

ISSN 1814-6023 (Print)  
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 612.616.6+591.463:615.25+615.31:[661.888.1+661.866.2]  
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-293-305>

Поступила в редакцію 20.11.2017  
Received 20.11.2017

И. О. Белкина<sup>1</sup>, Н. А. Карпенко<sup>1</sup>, Е. М. Коренева<sup>1</sup>, Н. П. Смоленко<sup>1</sup>,  
Э. Е. Чистякова<sup>1</sup>, В. К. Клочков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины, Харьков, Украина

<sup>2</sup>Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, Харьков, Украина

## КОРРЕКЦИЯ РАССТРОЙСТВ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ САМЦОВ КРЫС С ПОМОЩЬЮ НАНОЧАСТИЦ ОРТОВАНАДАТА ГАДОЛИНИЯ

**Аннотация.** Установлено, что самцы крыс, которые в неонатальный период (с 3-х по 22-е сутки жизни) испытывали эмоциональный стресс и получали избыточное количество фитоэстрогенов с молоком матери, в 10-месячном возрасте имеют избыточную массу тела, что обусловлено увеличением массы висцерального жира, изменением белкового обмена и проатерогенными изменениями липидного обмена (повышением уровня общего холестерина и триглицеридов), нарушением про/антиоксидантного баланса. Кроме того, у этих самцов отмечался сниженный уровень тестостерона и имелись нарушения сперматогенеза (меньше общая концентрация сперматозоидов и меньшая концентрация морфологически нормальных гамет), проявляющиеся в образовании дефектных сперматозоидов. Обнаружены также нарушения полового поведения и снижение способности к оплодотворению самок. При наступлении беременности у самок более чем в 2 раза увеличивались общие внутриутробные потери. Вследствие таких изменений показатель репродуктивного потенциала ( $F_1$ ) у самцов был снижен вдвое по сравнению с контрольным уровнем.

Исследована эффективность применения наночастиц ортованадата гадолиния, активированных европием (НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$ ), в составе гидрозоля или фармакологической композиции (в дозе 0,33 мг/кг массы тела в течение 70 сут) для коррекции расстройств мужской репродуктивной функции. В качестве референтных изучены препараты трибестан в дозе 68 мг/кг и спеман в дозе 168 мг/кг. Положительное влияние НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$  на репродуктивную функцию самцов крыс с экспериментальной репродуктопатией, проявляющееся в нормализации сперматогенеза, уровня тестостерона, содержания триглицеридов, общего холестерина, аргинина в сыворотке крови, активности аланинаминотрансферазы в печени, фертильности и плодовитости, уменьшении эмбриональной смертности способствовало нормализации расчетного показателя репродуктивного потенциала. Увеличение массы гипофиза и повышение гонадотропной активности гипофизов самцов, получавших НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$ , может указывать на возможное действие НЧ на центральный механизм регуляции репродуктивной функции. Несколько большая биологическая активность НЧ в составе гидрозоля может объясняться введением в состав фармакологической композиции вспомогательных веществ, влияющих на физико-химические свойства НЧ и их биологическую активность.

**Ключевые слова:** гипофертильность, сперматозоиды, репродуктивная функция, самцы крыс, неонатальный стресс, фитоэстрогены, наночастицы, ортованадат гадолиния

**Для цитирования:** Коррекция расстройств репродуктивной функции самцов крыс с помощью наночастиц ортованадата гадолиния / И. О. Белкина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 293–305. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-293-305>

I. O. Belkina<sup>1</sup>, N. A. Karpenko<sup>1</sup>, E. M. Koreneva<sup>1</sup>, N. P. Smolenko<sup>1</sup>, E. E. Chistyakova<sup>1</sup>, V. K. Klochkov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>Institute for Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

## CORRECTION OF DISORDERS OF THE REPRODUCTIVE FUNCTION OF MALE RATS USING GADOLINIUM ORTHOVANADATE NANOPARTICLES

**Abstract.** Male rats were exposed to emotional stress and had an excessive amount of phytoestrogens with the mother's milk (from 3 to 22 days of life) and were examined at an age of 10 months. Animals had an excess body weight through an increased weight of visceral fat, changes in protein and lipid metabolism (increased total cholesterol and triglycerides), impaired pro/antioxidant balance. These males had a decreased level of testosterone and impaired spermatogenesis (less total sperm concentration and less concentration of morphologically normal gametes) with the formation of defective spermatozoa. Also, the violations of the sexual behavior and the worst fertilization of females were found. More than a two-fold increase of intrauterine losses in these pregnant females was noted. Due to such changes, the reproductive potential ( $F_1$ ) in these males was reduced by half compared to the control level.

The effectiveness of application of gadolinium orthovanadate nanoparticles activated by europium (NPs  $GdVO_4:Eu^{3+}$ ), as part of a hydrogel or a pharmacological composition (0.33 mg/kg of body mass, 70 days) for correction of male reproductive

function disorders was studied. As reference preparations, tribestane (68 mg/kg) or spemane (168 mg/kg) was used. After the treatment, the results of spermatogenesis, testosterone production and fertility of the main group of males became better. Due to the reduction of embryonic losses, the reproductive potential index was normalized. NPs normalized the level of triglycerides, total cholesterol, arginine in the serum, as well as the transaminase activity in the liver. An increase in the weight and gonadotropic activity of hypophysis of the treated males were found, indicating a possible effect of NPs on the central regulatory mechanism of the reproductive function. The higher biological activity of NPs in the hydrosol composition was found, which can be explained by the introduction of auxiliary substances into the pharmacological composition that affects the physicochemical properties of NPs  $GdVO_4:Eu^{3+}$  and their biological activity.

**Keywords:** hypofertility, reproductive function, spermatozoa, male rats, neonatal stress, phytoestrogens, nanoparticles, gadolinium orthovanadate

**For citation:** Belkina I. O., Karpenko N. A., Koreneva E. M., Smolenco N. P., Chistyakova E. E., Klochkov V. K. Correction of disorders of the reproductive function of male rats using gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Vesti Natsyyanal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 293–305 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-3-293-305>

**Введение.** Одной из актуальнейших проблем во многих странах является ухудшение репродуктивного здоровья населения и связанные с этим процессы депопуляции. По современным данным, бесплодие обнаруживается у 15 % супружеских пар. Мужской фактор становится причиной супружеского бесплодия примерно в 30 % случаев, из которых 30–50 % приходится на идиопатическое бесплодие [1]. Причины нарушения репродуктивной функции мужчин носят как эндогенный (генетические, эндокринные, инфекционные, метаболические, иммунные расстройства), так и экзогенный (факторы окружающей среды, образ жизни) характер. При этом эти факторы могут снижать фертильность, выступая изолированно, или усиливать действие друг друга [2]. Одной из причин идиопатической гипофертильности может быть неблагоприятное воздействие повреждающих факторов в неонатальный период развития, что нарушает программу нормального функционирования репродуктивной системы во взрослом возрасте [3]. В таком случае лечение часто эмпирическое, а традиционные препараты для коррекции расстройств репродуктивного здоровья не всегда приносят нужный результат [4]. Все это обуславливает актуальность поиска эффективных лечебных средств на основе новейших технологий.

