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок.* 2012. Т. 13, №1-2. С. 444–448.

102. Способ определения «средних молекул» / В. В. Николайчик, В. М. Моин, В. В. Кирковский и др. *Лабораторное дело.* 1991. № 10. С. 13–18.

103. Стадник А. М., Биць Г. О., Стадник О. А. Біологічна роль Германію в організмі тварин та людини. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Ґжицького*. 2006. Т. 8, № 2, Ч. 1. С. 185–174.

104. Телятніков А. В. Вплив наноаквахелатів металів на імунобіологічну реактивність клінічно здорових собак. *Вісник Полтав. держ. аграр. акад*. 2010. 3 (58). С. 146–148.

105. Телятніков А. В. Вплив наночастинок металів на гематологічні показники і строки загоєння при закритих переломах кісток у собак. *Вісник Сумськ. нац. аграр. ун-ту.* 2014. 6 (35). С. 81–84.

106. Телятніков А. В. Застосування наночасток Mg, Fe, Co, Cu, Zn, Ag за переломів кісток та їх ускладнень у собак. *Автореф. дис. д-ра вет. наук:* 16.00.05. *Білоцерк. нац. аграр. ун-т*. Біла Церква. 2017. 35 с.

107. Тесаривская У. И., Федорук Р. С. Эмбриональная и фетальная токсичность разных доз «наногермания» цитрата у самок потомства F_1. *Материалы Международной научно-практической конференции «Перспективы и актуальные проблемы развития высокопродуктивного молочного и мясного скотоводства». Витебск*. *25-26 мая 2017*. С. 166–169.

108. Тесаривская У. И., Федорук Р. С., Храбко М. И., Шумская М. И. Эмбриональная токсичность и жизнеспособность приплода самок крыс при выпаивании им лимонной кислоты. *Collection of works of scientific symposium with international participation „Zootechnycal science – an important factor for the european type of the agriculture”. Moldova, Maximovca*. 2016. P. 726–730.

109. Тесарівська У. І. Оцінка ембріотоксичності наногерманію цитрату на самицях щурів потомства F_2. *НТБ ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок і ІБТ*. 2017. 18 (2). С. 356–361.

110. Тесарівська У. І. Сенсорно-рухові рефлекси та поведінкові реакції щуренят F_2 за дії на організм матерів різних доз цитрату наногерманію. *НТБ ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок і ІБТ*. 2017. 18 (1). С. 162–168.

111. Тесарівська У. І., Федорук Р. С., Шумська М. І. Репродуктивна функція самок щурів F_1 і постнатальний розвиток щуренят F_2 за дії різних доз наногерманію цитрату. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького. Серія ”Ветеринарні науки”*. 2016. 18 (3), 71. С. 124–129.

112. Тесарівська У. І., Федорук Р. С. Вікова динаміка маси тіла самиць щурів F_2 у період фізіологічного дозрівання за дії наногерманію цитрату. *Вісник*

Житомирського національного агроекологічного університету. 2017. 2 (63) 3. С. 167–173.

113. Тимчишин О. Л. Фармакологічна активність нової біологічно активної речовини — купрум-оксіетилідендифосфонатогерманату. *Автореф. дис. канд. мед. наук*: 14.03.05. *Одес. нац. мед. ун-т*. Одеса. 2015. 22 с.

114. Тимчишин О. Л., Годован В. В., Даніленко А. І. Патоморфологія паренхіматозних органів щура на тлі курсового введення нової біологічно активної речовини Медгерму. *Вісник проблем біології і медицини. Клінічна та експериментальна медицина.* 2010. Вип. 4. С. 147–151.

115. Тимчишин О. Л., Годован В. В., Сейфулліна І. Й. Гостра токсичність МЕДГЕРМу нового похідного германієвої солі дифосфонової кислоти з міддю. *Одеський медичний журнал.* 2010. № 2 (118). С. 23–26.

116. Тимчишин О. Л., Кресюн В. Й., Годован В. В., Даниленко А. І. Гепатопротекторні властивості нової комплексної сполуки германію з купрумом (МЕДГЕРМУ) при експериментальному токсичному гепатиті. *Досягнення біології та медицини.* 2011. № 2 (18). С. 64–69.

117. Токсикометричні дослідження нового антигіпоксанту ОК-5 на основі координаційної сполуки германію з біолігандами / А. О. Шутка, Д. С. Кравец, І. Й. Сейфулліна, О. Е. Марцинко, О. Г. Пєсарогло. *Токсикологія лікарських препаратів.* 2010. 2-3. С. 50–53.

118. Тымчишин О. Л. Гепатопротективная активность нового германийорганического биологически активного вещества (Медгерм) при экспериментальном гепатите. *Казанский медицинский журнал.* 2013. 94 (5). С. 628–632.

119. Федорук Р. С., Ковальчук І. І., Романів Л. І., Храбко М. І. Вплив цитратів германію та селену на вміст ліпідів і важких металів в організмі медоносних бджіл. *Біологія тварин.* 2014. 16 (2). С. 141–149.

120. Федорук Р. С., Храбко М. И., Долайчук О. П., Цап М. М. Рост и развитие крысят F_1 при выпаивании им и самкам-матерям разных доз цитрата германия.

Collection of works of scientific symposium with international participation „Zootechnycal science an important factor for the european type of the agriculture”. Moldova. Maximovca. 2016. P. 780–785.

121. Федорук Р. С., Храбко М. І. Динаміка маси тіла і репродуктивна функція самок щурів та життєздатність приплоду за випоювання різних кількостей цитрату германію. *Біологія тварин*. 2015. 17 (3). 214 с.

122. Федорук Р. С., Храбко М. І., Долайчук О. П. Вплив цитрату германію на імунофізіологічну активність організму щурів. *Фізіологічний журнал*. 2017. 63 (2). С. 65–72.

123. Федорук Р. С., Храбко М. І., Сейфулліна І. Й., Долайчук О. П. Розвиток організму та його гемопоетична і репродуктивна функції у самок щурів F_1 за дії різних доз цитрату германію. *Журнал «Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія».* 2016. 4. С. 5–11.

124. Федорук Р. С., Храбко М. І., Цап М. М., Марцинко О. Е. Ріст, розвиток і репродуктивна функція самиць щурів та життєздатність їх приплоду за випоювання різних доз цитрату германію. *Біологія тварин.* 2016. 18 (3). С. 97–106.

125. Храбко М. І. Антиоксидантна активність та дезінтоксикаційна здатність організму щурів за згодовування цитратів хрому, селену та германію. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*. 2014. 15 (2-3). С. 49–54.

126. Храбко М. І., Долайчук О. П. Репродуктивна функція та маса самок щурів і життєздатність приплоду за випоювання нано та хімічно синтезованого цитрату германію. *Біологія тварин.* 2015. 17 (4). С. 208.

127. Храбко М. І., Долайчук О. П. Фізіологічна роль органічних сполук германію. *XIX з’їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю (м. Львів, 24-25 травня 2015 р.). Фізіологічний журнал.* 61 (3). С. 140–141.

128. Храбко М. І., Колещук О. І. Гематологічний і біохімічний профіль організму, показники маси тіла і внутрішніх органів вагітних самиць щурів F_1 за

випоювання різних доз цитрату германію. *Матеріали XV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини». Біологія тварин*. 2016. 18 (4). С. 200.

129. Храбко М. І., Тесарівська У. І., Цап М. М., Колещук О. І. Розвиток організму самців щурів F_2 та показники його імунофізіологічного стану за дії різних доз наногерманію цитрату. *"Молодь і поступ біології" (м. Львів, 25–27 квітня 2017 р.)*. С. 270–271.

130. Храбко М. І., Федорук Р. С. Ріст і розвиток організму самців щурів F_1 та його імунофізіологічна активність у період випоювання різних доз нанотехнологічного і хімічно синтезованого цитрату германію. *Вісник Київського нац. унів-ту ім. Т. Шевченка. Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій.* 2016. 2 (21). С. 39–43.

131. Храбко М. І., Федорук Р. С., Долайчук О. П. Фізіолого-біохімічні процеси в організмі самиць F_0 і самців F_1 щурів за умов випоювання їм «наногерманію» цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого. *Вісник Львівського унів-ту. Серія: Біологія.* 2016. 73. С. 226–234.

132. Храбко М. І., Федорук Р. С., Кропивка С. Й. Показники стану імунної та антиоксидантної систем у крові вагітних самиць щурів F_1 за дії різних доз цитрату германію. *Вісник Київського нац. унів-ту ім. Т. Шевченка. Серія Проблеми регуляції фізіологічних функцій.* 2017. 1 (22). С. 50–53.