Одним из многообещающих направлений является применение наноматериалов, так как при переходе этих соединений в наноформу они способны приобретать новые свойства и изменять биодоступность, проникать через гематоэнцефалический и гематотестикулярный барьеры [5]. Наночастицы (НЧ) могут оказывать не только антиоксидантное, но и прооксидантное действие, поэтому их влияние на репродуктивную функцию может быть как благоприятным, так и негативным. Так, при поступлении в организм ряда НЧ, преимущественно металлов, наблюдается повреждение половых клеток [6]. В то же время обнаружены и положительные эффекты, что, по-видимому, зависит от природы НЧ, их формы и размера (формфактора), дозы и окружения [7]. Известно, что при действии НЧ отмечаются повышение уровня тестостерона (Тс), активация сперматогенеза, улучшение фертильности [8–11]. Гидратированные НЧ С60 фуллерена оказывают протективное действие на репродуктивную функцию мышей со стрептозотоциновым диабетом [12]. НЧ ортованадата гадолиния ( $GdVO_4$ ), полученные в Институте сцинтилляционных материалов НАН Украины, оказали положительное влияние на репродуктивную функцию крыс с возрастной патологией половой функции, стимулируя стероидогенез и сперматогенез [13].

Стабильные соединения гадолиния считают безопасными для человека и используют преимущественно в качестве магнитно-резонансных контрастных препаратов, выступающих как радиосенсибилизаторы при проведении лучевой терапии онкологических заболеваний [14, 15].

Ванадий принимает участие в процессах роста и развития клеток, в регуляции углеводного и липидного обмена, обладает инсулиномиметическим действием. При этом на состоянии репродуктивной системы может сказываться как его недостаточность, так и его избыточное количество [16, 17].

Поскольку инсулин участвует в регуляции репродуктивной функции, влияя на секрецию гонадотропинов, синтез секс-стероид связывающего глобулина, гаметогенез, капацитацию и подвижность сперматозоидов [18–20], а соединения ванадия проявляют инсулиноподобное действие, предполагается, что применение НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$  позволит корректировать репродуктивные расстройства.

Цель работы – определение эффективности коррекции расстройств мужской репродуктивной функции, возникших вследствие неонатального стрессирования на фоне фитоэстрогенизации, с помощью НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$  в виде водного геля (субстанции) или в составе фармацевтической композиции.

**Материалы и методы исследования.** НЧ ортованадата гадолиния, активированного европием ( $GdVO_4:Eu^{3+}$ ), получали по описанной ранее методике [21], используя в качестве стабилизирующего агента динатриевую соль этилендиамина тетрауксусной кислоты. Коллоидные водные системы бесцветны, прозрачны в проходящем свете и опалесцируют. Коллоидный характер растворов подтверждается наличием конуса рассеивания Тиндаля. Коллоидные частицы растворов легко проходят через ультрафильтр из нитроцеллюлозы (диаметр пор 100 нм), имеют стержнеобразную форму, размер  $8 \times 25$  нм. При хранении при комнатной температуре растворы (рН 7,2–7,8) не меняют своих физико-химических свойств больше 2 мес. и пригодны для биологических исследований.

Исследования проводили в соответствии с национальными «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Украина, 2001), руководствуясь положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985). В экспериментах использовали самцов и самок крыс популяции Вистар, которые содержались в стандартных условиях вивария при комнатной температуре, естественном освещении, на рекомендованном для них рационе и имели свободный доступ к воде [22].

Для исследования эффективности НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$  для коррекции расстройств мужской репродуктивной функции воспроизводили модель неонатально индуцированной репродуктопатии. Крысят, рожденных от интактных родителей, с 3-х по 15-е сутки жизни подвергали эмоциональному стрессированию путем отсадки самки-матери на 15 мин в клетку, где до этого находились «чужие» самцы (модель *maternal separation stress*), в это же время крысят выкладывали по одному на чистую подстилку (модель *clean bedding*). Фитоэстрогенизацию крысят на фоне эмоционального стресса проводили путем добавления в рацион матери с 3-х по 21-е сутки после родов смеси фитоэстрогенов (ФЭ) в дозе 100 мг/кг [23].

По достижении 10-месячного возраста самцы в течение 70 сут перорально натошак получали НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$  в составе водного геля (субстанция (рис. 1), группа Стресс + ФЭ + НЧ-с) или жидкой фармакологической композиции<sup>1</sup> (группа Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к) в дозе 0,33 мг/кг массы тела, или референтные препараты трибестан в дозе 68 мг/кг массы тела (группа Стресс + ФЭ + трибестан) или спеман в дозе 168 мг/кг массы тела (группа Стресс + ФЭ + спеман). Индивидуальную дозу корректировали еженедельно в соответствии с динамикой массы тела. Контрольными считали результаты, полученные у интактных животных соответствующего возраста (группа Контроль).

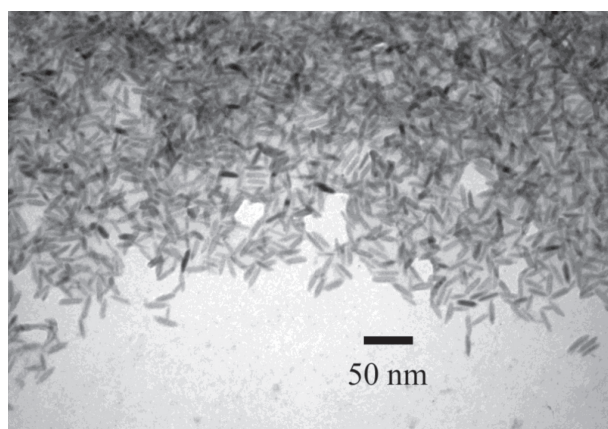


Рис. 1. Микрофото водного раствора НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$ .  $\times 150$

Fig. 1. Photomicrograph of an aqueous solution of low-frequency  $GdVO_4:Eu^{3+}$ .  $\times 150$

<sup>1</sup> Состав фармакологической композиции находится на патентовании.

После формирования у самцов полового опыта в сумеречное время в течение 15 мин исследовали половое поведение в парных тестах с овариэктомированной рецептивной самкой по временным и количественным показателям садок, интромиссий и эякуляций, рассчитывали продолжительность постэякуляторного рефрактерного периода [24].

Оценивали фертильность самцов по результатам спаривания с интактными здоровыми самками в течение 8 сут, рассчитывали индексы оплодотворения и беременности. Определяли показатели, характеризующие протекание беременности: уровень предимплантационных, постимплантационных и суммарных внутриутробных потерь у беременных самок, число желтых тел, мест имплантации, количество, пол, массу, длину плодов [24]. Кроме того, оценивали репродуктивный потенциал самцов по величине расчетного показателя средней реализованной плодовитости (фертильности) самцов ( $\Phi_i$ ) по формуле

$$\Phi_i \pm S_{\Phi_i} = \frac{N_2 N_3 (N_4 \pm S_{N_4})}{N_1 N_1} = \frac{N_2 N_3 N_4}{N_1 N_1} \pm \frac{N_2 N_3 S_{N_4}}{N_1 N_1},$$

где  $N_1$  – количество самок в группе;  $N_2$  – количество оплодотворенных самок;  $N_3$  – количество беременных самок;  $N_4$  – среднее количество плодов у самки;  $S_{N_4}$  – ошибка среднего арифметического количества плодов у самки [25].

Животных выводили из эксперимента путем быстрой декапитации, на аутопсии проводили визуальный осмотр внутренних органов, определяли их массу и массу висцерального жира (сумма гонадального, почечного и мезентериального жира). Состояние сперматогенеза исследовали с помощью микроскопа «Биолам», определяя с помощью камеры Горяева концентрацию эпидидимальных спермиев, их подвижность и относительное содержание патологических форм. Подвижность гамет выражали как процент подвижных клеток на 200 спермиев, процент аномальных форм определяли после осмотра 200 клеток. Функциональную полноценность сперматозоидов оценивали по их осмотической резистентности (в условных единицах, соответствующих концентрации раствора NaCl, при которой прекращается движение клеток), продолжительности их движения и процентному содержанию мертвых сперматозоидов. Рассчитывали концентрацию морфологически нормальных половых клеток ( $C_N$ ) по формуле

$$C_N = C \frac{100 - PF}{100},$$

где  $C$  – концентрация эпидидимальных сперматозоидов, млн/мл;  $PF$  – патологические формы, % [23, 24].

Концентрацию общего Тс и эстрадиола в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с помощью тест-наборов фирмы «ХЕМА» (Россия) и иммуноферментного анализатора Stat Fax 2100. Используя глюкозооксидазный метод, с помощью глюкометра «Эксан-Г» оценивали уровень глюкозы в цельной крови, которую получали из хвоста. С помощью наборов «Спайн-Лаб» (Украина) спектрофотометрически определяли содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ), активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) («Филисит-Диагностика», Украина), концентрацию свободного аргинина и стабильных метаболитов цикла оксида азота (NOx) в сыворотке крови и в 10 %-ном гомогенате (в 0,9 %-ном растворе NaCl) семенников и печени самцов крыс [26]. Общую гонадотропную активность определяли методом биологического тестирования суспензии гипофизов крыс [27].

Данные представлены как среднее арифметическое ( $\bar{x}$ ) и его погрешность ( $\pm S_x$ ). Разницу между группами оценивали с помощью множественных сравнений с использованием  $Q$ -критерия Данна и  $U$ -критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** У самцов крыс, которые в неонатальный период подвергались стрессированию и фитоэстрогенизации, в 5 раз уменьшалось количество эякуляций ( $0,14 \pm 0,10$  случаев) по сравнению с контролем ( $0,75 \pm 0,18$ ),  $p < 0,05$ ) и на 41 % сократился их латентный период (до  $430,0 \pm 60,0$  с по сравнению с  $733,1 \pm 47,3$  с в контроле,  $p < 0,05$ ). Конечного звена поло-

вого поведіння (еякуляції) досягали 14 % живих тварин, що говорить про зміни в регуляції на периферическом рівні.

Нарушення сперматогенезу у цих крыс виражалося в зменшенні в 1,6 рази концентрації сперматозоїдів і збільшенні в 1,8 рази кількості мертвих сперміїв, що сказувалося на зменшенні кількості нормальних сперматозоїдів (в 1,6 рази,  $p < 0,05$ ) (рис. 2). Ці результати стосуються с даними про зниження  $T_c$  в сировотці в 1,4 рази ( $p < 0,05$ , табл. 1), указує на можливий дефіцит  $T_c$  (ведь цей андроген дуже необхідний для підтримки сперматогенезу, особливо якісних показників сперматозоїдів [28]), або свідчать про порушенні регуляції на центральному рівні внаслідок погіршення гонадотропної стимуляції і зменшення концентрації фолікулоstimулюючого (ФСГ) і лютеїнізуєющего гормонів. Останнє обумовлено тим, що рівень ФСГ грає центральну роль в стимуляції сперматогенезу, формуючи його кількісну сторону [29]. Таким чином, у дорослих тварин цієї групи були суттєві порушення копулятивної і сперматогенної функцій.

Подобні результати отримані як при стресуванні, так і при надходженні ФЭ в ранній період розвитку. Погіршення статевих поведінки, сперматогенезу, зниження рівня  $T_c$ , підвищення маси тіла на фоні зниження рівня ФСГ у дорослих самців крыс після надходження ФЭ зв'язували з впливом ФЭ на морфологію статевиморфних областей мозку і їх здатність змінювати експресію рецепторів гормонів і нейротрансмітерів в цих областях [30, 31]. Емоційне стресування в ранньому постнатальному віці може сказуватися на змінах в структурах мозку, гормональній активності, приводячи до погіршенню статевих і соціального поведінки, зниженню кількості сперматозоїдів в дорослому віці [32, 33].

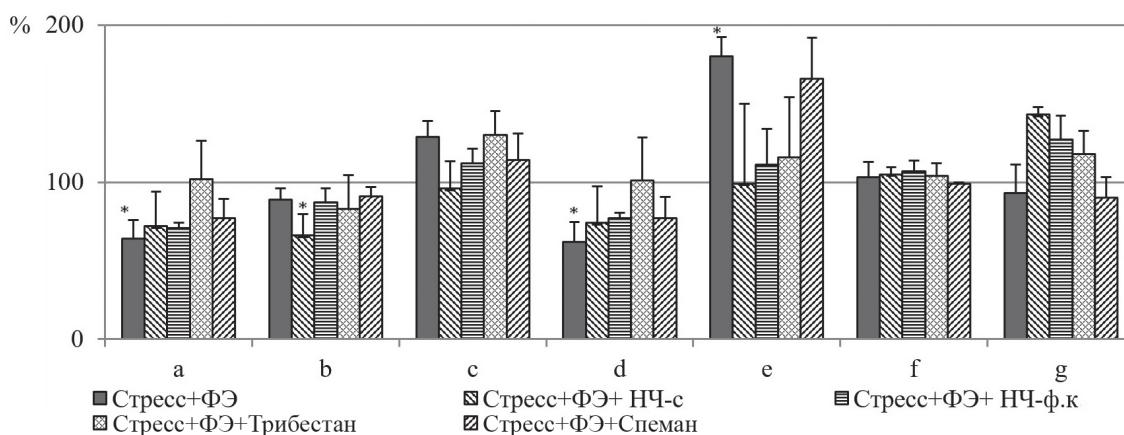


Рис. 2. Показатели спермограммы самцов крыс, подвергшихся неонатальному вмешательству и получавших коррекционную терапию в течение 70 сут, %: *a* – концентрация сперматозоидов, млн/мл; *b* – подвижные формы, %; *c* – патологические формы, %; *d* – концентрация морфологически нормальных сперматозоидов, млн/мл; *e* – мертвые формы, %; *f* – осмотическая резистентность, усл. ед.; *g* – продолжительность движения, мин; \* – статистически значимые отличия от данных группы Контроль (данные группы Контроль приняты за 100 %),  $p < 0,05$

Fig. 2. Indicators of the spermogram of male rats subjected to neonatal intervention and received corrective therapy for 70 days, %: *a* – sperm concentration, mln/ml; *b* – mobile forms, %; *c* – pathological forms, %; *d* – concentration of morphologically normal spermatozoa, mln/ml; *e* – dead forms, %; *f* – osmotic resistance, conventional units; *g* – duration of movement, min; \* – statistically significant differences from the data of the control group (the data of the control group are taken as 100 %),  $p < 0.05$

Гипофертильность у мужчин часто ассоциирована с метаболическим синдромом и ожирением [34]. Известно, что действие неблагоприятных факторов во время критических периодов онтогенеза способно нарушать программу нормального развития половой функции, что у взрослых может сопровождаться метаболическими расстройствами [35]. Так, показано, что поступление ксеноэстрогенов в ранний период онтогенеза приводит к увеличению массы тела и ожирению во взрослом возрасте, изменению пищевого поведения, уровней ТГ, лептина, интерлейкина-6, активности АЛТ [36]. Стресс в неонатальном возрасте сказывался на повышении

массы тела и изменении уровней ТГ, холестерина, грилина, лептина, глюкозы и инсулина у взрослых крыс [32, 37]. В нашем эксперименте у взрослых крыс, получавших ФЭ с молоком матери на фоне эмоционального стресса, обнаружено увеличение массы тела (до  $391,0 \pm 4,1$  г по сравнению с  $356,2 \pm 13,8$  г в контроле,  $p < 0,05$ ) и содержание висцерального жира ( $19715,2 \pm 4862,8$  мг по сравнению с  $8540,0 \pm 684,3$  мг в контроле,  $p < 0,05$ ). При этом уровень глюкозы в крови натошак несколько повышался (на 25 % на 30-е сутки эксперимента: до  $4,0 \pm 0,3$  ммоль/л по сравнению с  $3,2 \pm 0,2$  ммоль/л в контроле, на 16 % на 70-е сутки:  $3,6 \pm 0,1$  ммоль/л по сравнению с  $3,1 \pm 0,1$  ммоль/л в контроле), оставаясь в пределах физиологической нормы. Кроме того, у взрослых крыс этой группы в сыворотке крови снижалось содержание аргинина (на 11,4 %,  $p < 0,05$ ), увеличивалась концентрация NOx (на 25 %,  $p < 0,05$ ), почти в 2 раза повышалась активность АЛТ. Имели место проатерогенные изменения: повышение содержания ТГ – на 45 %, ОХ – 37,4 % ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). В семенниках крыс наблюдался рост суммарного содержания нитрат- и нитрит-анионов (на 23 %,  $p < 0,05$ ), а в печени – снижение активности АЛТ (на 19,2 %,  $p < 0,05$ ) (табл. 1). Таким образом, репродуктивные нарушения у самцов крыс, которые подверглись воздействию эмоционального стресса и фитоэстрогенизации в неонатальный период, во взрослом возрасте сопровождались метаболическими расстройствами липидного и белкового обмена, нарушением про/антиоксидантного баланса.