133. Храбко М. І., Федорук Р. С., Тесарівська У. І., Регуляторний вплив різних доз цитрату германію на фізіолого-біохімічні процеси організму самців F_2. *Вісник Київського нац. унів-ту ім. Т. Шевченка. Серія: Біологія.* 2017. 1 (73). С. 66–69.

134. Храбко М. І., Федорук Р. С., Храбко М. І. Метаболічні процеси в організмі самців щурів F_1 у період випоювання «наногерманію» цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого. *Вісник Львівського унів-ту. Серія: Біологія.* 2017. 75. С. 158–166.

135. Храбко М. І., Федорук Р. С., Храбко М. І., Тесарівська У. І. Детоксикаційна здатність організму щурів у період випоювання різних кількостей цитрату германію. *Міжнар. наук. практ. конф. «Актуальні проблеми фізіології тварин» (м. Одеса, 23-25 червня 2016 р.).* 2016. С. 51.

136. Храбко М. І., Марцинко О. Е., Цап М. М. Ріст і розвиток самців щурів F_1 покоління за умов тривалого випоюваня хімічно синтезованого германію цитрату. *Міжнар. наук. практ. конф. «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (м. Львів, 29-30 вересня 2016 р.). Біологія тварин.* 2016. 18 (3). С. 198.

137. Черешнев В. А. Иммунофизиология: проблемы и перспективы развития. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2003. 1. С. 47–55.

138. Шаторна В. Ф. Експериментальне дослідження ембріотоксичності ацетату свинцю та нанозолота. *Вісник проблем біології та медицини. Клінічна та експерементальна медицина.* 2013. 2, 2 (101). С. 154–158.

139. Шаторна В. Ф., Гарець В. І., Савенкова О. О., Колосова І. І. Дослідження впливу нанометалів на стан репродуктивної функції в експерименті. *Тавр. медико-биол. вестник.* 2013. 16 (1). С. 246–250.

140. Шемонаева Е. Ф., Кресюн В. И., Видавская А. Г., Сейфуллина И. И. Сравнительная характеристика фармакокинетических параметров координационных соединений германия с никотиновой кислотой в сердце. *Современные тенденции развития науки и технологий.* 2016. 9-3. С. 59–62.

141. Шемонаєва К. Ф. Фармакокінетика координаційних сполук германію з біолігандами. *Автореф. дис. канд. мед. наук:* 14.03.05. *Одеський держ. мед. ун-т.* Одеса. 2003. 20 с.

142. Эльхонес Н. М., Аверьянова В. П., Маслов В. Н. Германий и его соединения. Области освоенного и возможного применения. *М.: ВИНИТИ.* 1959. 29 с.

143. Яблонська О. В. Герматранол як імуностимулятор при вирощуванні телят. *Вісник ДАУ. Серія: Біологія*. 2002. 1. С. 56–62.

144. 2-Carboxyethylgermanium sesquioxide, a synthetic organogermanium compound, as an inducer of contrasuppressor T Cells / K. Ikemoto, M. Kobayashi, T. Fukumoto, M. Morimatsu, R. B. Pollard, F. Suzuki. *Experientia.* 1996. 52. P. 159-166.

145. A case of inorganic germanium poisoning with peripheral and cranial neuropathy, myopathy and autonomic dysfunction / M. Iijima, M. Mugishima, M. Takeuchi, et al.. *No To Shinkei.* 1990. 42 (9). P. 851–856.

146. A phase II study of spirogermanium in patients with metallic malignant melanoma / E. Eisenhauer, I. Kern, A. Bodurtha et al. *Invest. New Drugs.* 1985. 3 (3). P. 303–305.

147. A study of the immunoregulation effect of carboxyethyl germanium sesgioxide (Ge-132) / X. L. Dang, C. P. Si, J. Yu, J. Yang, M. Y. Yi. *Journal of Jining Medical University.* 1992. 15. P. 27–29.

148. Accumulation of germanium in the tissues of a long-term user of germanium preparation died of acute renal failure / N. Nagata, T. Yoneyama, K. Yanagida, K. Ushio, S. Yanagihara, O. Matsubara, Y. Eishi. *The Journal of toxicological sciences*. 1985. 10 (4). P. 333–341.

149. Activation of lymphocytes under the influence of an influenza vaccine combined with a low molecular weight germanium organic compound / V. A. Liashenko, N. K. Akhmatova, I. V. Ambrosov et al. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*. 2012. 6. P. 64–68.

150. An anti-inflammatory drug, propagermanium, may target GPI-anchored proteins associated with an MCP-1 receptor, CCR2 / S. Yokochi, H. Hashimoto, Y. Ishiwata et al. *J. Interferon Cytokine Res.* 2001. 21 (6). P. 389–398.

151. Antiarthritic and immunoregulatory activity of spirogermanium / M. J. Dimartino, J. C. Lee, A. M. Badger, K. A. Muirhead, C. K. Mirabelli, N. Hanna. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics.* 1986. 236. P. 103–110.

152. Anti-inflammatory effect of germanium-concentrated yeast against paw oedema is related to the inhibition of arachidonic acid release and prostaglandin E

production in RBL 2H3 cells / J. H. Lee, K. W. Kim, M. Y. Yoon et al.. *Auton Autacoid Pharmacol.* 2005. 25 (4). P. 129–134.

153. Antimicrobial activity of organogermanium derivatives / A. K. Sijpesteijn, F. Rijkens, D. E. R. Van, G. J. Kerk, A. Manten. *Nature.* 1964. 201 (7). P. 36.

154. Antioxidative effect of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) on IVM of porcine oocytes and subsequent embryonic development after parthenogenetic activation and IVF / E. Kim, Y. Jeon, D. Y. Kim, E. Lee, S. H. Hyun. *Theriogenology*. 2015. 84. P. 226–236.

155. Antitumor activity and immunological effect of alanine-germanium / X. M. Ge, F. J. Zhao, J. S. Guo, H. Z. Cheng, P. M. Zhu, Y. S. Ji. *Journal of preventive medicine of chinese people's liberation army.* 1994. 12. P. 341–344.

156. Antitumor effect in mice of an organic germanium compound (Ge–132) when different administration methods are used / H. Aso, E. Shibuya, F. Suzuki et al. *Gan To Kagaku Ryoho*. 1985. 12 (12). P. 2345–2351.

157. Arimori S., Watanabe K., Yoshida M., Nagano T. Effect of Ge-132 on L1210. Immunomodulation by Microbiol. In: Yamamura Y. et al. *Eds., Products and Related Synthetic Compounds. Elsevier Science Publishing, Amsterdam.* 1981. P. 536–539.

158. Arts J. H. E., Reuzel P. G. J., Falke H. E., Beems R. B. Acute and subacute inhalation toxicity of germanium metal powder in rats. *Food and Chemical Toxicology.* 1990. 28 (8). P. 571–579.

159. Arts J. H. E., Til H. P., Kuper C. F., Neve R., Swennen B. Acute and Subacute Inhalation Toxicity of Germanium Dioxide in Rats. *Food and Chemical Toxicology*. 1994. 32. P. 1037–1046.

160. Asai K. Organic germanium: A medical godsend. *Tokyo: Jpn. Pub. Inc.*. 1980. 171 p.

161. Aso H., Suzuki F., Ebina T., Ishida N. Antiviral activity of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) in mice infected with influenza virus. *J. Biol. Response Mod.* 1989. 8 (2). P. 180–189.

162. Badawi A. M., Hafiz A. A. Synthesis and Immunomodulatory Activity of Some Novel Amino Acid Germinates. *J. Iran. Chem. Soc.* 2007. 4 (1). P. 107–113.

163. Badger A. M., Di Martino M. J. Immunomodulatory activity and nonspecific suppressor cell generation by spirogermanium in murine and rat models of cell-mediated immunity. *Immunopharmacology.* 1988. 16. P. 33–43.

164. Badger A. M., Mirabelli C. K., Dimartino M. Generation of suppressor cells in normal rats by treatment with spirogermanium, a novel heterocyclic anticancer drug. *Immunopharmacology.* 1985. 10 (3). P. 201–207.

165. Badr El-Din N. K. Protective role of sanumgerman against γ-irradiation–induced oxidative stress in Ehrlich carcinoma-bearing mice. *Nutrition research*. 2004. 24 (4). P. 271–291.