Т а б л и ц а 1. Гормональные и метаболические показатели самцов крыс, подвергшихся неонатальным вмешательствам, после корректирующей терапии в течение 70 сут ( $\bar{x} + S_x^-$ )

Table 1. Hormonal and metabolic parameters of male rats subjected to neonatal interventions after corrective therapy for 70 days ( $\bar{x} + S_x^-$ )

Показатель	Группа			
	Контроль (n = 5)	Стресс + ФЭ (n = 5)	Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к (n = 5)	Стресс + ФЭ + грибестан (n = 5)
<i>Сыворотка крови</i>				
Тестостерон, нмоль/л	9,10 ± 0,85	6,30 ± 0,43 <sup>1)</sup>	7,23 ± 0,45	9,15 ± 0,67 <sup>2)</sup>
Эстрадиол, нмоль/л	0,54 ± 0,16	0,35 ± 0,10	0,65 ± 0,34	0,47 ± 0,09
Тестостерон/эстрадиол, отн. ед.	21,8 ± 4,8	27,3 ± 9,5	19,8 ± 6,0	22,4 ± 4,8
Свободный аргинин, мкмоль/л	246,5 ± 8,3	218,5 ± 8,2 <sup>1)</sup>	242,5 ± 8,6	237,1 ± 10,0
NOx, мкмоль/л	4,01 ± 0,14	5,00 ± 0,28 <sup>1)</sup>	5,07 ± 0,29 <sup>1)</sup>	5,77 ± 0,24 <sup>1)</sup>
АЛТ, мккат/л	1,25 ± 0,05	2,34 ± 0,08 <sup>1)</sup>	2,51 ± 0,09 <sup>1)</sup>	2,72 ± 0,09 <sup>1), 2)</sup>
АСТ, мккат/л	0,61 ± 0,03	0,56 ± 0,03	0,54 ± 0,03	0,50 ± 0,03
Триглицериды, ммоль/л	0,74 ± 0,06	1,07 ± 0,12 <sup>1)</sup>	0,83 ± 0,06	1,05 ± 0,04 <sup>1)</sup>
Общий холестерин, ммоль/л	2,81 ± 0,36	3,86 ± 0,28 <sup>1)</sup>	2,14 ± 0,09 <sup>2)</sup>	2,17 ± 0,26 <sup>2)</sup>
<i>Семенник</i>				
Свободный аргинин, мкмоль/г	54,5 ± 3,6	58,7 ± 2,6	48,9 ± 2,3	55,8 ± 2,4
NOx, мкмоль/г	4,04 ± 0,24	4,97 ± 0,23 <sup>1)</sup>	4,93 ± 0,19 <sup>1)</sup>	4,68 ± 0,13 <sup>1)</sup>
АЛТ, мккат/г	0,6 ± 0,06	0,71 ± 0,05	0,64 ± 0,04	0,62 ± 0,04
АСТ, мккат/г	1,00 ± 0,07	0,89 ± 0,09	0,82 ± 0,05	0,87 ± 0,07
<i>Печень</i>				
Свободный аргинин, мкмоль/г	49,8 ± 2,5	46,5 ± 2,3	43,1 ± 2,5	42,5 ± 2,7
NOx, мкмоль/г	4,41 ± 0,12	4,01 ± 0,18	4,15 ± 0,13	3,94 ± 0,17
АЛТ, мккат/г	1,56 ± 0,09	1,2 ± 0,06 <sup>1)</sup>	1,40 ± 0,05	1,32 ± 0,09
АСТ, мккат/г	0,80 ± 0,09	0,91 ± 0,01	0,71 ± 0,05 <sup>2)</sup>	0,70 ± 0,06 <sup>2)</sup>

П р и м е ч а н и е. Статистически значимые отличия ( $p < 0,05$ ): <sup>1)</sup> – от данных группы Контроль; <sup>2)</sup> – от данных группы Стресс + ФЭ. То же в табл. 2.

Ослабление половой активности и ухудшение показателей сперматозоидов у самцов крыс группы Стресс + ФЭ приводит к ухудшению фертильности и плодовитости. Уменьшение количества самок, которые были оплодотворены, указывает на ухудшение (на 26 %,  $p < 0,05$ ) полового поведения самцов, подвергшихся воздействию эмоционального стресса и фитоэстрогенизации в неонатальный период, по сравнению с контрольной группой. При этом почти все оплодотворенные самки оказались беременными. На вскрытии самок этой группы на 20-е сутки беременности зафиксирова-

но статистически достоверное уменьшение общего количества плодов (на 17 % от контроля,  $p < 0,05$ ) за счет роста внутриутробных потерь: потери предимплантационного периода были на 46 % выше, постимплантационного периода – выше в 2,2 раза. Поэтому суммарные внутриутробные потери в этой группе были в 2,3 раза больше, чем в контроле, что свидетельствует о нарушениях формирования и созревания сперматозоидов на субклеточном и молекулярном уровнях. Меньшее число зародышей обусловило развитие более крупных плодов ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). Вследствие таких изменений величина показателя репродуктивного потенциала ( $\Phi_i$ ) у самцов группы Стресс + ФЭ была вдвое ниже контрольного уровня ( $p < 0,05$ ) (рис. 3). Таким образом, стрессирование крысят мужского пола на фоне поступления избыточного количества ФЭ в неонатальный период нарушает копулятивную и сперматогенную функции взрослых животных, что приводит к уменьшению их способности к репродукции здорового потомства.

Полученные результаты согласуются с данными других авторов о том, что при воздействии экзогенных факторов в ранний период онтогенеза ухудшаются половое поведение и репродуктивная функция во взрослом возрасте, что связано с изменениями в нейроэндокринной системе и их влиянием на эпигенетические механизмы [3, 35, 36, 38].