166. Bai M., Geng L., Sun L. Biologically active organogermanium compounds and their synthesis. *Huaxue Tongbao.* 1987. Vol. 11. P. 23–28.

167. Bandger A. M. DiMartino M. J., Swift B. A., Mirabelli C. K. Immunomodulatory activity and non-specific suppressor cell generation by spirogermanium in murine and rat models of cell-mediated immunity. *Immunopharmacology.* 1988. № 16. P. 33–43.

168. Brutkiewicz R. R., Suzuki F. Biological activities and antitumor mechanism of an immunopotentiating organogermanium compound Ge-132. *In vivo.* 1987. № 1. P. 189–204.

169. Cheminform abstract: antiarthritic and suppressor cell inducing activity of azaspiranes: structure-function relationships of a novel class of immunomodulatory agents / A. M. Badger, D. A. Schwartz, D. H. Picker, J. W. Dorman, F. C. Bradley, E. N. Cheeseman, M. J. Dimartino, N. Hanna, C. K. Mirabelli. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1991. 22. P. 2963–2970.

170. Cheminform Abstract: Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Ascorbic Acid Derivatives Conjugated with Organogermanium / C. Oh, M. Li, E. H. Kim, J. S. Park, J. C. Lee, S. W. Ham. *Cheminform.* 2011. 42. P. 3513–3514.

171. Chemoprevention of mammary, cervix and nervous system carcinogenesis in animals using cultured panax ginseng drugs and preliminary clinical trials in patients with precancerous lesions of the esophagus and endometrium / Bespalov V. G., Alexandrov V. A., Limarenko A. Y., et al. *J Korean Med Sci.* 2001. 16. P. 42–53.

172. Chen H. Z., Sun C., Yu A. Y., Jin Z. J. Antitumor effect of lysine germanium. *Proceedings of Academic Conference on Nutrition and Oncology of China Nutrition Society*. 1990.

173. Chen H. Z., Sun C., Yu A. Y., Jin, Z. J. The promotional effect of lysine germanium on immune function. *Proceedings of Academic Conference on Nutrition and Oncology of China Nutrition Society*. 1990.

174. Chen Y., Shi Y. Inhibitory effect of Ge-132 on the tumor lesion of marek, disease and its mechanism. *Chinese Journal of Veterinary Science.* 1994. 14. P. 18–22.

175. Chronic intoxication test on germanium contaminated spirulina product fed to Wistar strain rats / H. Orimo, K. Onda, H. Kaseki et al.. *Elyogdku Zasshi*. 1984. 42 (1). P. 43–49.

176. Chrysin-Organogermanium (IV) Complex Induced Colo205 Cell Apoptosis Associated Mitochondrial Function and Anti-Angiogenesis / F. Yang, L. Gong, H. Jin, J. Pi, H. Bai, H. Wang, H. Cai, P. Yang, J. Cai. *Scanning*. 2015. 37. P. 246–257.

177. Chunjiang Tan, Lu Xiao, Wenlie Chen, Songming Chen. Germanium in ginseng is low and causes no sodium and water retention or renal toxicity in the diuretic-resistant rats. *Experimental Biology and Medicine.* 2015. 240. P. 1505–1512.

178. Cochlear damage due to germanium-induced mitochondrial dysfunction in guinea pigs / T. Yamasoba, Y. Goto, H. Komaki et al. *Neurosci Lett*. 2006. 395 (1). P. 18–22.

179. Disturbance of antioxidant protection and natural resistance factors in rats with different availabilities of trivalent chromium / V. Vlizlo, R. Iskra, I. Maksymovych, M. W. Lis, J. W. Niedziółka. *Turk J Vet Anim Sci*. 2014. 38. P. 138–144.

180. Dixon C., Hagemeister F., Legha S., Bodey G. Pulmonary toxicity associated with spirogermanium. *Cancer Treatment Reports.* 1984. 68. P. 907–908.

181. DNA binding specificity and cytotoxicity of novel antitumor agent Ge132 derivatives / G. Shangguan, F. Xing, X. Qu, J. Mao, D. Zhao, X. Zhao, J. Ren. *Bioorg Med Chem Lett.* 2005. 15 (12). P. 2962–2965.

182. Dolaychuk O. P., Fedoruk R. S., Kropyvka S. J. Physiological reactivity and antioxidant defense system of the animal organism induced by Germanium, Chromium, and Selenium «nanoaquacitrates». *Agric. Sci. and pract.* 2015. 2 (2). P. 50–52.

183. Dolaychuk O. P., Fedoruk R. S., Kovalchuk I. I., Kropyvka S. Y. Physiological and biochemical processes in the organisms of rats that were fed with different amounts of germanium citrate. *The Animal Biology*. 2015. 17 (2). C. 50–56.

184. Effect of carboxyethylgermanium sesquioxide on cultured normal neonatal rat myocardial cells and cells injured by isoproterenol / Chen Y. Q., Tian B., Li X. M., et al. *Yao Hsueh Hsuen Pao.* 1992. 27 (7). P. 481–485.

185. Effect of geranti Bio-Ge Yeast, a dried yeast containing biogermanium, on the production of antibodies by B Cells / S. S. Joo, T. J. Won, J. L. Yong, J. K. Min, S. Y. Park, S. H. Lee, K. W. Hwang, Y. Lee. *Immune Network.* 2006. 6. P. 86–92.

186. Effect of germanium-132 on galactose cataracts and glycation in rats / N. J. Unakar, M. Johnson, J. Tsui, M. Cherian, E. C. Abraham. *Experimental Eye Research*. 1995. 61 (2). P. 155–164.

187. Effect of organic germanium compound (Ge-132) on experimental osteoporosis in rats / A. Fujii, N. Kuboyama, J. Yamane, S. Nakao, Y. Furukawa. *General Pharmacology.* 1993. 24. P. 1527–1532.

188. Effect of organic germanium compound (Ge-132) on experimental osteoporosis in rats: the relationship between transverse strength and bone mineral density or bone mineral content / H. Matsumoto, G. Z. Jiang, T. Hashimoto, N. Kuboyama, J. Yamane, K. Nonaka, A. Fujii. *Radiology.* 2002. 1. P. 10–16.

189. Effect of protein level and dietary germanium biotite on egg production, egg quality and fecal volatile fatty acid in laying hens / W. B. Lee, I. H. Kim, J. W. Hong, O. S. Kwon, B. J. Min, K. S. Shon, Y. K. Jung . *Korean Journal of Poultry Science*. 2004. 30. P. 275–280.

190. Effect of zinc, selenium and germanium on the immunity of mice / Y. Gao, H. Y. Xiao, Z. B. Zhang, B. H. Hao, W. L. Xue. *Journal of Hygiene Research.* 2001. 30. P. 252–253.

191. Effect of Zinc, Selenium and Germanium on the immunity of mice / W. L. Xue, D. D. He, X. S. Li, B. H. Hao, Z. B. Zhang, C. T. Chen. *Journal of Xi'an Medical University*. 2000. 21. P. 16–17.

192. Effectiveness of propagermanium treatment in multiple myeloma patients / Y. Tsutsumi, J. Tanaka, H. Kanamori et al. *Eur J. Haematol*. 2004. 73 (6). P. 397–401.

193. Effects of 2-Carboxyethylgermanium Sesquioxide (Ge-132) as an Immunological Modifier of Post-Surgical Immunosuppression in Dogs / Y. Nakada, T. Kosaka, M. Kuwabara, S. Tanaka, K. Sato, F. Koide. *Journal of Veterinary Medical Science*. 1993. 55. P. 795–799.

194. Effects of dietary germanium biotite on growth performance and blood characteristics in broiler chicks / W. B. Lee, I. H. Kim, J. W. Hong, O. S. Kwon, B. J. Min. *Korean Journal of Poultry Science*. 2003. 30. P. 67–72.

195. Effects of Ge-132 on oxygen free radicals and the lipid peroxidation induced by hydroxyl free radical in vitro / J. C. Wang, G. S. Xing, W. D. Hu, T. L. Zhu, Q. Wang, H. Zhao. *Chinese Pharmaceutical Journal*. 1994. 29. P. 24–25.

196. Effects of Germanium on the Growth of Main Immune Organs in Broilers / Z. Y. Niu, F. Z. Liu, Y. S. Wan, X. Liang, M. Xie. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*. 2001. 10. P. 41–43.

197. Effects of organogermanium on development of immune organs in chickens / Z. X. Tang, Y. Chen, Y. Shi, W. Wang, J. P. Zhou. *Journal of Anhui Agricultural University*. 1996. 23. P. 145–150.

198. European convention for the protection of vertebrate animals used for experim. and other scientific purposes. *Coun. of Europe, Strasbourg*. 1986. 53 p.

199. Evaluation of Ge-132 on laying hen performance / Z. X. Tang, Y. Shi, J. Y. Zhao, J. Ma, B. L. Sun, W. F. Duan. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Journal*. 1995. 2. P. 13–15.

200. Experimantal Research of the Organic Germanium (Ge-132) on the Enhancement of the Anti Hapatocarcinoma Effect of CTX / Ling Zhouying, Li Jiaquan, Liu Zhonghe et al. Academic journal of guangdong college of pharmacy. 1997-01.

201. Experimental germanium myopathy / I. Higuchi, K. Takahashi, K. Nakahara, S. Izumo, M. Nakagawa, M. Osame. *Acta Neuropathol.* 1991. 82. P. 55–59.

202. Fedoruk R. S., Dolaychuk O. P., Kovalchuk I. I., Tsap M. M. Reactions of physiological systems in the organisms of rats to feeding with low and high doses of germanium “nanoaquacitrate”. *Agricu. Scienc. and Pract.* 2015. 2 (3). P. 15–21.

203. Fedoruk R. S., Tesarivska U. I., Khrabko M. I., Tsap M. M. Growth and development of the organism and immunophysiological indices of blood of male F_2 rats, affected by different doses of nanogermanium citrate. *Agric. Scien. and Pract.* 2017. 4 (2). P. 14–22.

204. Feng X. F. Germanium and disease prevention. *Studies of Trace Elements and Health.* 2005. 22. P. 62–63.

205. Feng X. F., Jin W. G. Advance in synthesis and physiological effect of germanium compounds. *Food Science and Technology*. 2006. 31. P. 177–181.

206. Furst A. Biological testing of germanium. *Toxicology and industrial health*. 1987. 3 (1). P. 167–204.

207. Gao S. Y. Pharmacology activity of lysine germanium oxide. *Studies of trace elements and health.* 1990. 3. P. 3–5.

208. Gerber G. B., Leonard A. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of germanium compounds. *Mutation Research*. 1997. 387. P. 141–146.

209. Germa-gamma-lactones as novel inhibitors of bacterial urease activity / Z. Amtul, C. Follmer, S. Mahboob et al. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007. 356 (2). P. 457–463.

210. Germane facts about germanium sesquioxide: I. Chemistry and anticancer properties / B. J. Kaplan, W. W. Parish, G. M. Andrus, et al.. *J. Altern Complement Med.* 2004. 10 (2). P. 337–344.

211. Germanium dioxide induces mitochondria-mediated apoptosis in Neuro-2A cells / Lin C.H., Chen S.S., Lin Y.C., et al. *Neurotoxicology.* 2006. 27 (6). P. 1052–1063.

212. Germanium dioxide-induced nephropathy: a new type of renal disease / T. Sanai, S. Okuda, K. Onoyama et al.. *Nephron.* 1990. 54 (1). P. 53–60.

213. Germanium myopathy: clinical and experimental pathological studies / I. Higuchi, S. Izumo, M. Kuriyama, et al.. *Acta Neuropathol (Berl).* 1989. 79 (3). P. 300–304.

214. Germanium organic g-interferon and inhibitor of interferonaction inducers / F. J. Yershov, A. N. Narovlyansky, A. M. Amchenkova et al. *Eur. Fed. Immunol. Soc. Abstr*. 1990. P. 130.

215. Germanium oxide inhibits the transition from G2 to M phase of CHO cells / Chiu S. J., Lee M. Y., Chen H. W., et al. *Chem Biol Interact.* 2002. 141 (3). P. 211–228.

216. Germanium oxide removal by citric acid and thiol passivation from citric acid-terminated Ge (100) / G. Collins, D. Aureau, J. D. Holmes, A. Etcheberry, C. O'Dwyer. *Langmuir*. 2014. 30 (47). P. 14123–14127.

217. Germanium poisoning: clinical symptoms and renal damage caused by long-term intake of germanium / K. Obara, T. Saito, H. Sato et al.. *Jpn. J. Med*. 1991. 30 (1). P. 67–72.

218. Germanium-induced nephropathy: report of two cases and review of the literature / T. Matsusaka, M. Fujii, T. Nakano et al.. *Clin Nephrol*. 1988. 30 (6). P. 341–345.

219. Goodman S. Germanium the health and life enhancer. *N. Y.: Dell Publishing*. 1998. 245 p.

220. Goodman S. Therapeutic effects of organic germanium. *Med Hypotheses.* 1988. 26 (3). P. 207–215.

221. Goossens A. Low-cost solar cells with solid-state nanocomposites of TiO_2, GeO_2 and $CuInS_2$. *13th International Conference on Solid Films and Surfaces. San Carlos de Bariloche. Argentin.* 2006. 115 p.

222. Han C., Wu G., Yin Y., Shen M. Inhibition by germanium oxide of the mutagenicity of cadmium chloride in various genotoxicity assays. *Food and Chemical Toxicology*. 1992. 30 (6). P. 521–524.

223. Hao W., Xu Y. Q., Wang W. X. The present status of research on cancer cachexia metabolism. *China Cancer*. 2004. 13. P. 240–242.

224. Hara S., Hayashi N., Hirano S. Determination of germanium in some plants and animals. *Z. Naturforsch*. 1990. 45 (11-12). P. 1250–1251.

225. Heoun B. D., Jin J. T. U. S., Kang J. K. Germanium-fortified yeast activates macrophage, NK cells and B cells and inhibits tumor progression in mice. *Korean Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2007. 35. P. 118–127.

226. Hepatoprotective effect of propagermanium on Corynebacterium parvum and lipopolysaccharide-induced liver injury in mice / S. Yokochi, Y. Ishiwata, H. Hashimoto et al. *Scand J Immunol.* 1998. 48 (2). P. 183–191.

227. Higara T., Takada M., Nakajima T., Ozawa H. Effects of bisphosphonate (pamidronate) on bone resorption resulting from metastasis of a squamous cell carcinoma: report of an autopsy case and evaluation of bone resorbing activity in an experimental animal model. *J. Oral Maxillofac. Surg*. 1996. 54 (11). P. 1327–1333.

228. Hill B. T., Whelan R. D. Spirogermanium a novel antitumour agent expressing a lack of cross-resistance in vitro with a range of «standard» antitumour drugs. *Investigational New Drugs.* 1986. 4. P. 359–365.

229. Immunomodulation of Organic Germanium (Ge-401) on Antibody Production of Mouse B Lymphocyte / W. Y. Li, L. P. Cheng, W. Peng, Y. F. Zhu, H. B. Gao, Y. F. Wang. *Shanghai Journal of Immunology.* 1991. 11. P. 197–199.

230. Induction of interferon and activation of NK cells and macrophages in mice by oral administration of Ge-132, an organic germanium compound / Aso H., Suzuki F., Yamaguchi T., et al.. *Microbiol Immunol.* 1985. 29 (1). P.65–74.

231. Induction of interferon production by natural killer cells by an organogermanium compounds, Ge 132 / S. Arai, I. Tomita, T. Munakata et al. *Int. J. Immunother*. 1987. V. 3, N 2. P. 97–103.

232. Influences of dietary germanium colloid on growth performance and hematological changes in nursery pigs / J. W. Hong, O. S. Kwon, B. J. Min, J. H. Cho, Y. J. Chen, K. S. Shon, J. O. Kang, I. H. Kim. *Journal of the Korean Society of International Agriculture.* 2006. 16. P. 289–293.

233. Iskra R. Ya., Vlislo V. V., Fedoruk R. S. Biological efficiency of citrates of microelements in animal breeding. *Agric. sci. pract.* 2017. 4 (3). P. 28–34.

234. Iskra R. Ya., Slivinska O. M., Klymets H. V. Carbohydrate metabolism in blood and liver of rats with experimental diabetes and its correction by zinc citrate. *Біологія тварин*. 2016. 18 (3). С. 46–52.

235. Ismail D. A., Noaman E. Synthesis and antitumour activity of four germanium amino acid complexes. *Egyptian Journal of Chemistry.* 2007. 50. P. 29–37.

236. Jang J. J., Cho K. J., Lee Y. S., Bay J. H. Modifying responses of alkyl sulfide, indole-3-cabinol and germanium in a rat multi-organ carcinogenesis model. *Carcinogenesis.* 1991. 12 (4). P. 691–695.