Т а б л и ц а 2. Показатели беременности интактных самок, оплодотворенных самцами, подвергшихся неонатальному вмешательству и получавших корректирующую терапию ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Table 2. Pregnancy indices of the intact females fertilized by males exposed to neonatal intervention and receiving corrective therapy ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показатель	Группа					
	Контроль (n = 42)	Стресс + ФЭ (n = 22)	Стресс + ФЭ + НЧ-с (n = 20)	Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к. (n = 7)	Стресс + ФЭ + трибестан (n = 7)	Стресс + ФЭ + спеман (n = 17)
<i>Гибель эмбрионов (на самку), %</i>						
Предимплантационная гибель	7,4 ± 1,5	16,6 ± 3,6 <sup>1)</sup>	9,3 ± 3,7	13,4 ± 2,9	12,6 ± 7,2	13,5 ± 4,1
Постимплантационная гибель	8,8 ± 1,8	20,1 ± 4,8 <sup>1)</sup>	7,2 ± 2,1 <sup>2)</sup>	4,2 ± 2,9 <sup>2)</sup>	0,0 ± 0,0 <sup>1), 2)</sup>	11,8 ± 5,7
Суммарные внутриутробные потери	15,7 ± 2,1	32,5 ± 5,1 <sup>1)</sup>	15,2 ± 4,2 <sup>2)</sup>	16,6 ± 4,8 <sup>2)</sup>	12,6 ± 7,2 <sup>2)</sup>	22,8 ± 5,9
<i>Количество плодов (на самку)</i>						
Самки	4,5 ± 0,3	3,5 ± 0,3 <sup>1)</sup>	4,8 ± 0,6	5,3 ± 0,9	5,0 ± 0,7	4,5 ± 0,5
Самцы	4,5 ± 0,3	4,0 ± 0,4	4,9 ± 0,6	3,9 ± 0,4	4,3 ± 0,8	4,4 ± 0,5
Суммарное количество плодов	9,0 ± 0,3	7,5 ± 0,6 <sup>1)</sup>	9,6 ± 0,6	9,1 ± 0,6	9,3 ± 0,8	8,8 ± 0,8
Самки/самцы	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,6 ± 0,3	1,8 ± 0,6	1,4 ± 0,3
<i>Масса плодов, г</i>						
Самки	2,1 ± 0,03	2,2 ± 0,05 <sup>1)</sup>	2,1 ± 0,05	2,2 ± 0,06	2,3 ± 0,06 <sup>1)</sup>	2,1 ± 0,05
Самцы	2,2 ± 0,03	2,3 ± 0,04	2,2 ± 0,04	2,3 ± 0,08	2,3 ± 0,10	2,4 ± 0,05 <sup>1)</sup>
<i>Краниокаудальный размер плодов, мм</i>						
Самки	29,7 ± 0,2	30,7 ± 0,3 <sup>1)</sup>	29,9 ± 0,3	29,9 ± 0,5	30,4 ± 0,5	29,9 ± 0,3
Самцы	30,8 ± 0,2	31,7 ± 0,3 <sup>1)</sup>	31,5 ± 0,2 <sup>1)</sup>	30,4 ± 0,5	31,3 ± 0,5	31,4 ± 0,4

При проведении корректирующей терапии с помощью НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$  в составе субстанции или фармацевтической композиции у крыс с неонатально индуцированной репродуктопатией, несколько увеличивалось количество элементов ухаживательного поведения –  $7,75 \pm 1,61$  и  $7,50 \pm 1,63$  усл. ед. по сравнению с  $6,67 \pm 0,96$  усл. ед. в контроле ( $p < 0,05$ ). В группе Стресс + ФЭ + НЧ-с увеличился процент самцов, способных к эякуляции (до 38 %,  $p < 0,05$ ), инициация спаривания и время наступления эякуляции у них были приближены к аналогичным значениям у интактных животных. Таким образом, применение НЧ в составе гидрозоля способствовало эффективности копуляции (наступлению эякуляции у большего процента животных), чего не наблюдалось при использовании НЧ в составе фармацевтической композиции и трибестана.

Применение корректирующих веществ в течение 70 сут у крыс основной группы нормализовало уровень Тс (см. табл. 1), что приводило к восстановлению как качественных, так и количественных характеристик сперматозоидов. Параметры спермограммы статистически значимо не отличались от данных контрольной группы, за исключением показателя подвижности сперматозоидов в группе Стресс + ФЭ + НЧ-с (уменьшение на 34 %,  $p < 0,05$ ) (см. рис. 2).

Повышение уровня Тс и улучшение сперматогенеза наблюдалось другими авторами при использовании НЧ  $\text{CeO}_2$  у старых крыс и  $\text{ZnO}$  у крыс с диабетом, что авторы связывали с антиоксидантным действием НЧ [9, 11].

Применение корректирующих веществ не оказывало выраженного эффекта на снижение массы тела и висцерального жира, но положительно влияло на метаболические процессы. После проведенной в течение 70 сут терапии НЧ  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  в составе фармацевтической композиции у взрослых самцов крыс в сыворотке крови нормализовалось содержание аргинина, ТГ и ОХ (табл. 1). Использование референтного препарата трибестан нормализовало концентрацию аргинина и ОХ, однако содержание ТГ оставалось на уровне такового у крыс группы Стресс + ФЭ, т. е. было больше, чем в контрольной группе (на 42 %,  $p < 0,05$ ) (табл. 1). В печени после хронического поступления НЧ  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  в составе фармацевтической композиции или трибестана активность АЛТ достигала контрольных значений (см. табл. 1). Применение НЧ также предотвращало некоторое возрастное повышение уровня глюкозы в крови крыс.

Полученные результаты согласуются с данными, полученными другими авторами. При поступлении сульфата ванадила снижались уровни холестерина и липопротеинов высокой плотности, уменьшалось производство глюкозы, увеличивалось количество инсулиновых рецепторов [39, 40]. При применении хлорида гадолиния у крыс со стрептозотоциновым диабетом снижался уровень гипергликемии и повышалась чувствительность к инсулину [41]. Воздействие НЧ цинка и серебра снижало уровень глюкозы, повышало уровень Тс, продукцию и чувствительность к инсулину, положительно влияло на состояние репродуктивной системы, что связывали не только с антиоксидантным эффектом, но и с повышением уровня Тс вследствие увеличения продукции инсулина [11, 42].

При измерении массы органов выявлено, что у самцов основной группы увеличивалась относительная масса селезенки на 38 % ( $356,5 \pm 33,8$  мг/100 г,  $p < 0,05$ ) и на 52 % относительная масса вентральной простаты ( $215,6 \pm 18,1$  мг/100 г,  $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольными значениями ( $258,6 \pm 12,3$  и  $142,1 \pm 13,2$  мг/100 г). В группе Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к отмечалось снижение относительной массы тимуса (до  $41,5 \pm 4,1$  мг/100 г,  $p < 0,05$ ), а в группе Стресс + ФЭ + НЧ-с – тенденция к ее повышению ( $65,7 \pm 2,4$  мг/100 г,  $0,05 < p < 0,1$ ) относительно контроля ( $59,9 \pm 2,3$  мг/100 г). Влияние НЧ  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  на изменение относительной массы тимуса свидетельствует о их возможном воздействии на иммунную систему. Отмечалось, что обогащение рациона бройлеров ванадием способствовало развитию тимуса за счет увеличения его относительной массы и снижения процента апоптотических тимоцитов, однако поступление ванадиевых соединений в высоких дозах приводило к снижению относительной массы тимуса и увеличению апоптоза [43]. У самцов, получавших НЧ  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  в составе фармацевтической композиции, отмечалось увеличение массы гипофиза на 23 % (до  $11,7 \pm 0,7$  мг против  $9,5 \pm 0,6$  мг в контроле,  $p < 0,05$ ).

При определении общей гонадотропной активности выявлено, что у инфантильных самок мышей, которым вводили гомогенат гипофизов самцов группы Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к, почти в 2 раза возрастала масса яичников (до  $9,0 \pm 0,4$  против  $4,8 \pm 0,7$  мг в контроле,  $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать о гонадотропном эффекте НЧ. Таким образом, некоторое увеличение массы гипофиза у крыс с неонатально индуцированными репродуктивными расстройствами, которые в течение 70 сут получали НЧ в составе фармацевтической композиции, и повышение гонадотропной активности гипофизов этих крыс могут указывать на возможный механизм действия НЧ  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  на репродуктивную функцию через центральный механизм регуляции.