237. Jao S. W., Lee W., Ho Y. S. Effect of germanium on 1,2-dimethylhydrazine-induced intestinal cancer in rats. *Dis. Colon Rectum*. 1990. 33 (2). P. 99–104.

238. Jung B. G., Lee J. A., Lee B. J. Antiviral effect of dietary germanium biotite supplementation in pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of veterinary science.* 2013. 14 (2). P. 135–141.

239. Kagoshima M., Kodaira H., Onishi T. Study of general pharmacological effects of germanium compounds. *J. Med. Pharm. Sci.* 1986. 15 (5). P. 1491–1496.

240. Kagoshima M., Suguro N., Onishi T. Metabolic fate of 2-carboxyethylgermanium sesquioxide (I). Intravenous administration. *Pharmacometrics*. 1986. 32 (1). P. 81–88.

241. Kakimoto N. NMR Spectra of Organogermanium Compounds tuted 1-Trichlorogermylethanes 2-13c NMR spectra of 2-substituted 1-Trichlorogermylethanes. *Magnetic Resonance in Chemistry.* 1985. 23 (2). P. 140–143.

242. Kakimoto N., Sato K., Matsui M. Organogermanium compounds first general method for synthesis of bioactive trithiogermatra nes with novel functional groups. *Heterocycles*. 1986. 24 (11). P. 3047–3052.

243. Kakimoto N., Sato K., Takada T., Akiba M. Organogermanium compounds. New simplified synthesis of germatranes with novel functional groups. *Heterocycles.* 1985. 23 (6). P. 1493–1496.

244. Kaplan B. J., Andrus G. M., Parish W. W. Germane facts about germanium sesquioxide: II. Scientific error and misrepresentation. *J Altern Complement Med.* 2004. 10 (2). P. 345–348.

245. Keith L. S., Faroon O. M., Maples-Reynolds N., Fowler B. A. Germanium-Handbook on the toxicology of metals. *Chapter 37. Handbook on the Toxicology of Metals, 4th Edition.* 2015. P. 799–816.

246. Khallow K. I., Sulayman K. D., al-Ubaidi E. A. Preparation and antibacterial evaluation of some nitrone derivatives with Ge (IV) and Sn (IV) chloride complexes. *Boll Chim Farm.* 2003. 142 (5). P. 223–225.

247. Kidd P. M. Germanium (Ge-132): homeostatic normalizer and immunostimulant. A review of its preventive and therapeutic efficacy. *Int. Clin. Nutr. Rev.* 1987. 7 (1). P. 11–20.

248. Kleinrok Z., Lekim D., Jagiello-Wojtowicz E. Central action of sanumgerman administered orally in mice. *Acta Physiol. Pol.* 1988. 39 (4). P. 244–253.

249. Kobayashi A., Ogra Y. Metabolism of tellurium, antimony and germanium simultaneously administered to rats. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2009. 34. P. 295–303.

250. Kobayashi H., Komuro T., Furue H. Effect of combination immunotherapy with organogermanium compounds, Ge-132, and antitumor agents on C57B4/6 mice bearing Lewis Lung carcinoma (3LL). *Gan to Kagaku Ryoho*. 1986. 13 (8). P. 2588–2593.

251. Kolodny Y., Halicz L. The geochemistry of germanium in deep-sea cherts. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 1988. 52 (9). P. 23–33.

252. Komuro T., Kakimoto N., Katayama T., Harato T. Inhibitory effects of Ge-132 (carboxythylgermanium sesquioxide) derivatives on enkephalindegrading enzymes. *Biotechnol., Appl. Biochem.* 1986. 8 (5). P. 379–386.

253. Kong T., Qu Y. S., Zhu L. Q. Biological function of trace elementgermanium. *Studies of Trace Elements and Health.* 2007. 24. P. 59–60.

254. Kong X. Organic germanium: its toxic effect and function in medical care. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 1993. 73 (8). P. 454–456.

255. Krapf R., Schaffner T., Iten P. X. Abuse of germanium associated with fatal lactic acidosis. *Nephron.* 1992. 62. P. 351–356.

256. Krystek P., Ritsema R. Analytical product study of germaniumcontaining medicine by different ICP-MS applications. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2004. 18. P. 9–16.

257. Kuwabara M. Immunotermotherapy and related TNS induction in mice. *J. Vet. Med. Sci.* 1993. 55 (3). P. 471–473.

258. Lee C. H., Lin R. H., Liu S. H., Lin-Shiau S. Y. Effects of germanium oxide and other chemical compounds on phenylmercury acetate-induced genotoxicity in cultured human lymphocytes. *Environ Mol Mutagen.* 1998. 31 (2). P. 157–162.

259. Legha S. S., Ajani J. A., Bodey G. P. Phase I study of spirogermanium given daily. *Journal of Clinical Oncology Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1983. 1. P. 331–336.

260. Levine S. A. Organic Germanium A Novel Dramatic Immunostimulant. *Journal of Orthomolecular Medicine*. 1987. 2 (2). P. 83–87.

261. Li J. F. Growth promoting effect and toxicity of germanium in chickens. *Archiv für Geflügelkunde*. 1993. 57. P. 705–210.

262. Li J. F. The growth promotion effect and toxicity of two germanium compounds for broiler chickens. *Chinese Journal of Animal Nutrition*. 1994. 6. P. 23–29.

263. Li L. J., Ruan T., Lyu Y., Wu B. Y. Advances in Effect of Germanium or Germanium Compounds on Animals – A Review. *Journal of Biosciences and Medicines.* 2017. 5. P. 56–73.

264. Li M., Seo J. A., Lim K. M., Ham S. W. A novel organogermanium protected atopic dermatitis induced by oxazolone. *Bioorg Med Chem Lett*. 2010. 20 (14). P. 4032–4034.

265. Lin C. H., Chen T. J., Chen S. S. Functional changes on ascending auditory pathway in rats caused by germanium dioxide exposure: an electrophysiological study. *Toxicology*. 2009. 256. P. 110–117.

266. Lin H., Wei P. J., Gu P. K., Jin Z. G. Protective effect of germaniumaminoacid on rat myocardial cells inculture to oxygen and. *Journal of Shanghai Second Medical University*. 1994. 8. P. 62–68.

267. Liu G. Y., Zhang D. S. Effects of Ge-132 on antioxidant function of dairy cattle. *Journal of Gansu Agricultural University*. 1997. 32. P. 365–369.

268. Long-term treatment with propagermanium suppresses atherosclerosis in WHHL rabbits / Y. Eto, H. Shimokawa, E. Tanaka et al. *J. Cardiovasc Pharmacol.* 2003. 41 (2). P. 171–177.

269. Lorenz P. Organic germanium – oxygen enricher and antioxidant. *Organic Germanium and ATP's Fulvic Acid*. 2008. 4. P. 32–48.

270. Lu S. L., Tang J. X., Deng L. S. Effects of germanium citrate on the immunogenic function of mice. *Guangdong Trace Elements Science*. 1997. 4. P. 21–23.

271. Lu S. L., Zhang G. L., Zhong H. L., Ren G. Y. An experimental study on antitumor effect of germanium citrate. *Guangdong Trace Elements Science*. 1998. 5. P. 44–46.

272. Lukevics E. Ignatovich L. 32-Ge Biological activity of organogermanium compounds. *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. John Wiley & Sons. Ltd.* 2005. P. 279–295.

273. Lukevics E., Ignatovich L. M. Toxicity of Organogermanium Compounds. *The Chemistry of Organic Germanium, Tin and Lead Compounds.* 2003. 43 (1). P. 857–863.

274. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science.* 2002. 296 (5566). P. 301–305.

275. Meinema H. A., Liebregts A. M. I., Budding H. A., Bulten E. J. Synthesis and evaluation of organometal–based antitumor agents of germanium and tin. *Rev.Silicon, Germanium, Tin, Lead Compd*. 1985. 8 (2–3). P. 157–168.

276. Metal ion coordination of macromolecular bioligands / Burger K., Illes J., Gyurcsik B., et al. *Carbohydr Res.* 2001. 332 (2). P. 197–207.

277. Mrema I. E. K., Slavik M., Davis I. Spirogermanium a new drug with antimalarial activity against Chloroquine-resistant plasmodium falciparum. *Int. J. Clin. Pharmacol., Ther. Toxicol.* 1983. 21 (4). P. 167–171.

278. Mu K. H., Feng, J. The study of the effection of Ge-132 on cultured melanocytes. *The Chinese Journal of Dermatovenereology*. 2003. 17. P. 91–95.

279. Mulder P., Van Den Hoek A. M., Kleemann R. The CCR2 Inhibitor Propagermanium Attenuates Diet-Induced Insulin Resistance, Adipose Tissue Inflammation and Non-Alcoholic Steatohepatitis. *PLoS ONE*. 2017. 12 (1). e0169740.

280. MunakaLa T., Agai S., Kumano K. Tomita, Y. Induction of interferon production by natural killer cells by organogermanium compound-Ge-132. *Journal of Interferon Research*. 1987. 7. P. 69–76.

281. Nagahama N., Okada M., Minamishima Y. Protective effects of Ge-132 (an organic germanium compounds) on murine cytomegalovirus infection. *Chemotherapy*. 1987. 35 (7). P. 546–550.

282. Nagai H., Haspgawa K., Shimpo K. Reproductive study of rats intraperitoneally treated with carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge132). *Oyo Yakuri*. 1980. 20 (2). P. 271–280.

283. Nakamura T., Nagura T., Sato K., Ohnishi M. Evaluation of the Effects of Dietary Organic Germanium, Ge-132, and Raffinose Supplementation on Caecal Flora in Rats. *Bioscience of Microbiota Food & Health*. 2012. 31. P. 37–45.

284. Nakamura T, Takeda T, Tokuji Y. The Oral Intake of Organic Germanium, Ge-132, Elevates α-Tocopherol Levels in the Plasma and Modulates Hepatic Gene Expression Profiles to Promote Immune Activation in Mice. Int J Vitam Nutr Res. 2014. 84 (3-4). P. 183-215.

285. Nephropathy and neuropathy induced by a germanium-containing compound / K. M. Kim, C. S. Lim, S. Kim, S. H. Kim, J. H. Park, C. Ahn, J. S. Han, J. S. Lee. *Nephrology, Dialysis, Transplantation*. 1998. 13. P. 3218–3219.

286. Nephrotoxicity of germanium compounds: report of a case and review of the literature / A. Takeuchi, N. Yoshizawa, S. Oshima et al.. *Nephron*. 1992. 60 (4). P. 436–442.

287. Neuroprotective MK801 is associated with nitric oxide synthase during hypoxia/reoxygenation in rat cortical cell cultures / H. M. Huang, C. C. Shen, H. C. Ou et al. *J. Cell. Biochem*. 2002. 84 (2). P. 367–376.

288. Ninomiya T., Okada T., Hoaogai Y. Germanium contents in foods. *Shokuhm Eiseigaku Zasshi*. 1976. 17 (6). P. 481–482.

289. Niu Z. Y., Jiao W. M., Liang X., Liu F. Z. Effects of Carboxyethyl Germanium Sesquioxide (Ge-132) on Growth Performance and Immune Response of Broilers. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*. 2009. 24, 98-101.

290. Okuda S., Kiyama S., Oh Y. Persistent renal dysfunction induced by chronic intake of germanium-containing compounds. *Current Therapeutic Research*. 1987. 41 (1). P. 265–275.

291. Oral single and repeated-dose toxicity studies on Geranti Bio-Ge Yeast®, organic germanium fortified yeasts, in dogs / J. S. Lee, J. I. Park, S. H. Kim, S. H. Park, S. K. Kang, C. B. Park, Y. B. Kim. *The Journal of Toxicological Sciences.* 2004. 29 (5). P. 555–569.

292. Oral single and repeated-dose toxicity studies on Geranti Bio-Ge yeast®, organic germanium fortified yeasts, in rats / J. S. Lee, J. I. Park, S. H. Kim, S. H. Park, S. K. Kang, C. B. Park, Y. B. Kim. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2004. 29 (5). P. 541–553.

293. Park S. K., Lee S. W., Kasumi T. Effect of Germanium-132 on the Growth of Lactic Acid Bacteria. *Korean Journal of Food Preservation.* 1999. 6. P. 506–513.

294. Pat. 45-216722 Jpn. Organogermanium compounds / Kakimoto N. / C. A. 1997. 48. 2157629b.

295. Pat. 55-167222 Jpn. Organic germanium polymers as therapeutic agents / T. Sato // C. A. 1981. 95. 225683m.

296. Pat. 60-11494 Jpn. Organogermanium compounds as anticancer, antiinflammatory and antiinfective agents / Yano T., Sasajima K. // C. A. 1995. 103. 71513a.

297. Pat. US5336688 (A) Composition containing organogermanium compound and immunity adjusting agents comprising the compositions / K. Sawai, M. Kurono, J. Awaya et al.. Sanwa Kagaku Kenkyusho Co., Ltd. – Appl. 8,876; Filed: 25.01.1993; Publ. 09.081994.

298. Pathophysiology of cataracts copper ion and peroxidation in diabetica / K. Lin. *Japanese Journal of Ophthalmology*. 1997. 41. P. 130–137.

299. Pilatte Y., Bignon J., Lambre C. R. Sialic acids as important molecules in the regulation of the immune system: pathophysiological implications of sialidascs in immunity. Glycobiology. 1993. 3 (3). P. 201–217.

300. Polyphenols: food sources and bioavailability / C. Manach, A. Scalbert, C. Morand [et al.] // Am J Clin Nutr. – 2004. – Vol. 79. – P. 727–47.

301. Prevention of pulmonary metastasis of Lewis lung carcinoma and activation of murine macrophages by a novel organic germanium compound, PCAGeS / I. Sato, T. Nishimura, N. Kakimoto, H. Suzuki, N. Tanaka. *J. Biol. Res. Modif*. 1988. 7 (1). P. 1–5.

302. Preventive effect of germanium dioxide on the inhibition of gap junctional intercellular communication by TPA / K. S. Kang, J. W. Yun, B. Yoon, et al.. *Cancer Lett.* 2001. 166 (2). P.147–153.

303. Promotive Effects of the Dietary Organic Germanium Poly-Trans-[(2-Carboxyethyl) Germasesquioxane] (Ge-132) on the Secretion and Antioxidative Activity of Bile in Rodents / T. Nakamura, T. Nagura, M. Akiba, K. Sato, Y. Tokuji, M. Ohnishi, K. Osada. *Journal of Health Science*. 2010. 56. P. 72–80.

304. Pronai L., Arimori S. Decreased Plasma Superoxide Scavenging Activity in Immunological Disorders-Carboxyethylgermanium Sesquioxide (Ge-132) as a Promoter of Prednisolone. *Biotherapy.* 1992. 4. P. 1–8.

305. Propagermanium reduces atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice via inhibition of macrophage infiltration / T. Yamashita, S. Kawashima, M. Ozaki, M. Namiki, N. Inoue, K. I. Hirata, M. Yokoyama. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2002. 22 (6). P. 969–974.

306. Propagermanium suppresses macrophage-mediated formation of coronary arteriosclerotic lesions in pigs in vivo / H. Shimokawa, Y. Eto, K. Miyata, K. Morishige, T. Kandabashi, K. Matsushima, A. Takeshita. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2003. 41 (3). P. 372–380.

307. Propagermanium: a nonspecific immune modulator for chronic hepatitis B / C. Hirayama, H. Suzuki, M. Ito, M. Okumura, T. Oda. *J Gastroenterol.* 2003. 38 (6). P. 525–532.

308. Protection against concanavalin A-induced murine liver injury by the organic germanium compound, propagermanium / Y. Ishiwata, S. Yokochi, H. Hashimoto, et al.. *Scand J Immunol.* 1998. 48 (6). P. 605-614.

309. Radioprotective Activity and Synthesis of Siladithioacetals and Germadithioacetals Derived from N-substituted Naphthylethylimidazoline / B. Célariès, G. Rima, L. Court et al. *Met Based Drugs*. 2001. 8 (4). P. 199–210.

310. Radiosensitizing Effects of Amino-Acid Germanium Compounds on Tumor Radiotherapy / R. Wang, P. Shi, B. Hu, Y. Shen, Z. Wang, C. Li. *Trace Elementsence*. 1998. 5. P. 42–44.

311. Ramalho J., Marques C., Pereira P., Mota M. C. Crystallin Composition of Human Cataractous Lens May Be Modulated by Protein Glycation. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology.* 1996. 234. P. 232–238.

312. Rautava S., Walker W. A. Immunophysiology and Nutrition of the Gut. *Nutrition in pediatrics: basic science and clinical applications.* 2008. P. 251–260.