Улучшение состояния сперматозоидов самцов крыс с неонатально индуцированными репродуктивными расстройствами после корректирующей терапии приводило к увеличению количе-



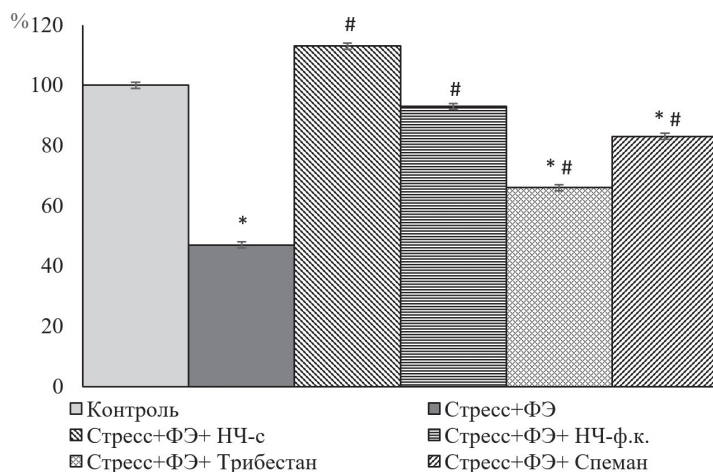


Рис. 3. Относительная величина интегрального показателя плодовитости  $F_i$ , % (данные группы Контроль приняты за 100 %). Статистически значимые отличия ( $p < 0,05$ ): \* – от данных группы Контроль; # – от данных группы Стресс + ФЭ

Fig. 3. Relative value of the integral fertility index  $F_i$ , % (the data of the control group are taken as 100 %). Statistically significant differences ( $p < 0.05$ ): \* – from the data of the control group; # – from Stress + FE

ства оплодотворенных ими самок: в группе Стресс + ФЭ + НЧ-ф.к индекс оплодотворения достигал 100 %, а в группе Стр + ФЭ + НЧ-с – 95 %, из них беременными оказались 78 и 95 % самок соответственно ( $p < 0,05$ ). Применение референтных препаратов приводило к аналогичным результатам, однако по индексу беременности результаты в группе Спеман были лучше, чем в группе Трибестан (94 и 64 % соответственно,  $p < 0,05$ ). Применение корректирующих веществ уменьшило гибель эмбрионов и нормализовало показатель плодовитости: в группе самок, оплодотворенных крысами, которым вводили НЧ в составе гидрозоля или фармакологической композиции, общие внутриутробные потери уменьшились вдвое, а в группе крыс, получавших трибестан, – в 2,6 раза ( $p < 0,05$ ) (см. табл. 2).

В целом, применение корректирующих веществ в течение 70 сут улучшило репродуктивный потенциал самцов с неонатально индуцированной репродуктопатией: при скармливании НЧ в составе гидрозоля или фармакологической композиции показатель  $F_i$  повысился вдвое, при введении спемана и трибестана – в 1,7 и 1,4 раза соответственно по сравнению с группой Стресс + ФЭ ( $p < 0,05$ ). При этом применение НЧ приближало этот показатель к его уровню у интактных крыс, чего не происходило при использовании трибестана и спемана (показатель средней реализованной плодовитости в этих случаях не достигал значений интактного контроля,  $p < 0,05$ ) (рис. 3).

Известно, что инсулин влияет на репродуктивную функцию, контролируя секрецию гонадотропинов и повышая секрецию гонадотропин-рилизинг гормона [18–20, 44]. Предотвращение возрастного повышения уровня глюкозы в крови крыс, которые подверглись неонатальным вмешательствам, а затем получали НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$ , а также некоторое увеличение гонадотропной активности их гипофизов могут указывать на возможную инсулиноподобную активность НЧ ортованадата гадолия, которая свойственна соединениям ванадия [16, 17, 39, 40], и на их влияние на репродуктивную функцию через центральный механизм регуляции.

**Заключение.** Проведенные исследования выявили некоторые различия в выраженности эффекта НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$  в составе гидрозоля или фармакологической композиции. По неопубликованным данным, гидрозоль и данная фармацевтическая композиция отличаются друг от друга величиной среднего гидродинамического диаметра частиц (в нм), что и может быть причиной отличий в биодоступности, распределении и, в конечном счете, биологической активности НЧ ортованадата гадолия. Эти данные указывают на особую значимость фактора окружения НЧ и обосновывают важность изучения эффекта введенных в состав фармацевтической композиции вспомогательных веществ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$  оказывают положительное влияние на репродуктивную функцию самцов крыс с неонатально индуцированными репродук-

тивними расстройтвами, нормалізуя уровень Тс, сперматогенез, позитивно влияя на метаболіческие процессы, фертильность и плодовитость, уменьшая эмбриональную смертность и в целом улучшая репродуктивный потенциал самцов. Изменение массы гипофиза у самцов, получавших лекарственную форму НЧ  $GdVO_4:Eu^{3+}$ , и повышение гонадотропной активности их гипофизов может указывать на возможный механизм действия данных НЧ на репродуктивную функцию через центральный механизм регуляции.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Список использованных источников

1. Поворознюк, М. В. Поширеність та основні причини безпліддя у чоловіків / М. В. Поворознюк // Мед. аспекти здоров'я людини. – 2012. – № 3 (5). – С. 62–73.
2. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts / M. Punab [et al.] // *Human Reproduction*. – 2017. – Vol. 32, N 1. – P. 18–31. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew284>
3. Dickerson, S. M. Estrogenic environmental endocrine-disrupting chemical effects on reproductive neuroendocrine function and dysfunction across the life cycle / S. M. Dickerson, A. C. Gore // *Rev. Endocrine and Metab. Disorders*. – 2007. – Vol. 8, N 2. – P. 143–159. <https://doi.org/10.1007/s11154-007-9048-y>
4. Gudeloglu, A. Medical management of male infertility in the absence of a specific etiology / A. Gudeloglu, J. V. Brahmabhatt, S. J. Parekattil // *Seminars in Reproductive Medicine*. – 2014. – Vol. 32, N 4. – P. 313–318. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1375184>
5. Чекман, І. С. Фізіологічні та фармакологічні властивості нанорозмірних структур / І. С. Чекман // Фізіол. журн. – 2015. – Т. 61, № 6. – С. 129–138.
6. Impact of metal nanoparticles on germ cell viability and functionality / U. Taylor [et al.] // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2012. – Vol. 47, N s4. – P. 359–368. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02099.x>
7. Albanese, A. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems / A. Albanese, P. S. Tang, W. C. W. Chan // *Annu. Rev. Biomed. Eng.* – 2012. – Vol. 14. – P. 1–16.
8. Gold nanoparticles elevate plasma testosterone levels in male mice without affecting fertility / W.-Q. Li [et al.] // *Small*. – 2013. – Vol. 9, N 9–10. – P. 1708–1714. <https://doi.org/10.1002/sml.201201079>
9. Antioxidative effects of cerium dioxide nanoparticles ameliorate age-related male infertility: optimistic results in rats and the review of clinical clues for integrative concept of men health and fertility / N. M. Kobyliak [et al.] // *EPMA J.* – 2015. – Vol. 6, N 1. – P. 12. <https://doi.org/10.1186/s13167-015-0034-2>
10. Нанокристаллический диоксид церия повышает функциональную активность репродуктивной системы стареющих самцов крыс / Н. Я. Спивак [и др.] // *Наносистемы: физика, химия, математика*. – 2013. – Т. 4, № 1. – С. 72–77.
11. Afifi, M. Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on antioxidants and sperm characteristics in streptozotocin-induced diabetic rat testes / M. Afifi, O. A. Almaghrabi, N. M. Kadasa // *Biomed Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – Art. 153573. <https://doi.org/10.1155/2015/153573>
12. Protective effects of nanostructures of hydrated C 60 fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats / R. Bal [et al.] // *Toxicology*. – 2011. – Vol. 282, N 3. – P. 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.12.003>
13. The effects of chronic intake of nanoparticles of cerium dioxide or gadolinium orthovanadate into aging male rats / N. A. Karpenko [et al.] // *Proceedings of the International conference nanomaterials: applications and properties / Sumy State Univ.* – Sumy, 2013. – Vol. 2, N 4. – P. 04NABM28.
14. Gadolinium-based nanoparticles for theranostic MRI-radiosensitization / F. Lux [et al.] // *Nanomedicine*. – 2015. – Vol. 10, N 11. – P. 1801–1815. <https://doi.org/10.2217/nnm.15.30>
15. Multifunctional rare-earth vanadate nanoparticles: luminescent labels, oxidant sensors, and MRI contrast agents / M. Abdesselem [et al.] // *ACS Nano*. – 2014. – Vol. 8, N 11. – P. 11126–11137. <https://doi.org/10.1021/nn504170x>
16. Воробьева, Н. М. Ванадий: биологическая роль, токсикология и фармакологическое применение / Н. М. Воробьева, Е. В. Федорова, Н. И. Баранова // *Биосфера*. – 2013. – Т. 5, № 1. – С. 77–96.
17. Vanadium and its complexes: the renewed interest in its biochemistry / M. T. Pepato [et al.] // *Lat. Am. J. Pharm.* – 2008. – Vol. 27, N 3. – P. 468–476.
18. Insulin: its role in the central control of reproduction / J. H. Sliwowska [et al.] // *Physiol. Behavior*. – 2014. – Vol. 133. – P. 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.021>
19. An essential role for insulin and IGF1 receptors in regulating sertoli cell proliferation, testis size, and FSH action in mice / J.-L. Pitetti [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 27, N 5. – P. 814–827. <https://doi.org/10.1210/me.2012-1258>
20. Lampiao, F. Insulin and leptin enhance human sperm motility, acrosome reaction and nitric oxide production / F. Lampiao, S. S. du Plessis // *Asian J. Androl.* – 2008. – Vol. 10, N 5. – P. 799–807. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2008.00421.x>
21. Wet-chemical synthesis and characterization of luminescent colloidal nanoparticles:  $ReVO_4:Eu^{3+}$  ( $Re=La, Gd, Y$ ) with rod-like and spindle-like shape / V. K. Klochkov [et al.] // *Functional Materials*. – 2011. – Vol. 18, N 1. – P. 111–115.
22. Лабораторные животные : разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – К. : Вища шк., 1983. – 384 с.
23. Пат. 95758 Україна, МПК А61В5/103. Спосіб моделювання неонатально індукованої гіпофертильності самців / Н. О. Карпенко, Е. С. Чистякова, Є. М. Коренева, Н. Ф. Величко (UA) ; заявник і патентовласник ДУ «Ін-т

проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (UA). – № у 2014 06302; заявл. 06.06.14 ; опубл. 12.01.15, Бюл. № 1. – 4 с.

24. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / ред. О. В. Стефанов. – К. : Авіцена, 2001. – 527 с.

25. Інтегральна оцінка репродуктивної функції самців лабораторних тварин / Н. О. Карпенко [та інш.] // Укр. біофарм. журн. – 2011. – Т. 13, № 2. – С. 64–68.

26. Алейникова, Т. Л. Руководство к практическим занятиям по биохимии / Т. Л. Алейникова, Г. В. Рубцова, Н. А. Павлова. – М. : Медицина, 2000. – 126 с.

27. Резников, А. Г. Методы определения гормонов : справ. пособие / А. Г. Резников. – К. : Наук. думка, 1980. – 400 с.

28. Гладкова, А. И. Андрологические проявления стресса / А. И. Гладкова. – Харьков : С. А. М, 2013. – 268 с.

29. The relative roles of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in maintaining spermatogonial maturation and spermiation in normal men / K. L. Matthiesson [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol. 91, N 10. – P. 3962–3969. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1145>

30. Exposure to genistein during gestation and lactation demasculinizes the reproductive system in rats / A. B. Wisniewski [et al.] // J. Urology. – 2003. – Vol. 169, N 4. – P. 1582–1586. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000046780.23389.e0>

31. Henry, L. A. Effects of neonatal resveratrol exposure on adult male and female reproductive physiology and behavior / L. A. Henry, D. M. Witt // Developmental Neuroscience. – 2006. – Vol. 28, N 3. – P. 186–195. <https://doi.org/10.1159/000091916>

32. Rainecki, C. Neonatal handling: an overview of the positive and negative effects / C. Rainecki, A. B. Lucion, J. Weinberg // Developmental Psychobiology. – 2014. – Vol. 56, N 8. – P. 1613–1625. <https://doi.org/10.1002/dev.21241>

33. Stress and the reproductive axis / D. Toufexis [et al.] // J. Neuroendocrinology. – 2014. – Vol. 26, N 9. – P. 573–586. <https://doi.org/10.1111/jne.12179>

34. Новикова, Е. Г. Ассоциация эректильной дисфункции с гипогонадизмом и метаболическим синдромом у мужчин разных возрастных групп / Е. Г. Новикова, Ю. В. Лутов, В. Г. Селяницкая // Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 25, № 4. – С. 685–690.

35. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility / T. T. Schug [et al.] // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2011. – Vol. 127, N 3–5. – P. 204–215. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.007>

36. Newbold, R. R. Developmental exposure to endocrine-disrupting chemicals programs for reproductive tract alterations and obesity later in life / R. R. Newbold // Am. J. Clin. Nutrition. – 2011. – Vol. 94, N 6, suppl. – P. 1939S–1942S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.001057>

37. Overweight and metabolic and hormonal parameter disruption are induced in adult male mice by manipulations during lactation period / A. Loizzo [et al.] // Pediatr. Res. – 2006. – Vol. 59, N 1. – P. 111–115. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000190575.12965.ce>

38. Vaiserman, A. Early-life exposure to endocrine disrupting chemicals and later-life health outcomes: an epigenetic bridge? / A. Vaiserman // Aging and Disease. – 2014. – Vol. 5, N 6. – P. 419–429. <https://doi.org/10.14336/ad.2014.0500419>

39. Metabolic effects of vanadyl sulfate in humans with non-insulin-dependent diabetes mellitus: *in vivo* and *in vitro* studies / A. B. Goldfine [et al.] // Metabolism. – 2000. – Vol. 49, N 3. – P. 400–410. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(00\)90418-9](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(00)90418-9)

40. Alternative therapies for diabetes and its cardiac complications: role of vanadium / T. A. Clark [et al.] // Heart Failure Rev. – 2014. – Vol. 19, N 1. – P. 123–132. <https://doi.org/10.1007/s10741-013-9380-0>

41. GdCl<sub>3</sub> reduces hyperglycaemia through Akt/FoxO1-induced suppression of hepatic gluconeogenesis in type 2 diabetic mice / Q. Wang [et al.] // Clin. Sci. – 2014. – Vol. 127, N 2. – P. 91–100. <https://doi.org/10.1042/cs20130670>

42. Alkaladi, A. M. Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats / A. Alkaladi, A. M. Abdelazim, M. Afifi // Int. J. Mol. Sci. – 2014. – Vol. 15, N 2. – P. 2015–2023. <https://doi.org/10.3390/ijms15022015>

43. Cui, W. Vanadium toxicity in the thymic development / W. Cui, H. Guo, H. Cui // Oncotarget. – 2015. – Vol. 6, N 30. – P. 28661–28677. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5798>

44. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH-and LH-linked mechanisms / J. Ballester [et al.] // J. Androl. – 2004. – Vol. 25, N 5. – P. 706–719. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02845.x>