313. Regulation of germanium-enriched barley seedling on immune function of mice / R. Du, X. J. Wang, X. Ruan, X. S. Liu, Y. Q. Qu, L. H. Yang. *Food Science.* 2008. 29. P. 578–581.

314. Renal failure caused by long-term use of a germanium preparation as an elixir / K. Okada, K. Okagawa, K. Kawakami et al.. *Clin. Nephrol.* 1989. 31 (4). P. 219–224.

315. Research of the anticancer activity of the amino acid germanium oxide (AGO-GA) / F. J. Zhao, J. S. Guo, Y. S. Ji, Z. Nie, H. Z. Chen, W. Sun. *Proceedings of Academic Conference on Nutrition and Oncology of China Nutrition Society*. 1990.

316. Review of Ge detectors for gamma spectroscopy / D. Alexiev, M. I. Reinhard, L. Mo, A. R. Rosenfeld, M. L. Smith. *Australas Phys Eng Sci Med.* 2002. Vol. 25, № 3. P. 102–109.

317. Sato H., Iwaguchi T. Antitumor activity of new organogermanium compound Ge-132. *Gan to Kagaku Ryoho*. 1979. 6 (1). P. 79–83.

318. Sato I., Nishinura T., Kakimoto N. Prevention of pulmonary metastasis of Lewis lung carcinoma and activation of murine macrofages by a novel organic germanium conpound, PCAGeS. *J. Biol. Response Modif.* 1988. 7 (1). P. 1–5.

319. Sato I., Yuan B. D., Nishimura T., Tanaka N. Inhibition of tumor growth and metastasis in association with modification of immune response by novel organic germanium compounds. *J Biol Response Mod.* 1985. 4 (2). P. 159–168.

320. Schauss A. G. Nephrotoxicity and neurotoxicity in humans from organogermanium compounds and germanium dioxide. *Biol Trace Elem Res.* 1991. 29 (3). P. 267–280.

321. Schroeder H. A., Balassa J. J. Abnormal trace metals in man: germanium. *J. Chronic Diseases*. 1967. 20 (4). P. 211–224.

322. Schroedher H. A., Balassa J. J. Arsenic, Germanium, Tin and Vanadium in Mice: Effects on Growth, Survival and Tissue Levels. *Journal of Nutrition*. 1967. 92. P. 245–252.

323. Schwartz G. N., Biegel J. A., Fisher B., Klein I. Spirogermanium: Effects on hematopoietic stem cells and survival of normal and tumor-bearing mice. *Experimental Biology and Medicine.* 1983. 173. P. 176–180.

324. Seaborn C. D., Nielsen F. H. Effects of germanium and silicon on bone mineralization. *Biological trace element research.* 1994. 42 (2). P. 151–164.

325. Seotsanyana-Mokhosi I., Kresfelder T., Abrahamse H., Nyokong T. The effect of Ge, Si and Sn phthalocyanine photosensitizers on cell proliferation and viability of human oesophageal carcinoma cells. *J Photochem Photobiol B.* 2006. 83 (1). P. 55–62.

326. Shaowen T. R. H. Germanium and antineoplastic agents. *Studies Of Trace Elements And Health*. 1997. 14 (3). P. 57–58.

327. Si C. P., Sun W. D., Wang M. H. Effect of carboxyethyl germanium sesquioxide (Ge-132) on cellular immune function in the aged. *Journal of Jining Medical University*. 1992. 15. P 12–13.

328. Slawson R. M., Van Dyke M. I., Lee H., Trevors J. T. Germanium and silver resistance, accumulation and toxicity in microorganisms: Review. *Plasmid*. 1992. 27 (1). P. 72–79.

329. Song C. L., Ji C., Jing X. D. Advance in physical and chemical properties of germanium and nutrition functions in animals. *Chinese Journal of Animal Science*. 2005. 41. P 64–66.

330. Stein A. Materials science: germanium takes holey orders. *Nature.* 2006. 441 (7097). P. 1055–1056.

331. Stewart J. H., Donald V. L. Germanium, Tin, and Copper. Patty's Toxicology. *John Wiley & Sons, Inc*. 2000. P. 51–54.

332. Studies on the antiviral activity of propagermanium with immunostimulating action / Y. Ishiwata, E. Suzuki, S. Yokochi, et al. *Arzneimittelforschung.* 1994. 44 (3). P. 357–361.

333. Study of exogenous interferons induced by Ge-132 in chicken / G. H. Zhang, W. H. Li, Q. X. Yang, C. R. Li, B. Q. Liu. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Journal.* 2000. 5. P. 1–4.

334. Study on the inhibition effect of caffeic acid germanium on the U14 Tumor in mice and the cell apoptosis mechanisms / C. H. Liu, F. Y. Yao, F. Y. Sun, J. L. Jiang, C. Xiao. *Heilongjiang Animal Science & Veterinary Medicine.* 2016. 11. P. 178–180.

335. Sugiya Y., Sugita T., Sakamaki S. Subacute and chronic intraperitoneal toxicity of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) in rats. *Oyo Yakuri.* 1996. 32 (1). P. 93–111.

336. Sulin L., Guilin Z., Hengliang Z., Guagyou R. An Experimental Study on Antitumor Effect of Germanium Citrate. *Trace Elements Science*. 1998. 7 (014). P. 44–46.

337. Sulin L., Jingxiang T., Lianshu D. Effects of Germanium Citrate on the Immunogenic Function of Mice. *Trace Elements Science.* 1997. 5 (004). P. 22–23.

338. Supplementation of dietary germanium biotite enhances induction of the immune responses by foot-and-mouth disease vaccine in cattle / M. Jung, M. K. Shin, S. B.Cha, S. W. Shin, A. Yoo, W. J. Lee, H. T. Park, J. H. Park, B. Kim, Y. K. Jung, H. S. Yoo. *BMC Veterinary Research*. 2014. 10. P. 1–10.

339. Suppressor cell induction by the anticancer drug spirogermanium / A. M. Badger, M. J. Dimartino, T. C. Schmitt, B. A. Swift, C. K. Mirabelli. *International Journal of Immunopharmacology.* 1987. 9. P. 621–630.

340. Suzuki F., Brutkiewicz R. R., Pollard R. B. Ability of sera from mice treated with Ge-132, an organic germanium compound, to inhibit experimental murine ascites tumours. *British Journal of Cancer.* 1985. 52. P. 757–763.

341. Suzuki F., Brutkiewicz R. R., Pollard R. B. Cooperation of lymphokines and macrophages in expression of antitumor activity of carboxythylgermanium sesquioxide. *Anticancer Res.* 1987. 6 (2). P. 177–182.

342. Suzuki F., Brutkiewicz R. R., Pollard R. B. Importance of T-Cells and macrophages in the antitumor activity of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132). *Anticancer research.* 1985. 5. P. 479–483.

343. Synthesis and biological activity of 3-(2, 8, 9-trioxa-aza-1-germatricyclo [3.3.3.0] undecane-1-yl)- caffeic acid / L. Ye, Y. Luo, X. Peng et al. *Med Chem*. 2009. 5 (4). P. 382–384.

344. Synthesis and biological activity of silyl- and germylsubstituted trifluroacetylfurans / L. Ignatovich, D. Zarina, I. Shestakova, S. Germane, E. Lukevics. *Met Based Drugs*. 2001. 8 (4). P. 211–214.

345. Synthesis and biological evaluation of water-soluble organogermanium / S. Choi, C. Oh, J. Han et al. *Eur J Med Chem*. 2010. 45 (4). P. 1654–1656.

346. Synthesis and evaluation of novel organogermanium sesquioxides as antitumor agents / C. L. Zhang, T. H. Li, S. H. Niu et al. *Bioinorganic Chem. Applicat*. 2009. ID 908625. P. 1–8.

347. Synthesis, molecular structure and biological activity of Bromobenzylgermatranes / E. Lukevics, L. Ignatovich, T. Shul'ga, et al. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2002. 659. P. 165–171.

348. Tang B. H., Mo Z. S., Huang S. D. Studies on Germanium Yeast. *Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army*. 1994. 12. P. 179–183.

349. Tang Z. X., Shi Y. Effects of Ge-132 on free radical metabolism of parent-filial generation in the laying hens. I. Effects of Ge-l32 on free radical metabolism of

blood and some tissues in laying hens. *Chinese Journal of Veterinary Science*. 1995. 15. P. 81–84.

350. Tang Z. X., Shi Y., Wang Z. L. Effects of Ge-132 on lipid metabolism of laying hens. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Journal*. 1995. 3. P. 1–5.

351. Tang Z. X., Shi, Y. Effects of Ge-132 on free radical metabolism of parent-filial generation in the laying hens II. Vertical effects of germanium on free radical metabolism of blood and some tissues of filial generation in laying hens. *Chinese Journal of Veterinary Science*. 1995. 15. P. 157–161.

352. Tao S. H., Bolger P. M. Hazard assessment of germanium supplements. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1997. 25 (3). P. 211–219.

353. Taylor A., Dickson F., Dobrota M. Effects of germanium health supplements in the rat. *Clinical Chemistry*. 1991. 37 (6). P. 985.

354. The antineoplastic and radiosensitizing effect of cardoxietylgermanium sesquioxide / S. Wang, S.Wang, J. Wang et al. *Tianjin Yiyao*. 1985. 13 (12). P. 729–732.

355. The effect of two types of germanium compound on the production performance of meat chicken / P. Wen, X. Y. Zhao, Y. Ao, G. M. Qi, Z. Y. Liu. *Feed Review*. 2000. 4. P. 4–6.

356. The effects of germanium biotite supplement as a prophylactic agent against respiratory infection in calves / M. Jung, B. G. Jung, S. B. Cha, M. K. Shin, W. J. Lee, S. W. Shin, J. A. Lee, Y. K. Jung, B. J. Lee, H. S. Yoo. *Pak Vet J*. 2012. 32 (3). P. 319–324.

357. The Effects of Germanium-132 on Humoral Immunological Function of Mice / Y. R. Piao, Y. D. Cui, F. P. Meng, Y. X. Li, X. L. Jin, F. D. Cui. *Journal of Medical Science Yanbian University*. 1993. 16. P. 93–94.

358. The enhancement effect of organic germanium (Ge-132) on immune function / C. P. Si, X. L. Dang, J. Yu, J. Yang, M. Y. Yi. *Shanghai Journal of Immunology*. 1994. 14. P. 14–15.

359. The mechanism underlying acetaminopheninduced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation /

M. R. McGill, M. R. Sharpe, C. D. Williams, M. Taha, S. C. Curry, H. Jaeschke. *The Journal of Clinical Investigation*. 2012. 122 (4). P. 1574–1583.

360. Thiele D. J. Integrating trace element metabolism from the cell to the whole organism. *J Nutr*. 2003. 133 (5) 1. P. 1579–1580.

361. Toxic damage of kidney, liver and muscle attributed to the administration of germanium-lactate-citrate / S. J. I. Van, B. H. Stricker, M. E. Schipper, W. Bruijn, P. A. Smet, M. R. Esseveld. *Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde*. 1991. 135. P. 1134–1137.

362. Toxicity of an organic Germanium compound: deleterious consequences of a «natural remedy» / J. Raisin, B. Hess, M. Blatter et al.. *Schweiz Med Wochenschr*. 1992. 122 (1-2). P. 11–113.

363. Toxicological studies on germanium dioxide / Hatano M., Ishimura R, Fishigami K, Ito J., Hango J, Hosokawa S., Azuma J. *1. Acute, subacute, chronic toxicity and succesive irrigation to the eye. Eyo Yakuri*. 1981. 21 (1, 5). P. 773–807.

364. Toxische beschadiging van nier, lever en spier toegeschreven aan het gebruik van germanium-lactaat-citraat / J. I. Van Der Spoel, B. Stricker, M. E. I. Schipper, W. de Bruijn, P. de Smet, M. Esseveld. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 1991. 135 (25). P. 1134–1137.

365. Tubulointerstitial nephropathy persisting 20 months after discontinuation of chronic intake of germanium lactate citrate / B. Hess, J. Raisin, A. Zimmermann, F. Horber, S. Bajo, A. Wyttenbach, P. Jaeger. *American Journal of Kidney Diseases*. 1993. 21. P. 548–552.

366. Venugopal B., Luckey T. D. Metal toxicity in mammals. Chemical toxicity of metals and metalloids. Plenum Press. 1978. 409 p.

367. Via S. The Role of Trace Elements in Hematopoiesis. *Terapevticheskii Arkhiv*. 1963. 35. P. 3–14.

368. Vinodhini J., Sudha S. Effect of bis-carboxy ethyl germanium sesquoxide on n-nitroso-n-methylurea induced rat mammary carcinoma. *Asian J Pharm Clin Res*. 2013. 6 (2). P. 242–244.

369. Wakabayashi Y. Effect of Germanium-132 on low-density lipoprotein oxidation and atherosclerosis in Kurosawa and Kusanagi hypercholesterolemic rabbits. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2001. 65 (8). P. 1893–1896.

370. Wang B. G., Zhang G. Y., Zhao L. Y., Liu Y. Inhibiting effect of organic germanium poly-acid derivative on S180 cells. *Journal of Xi'an Jiaotong University*. 2002. 23. P. 550–551.

371. Wang Y. S. Advanced Research of Germanium Nutrition in Poultry. *China Feed*. 2001. 23. P. 27–28.

372. Wang Y. X., Xiao C. Research and Progress of Organic Germanium. *Jiangxi Journal of Medical Laboratory Sciences*. 2006. 24. P. 252–254.

373. Wen P., Ji S. X., Liu S. J. The effect of inorganic germanium on the lipid metabolism of commodity laying hens. *Heilongjiang Animal Husbandry and Veterinary Journal*. 2010. 1. P. 67–68.

374. Xie W., Chen X., Yang K. Effects of selenium and germanium on lipid peroxidation in rats fed with low-selenium grain. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 1996. 30 (2). P. 88–90.

375. Xiong Z. Y., Yang H. Biological function of trace element germanium and movement ability. *Journal of Qinghai Normal University (Natural Science)*. 2008. 4. P. 85–87.

376. Xu C. S., Bi S. W., Zhang X. F. Trace elements-germanium and human health. *Studies of Trace Elements and Health*. 1996. 2. P. 62–63.

377. Yanagimoto M., Sato H., Kakimoto N. Alkaline shift effect on the uptake of germanium by algae, *Chlorella elhpsoidea, Oscillatona sp* and *Spirullina platensis*. *J. Ferment Technol*. 1983. 61 (3). P. 233–238.

378. Yang M. K., Kim Y. G. Protective role of Germanium-132 against paraquat-induced oxidative stress in the livers of senescence-accelerated mice. *J. Toxicol Environ Health A*. 1999. 58 (5). P. 289–297

379. Ye L., Zhang W. Synthesis and biological activity of 3-(2, 8, 9-trioxa-aza-1-germatricyclo[3.3.3.0]undecane- 1-yl)-hydroxycinnamic acids. *Medicinal Chemistry*. 2007. 3 (5). P. 466–468.

380. Yim S. Y., Lee I. Y., Kim T. S. Enzyme histochemical study of germanium dioxide-induced mitochondrial myopathy in rats. *Yonsei Med J.* 1999. 40 (1). P. 69–75.

381. Yoshinar O., Shiojima Y., Igarashi K. Hepatoprotective effect of germanium-containing Spirulina in rats with (D)-galactosamine- and lipopolysaccharide-induced hepatitis. *Br J. Nutr*. 2014. 111 (1). P. 135–140.

382. Yu J., Si C. P. The Effects of oral organic germanium on the immune function of RBC. *Journal of Jining Medical University*. 1992. 15. P. 29–30.

383. Yuan Y., Wen P., Guo D. X., Tian H. Effects of organic and inorganic germanium on lipid metabolism of broilers. *Journal of Shenyang Agricultural University*. 2000. 31. P. 203–206.

384. Zaijun L., Jiaomai P., Jan T. Spectrophotometric method for determination of germanium in foods with new color reagent trimethoxylphenylfluorone. *Analytica Chimica Acta*. 2001. 445 (1). P. 153–159.

385. Zhang G. L., Lu S., Zhong H. L. Experimental study on the effects of organic germanium (Ge-201) on nonspecific immunity of mice. *Guangdong Trace Elements Science*. 1997. 4. P. 38–39.

386. Zhang P. J., Yu Y. Pharmacological effects of Ge-132. *World Pharmacy*. 1991. 12. P. 25–26.

387. Zhang Y., Wang B., Zhang G. Study of anti-tumor and mechanism of organogermanium poly-derivatinmves. *Carcinogenesis Teratogenesis & Mutagenesis*. 2004. 16. P. 39–42.

388. Zheng H. P. Physiological function of organic germanium and its application in food. *Studies of Trace Elements and Health*. 2011. 28. P. 65–67.