## References

1. Povoroznyuk M. V. Prevalence and main causes of infertility in men. Meditsinskie aspekty zdorov'ya muzhchiny [Medical aspects of male health], 2012, no. 3 (5), pp. 62–73 (in Ukrainian).
2. Punab M., Poolamets O., Paju P., Vihljajev V., Pomm K., Ladva R., Korrovits P., Laan M. Causes of male infertility: a 9-year prospective monocentre study on 1737 patients with reduced total sperm counts. *Human Reproduction*, 2017, vol. 32, no. 1, pp. 18–31. <https://doi.org/10.1093/humrep/dew284>
3. Dickerson S. M., Gore A. C. Estrogenic environmental endocrine-disrupting chemical effects on reproductive neuroendocrine function and dysfunction across the life cycle. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 2007, vol. 8, no. 2, pp. 143–159. <https://doi.org/10.1007/s11154-007-9048-y>
4. Gudeloglu A., Brahmabhatt J. V., Parekattil S. J. Medical management of male infertility in the absence of a specific etiology. *Seminars in Reproductive Medicine*, 2014, vol. 32, no. 4, pp. 313–318. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1375184>
5. Chekman I. S. Physiological and pharmacological properties of nanosized structures. *Fiziologichnii zhurnal* [Physiological journal], 2015, vol. 61, no. 6, pp. 129–138 (in Ukrainian).

6. Taylor U., Barchanski A., Kues W., Barcikowski S., Rath D. Impact of metal nanoparticles on germ cell viability and functionality. *Reproduction in Domestic Animals*, 2012, vol. 47, no. s4, pp. 359–368. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02099.x>
7. Albanese A., Tang P. S., Chan W. C. W. The effect of nanoparticle size, shape, and surface chemistry on biological systems. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 2012, no. 14, pp. 1–16.
8. Li W.-Q., Wang F., Liu Z.-M., Wang Y.-C., Wang J., Sun F. Gold nanoparticles elevate plasma testosterone levels in male mice without affecting fertility. *Small*, 2013, vol. 9, no. 9–10, pp. 1708–1714. <https://doi.org/10.1002/smll.201201079>
9. Kobylak N. M., Falalyeyeva T. M., Kuryk O. G., Beregova T. V., Bodnar P. M., Zholobak N. M., Shcherbakov O. B., Bubnov R. V., Spivak M. Y. Antioxidative effects of cerium dioxide nanoparticles ameliorate age-related male infertility: optimistic results in rats and the review of clinical clues for integrative concept of men health and fertility. *EPMA Journal*, 2015, vol. 6, no. 1, p. 12. <https://doi.org/10.1186/s13167-015-0034-2>
10. Spivak N. Y., Nosenko N. D., Zholobak N. M., Shcherbakov A. B., Reznikov A. G., Ivanova O. S., Ivanov V. K., Tret'yakov Yu. D. Anoxic cerium dioxide increases the functional activity of the reproductive system of aging male rats. *Nanosistemy: fizika, khimiya, matematika = Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*, 2013, vol. 4, no. 1, pp. 72–77 (in Russian).
11. Afifi M., Almaghrabi O. A., Kadasa N. M. Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on antioxidants and sperm characteristics in streptozotocin-induced diabetic rat testes. *BioMed Research International*, 2015, vol. 2015, art. 153573. <https://doi.org/10.1155/2015/153573>
12. Bal R., Türk G., Tuzcu M., Yilmaz O., Ozercan I., Kuloglu T., Gür S., Nedzvetsky V. S., Tykhomyrov A. A., Andrievsky G. V., G. Baydas, Naziroglu M. Protective effects of nanostructures of hydrated C 60 fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats. *Toxicology*, 2011, vol. 282, no. 3, pp. 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.12.003>
13. Karpenko N. A., Malukin Yu. V., Koreneva E. M., Klochkov V. K., Kavok N. S., Smolenko N. P., Pochernyaeva S. S. The effects of chronic intake of nanoparticles of cerium dioxide or gadolinium ortovanadate into aging male rats. *Proceedings of the International conference nanomaterials: applications and properties*. Sumy, 2013, vol. 2, no. 4, p. 04NABM28.
14. Lux F., Sancey L., Bianchi A., Crémillieux Y., Roux S., Tillement O. Gadolinium-based nanoparticles for theranostic MRI-radiosensitization. *Nanomedicine*, 2015, vol. 10, no. 11, pp. 1801–1815. <https://doi.org/10.2217/nmm.15.30>
15. Abdesselem M., Schoeffel M., Maurin I., Ramodiharilafy R., Autret G., Clément O., Tharaux P.-L., Boilot J.-P., Gacoin T., Bouzigues C., Alexandrou A. Multifunctional rare-earth vanadate nanoparticles: luminescent labels, oxidant sensors, and MRI contrast agents. *ACS Nano*, 2014, vol. 8, no. 11, pp. 11126–11137. <https://doi.org/10.1021/nm504170x>
16. Vorob'eva N. M., Fedorova E. V., Baranova N. I. Vanadium: biological role, toxicology and pharmacological application. *Biosfera = Biosphere*, 2013, vol. 5, no. 1, pp. 77–96 (in Russian).
17. Pepato M. T., Khalil N. M., Giocondo M. P., Brunetti I. L. Vanadium and its complexes: the renewed interest in its biochemistry. *Latin American Journal of Pharmacy*, 2008, vol. 27, no. 3, pp. 468–476.
18. Sliwowska J. H., Fergani C., Gawalek M., Skowronska B., Fichna P., Lehman M. N. Insulin: its role in the central control of reproduction. *Physiology and Behavior*, 2014, vol. 133, pp. 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.021>
19. Pitetti J.-L., Calvel P., Zimmermann C., Conne B., Papaioannou M. D., Aubry F., Cederroth Ch. R., Urner F., Fumel B., Crausaz M., Docquier M., Herrera P. L., Pralong F., Germond M., Guillou F., Jégou B., Nef S. An essential role for insulin and IGF1 receptors in regulating sertoli cell proliferation, testis size, and FSH action in mice. *Molecular Endocrinology*, 2013, vol. 27, no. 5, pp. 814–827. <https://doi.org/10.1210/me.2012-1258>
20. Lampiao F., du Plessis S. S. Insulin and leptin enhance human sperm motility, acrosome reaction and nitric oxide production. *Asian Journal of Andrology*, 2008, vol. 10, no. 5, pp. 799–807. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2008.00421.x>
21. Klochkov V. K., Malyshenko A. I., Sedykh O. O., Malyukin Yu. V. Wet-chemical synthesis and characterization of luminescent colloidal nanoparticles: ReVO<sub>4</sub>: Eu<sup>3+</sup>(Re=La, Gd, Y) with rod-like and spindle-like shape. *Functional Materials*, 2011, vol. 18, no. 1, pp. 111–115.
22. Zapadnyuk I. P., Zapadnyuk V. I., Zakhariya E. A., Zapadnyuk B. V. *Laboratory animals. Breeding, content, use in the experiment*. 3rd ed. Kiev, Vishcha shkola Publ., 1983. 384 p. (in Russian).
23. Karpenko N. O., Chystjakova E. Ye., Korenjeva E. M., Velychko N. F. *Method of modeling of neonatal induced male low fertility*. Patent UA, no. u 2014 06302, 2014 (in Ukrainian).
24. Stefanov O. V. (ed.). *Pre-clinical research of medicinal products*. Kiev, Avicena Publ., 2001. 527 p. (in Ukrainian).
25. Karpenko, N. O., Tal'ko V. V., Omel'chuk S. T., Lapta S. S. Integral evaluation of reproductive function of males of laboratory animals. *Ukrain's'kyj biofarmaceutychnyj zhurnal = Ukrainian Biopharmaceutical Journal*, 2011, vol. 13, no. 2, pp. 64–68 (in Ukrainian).
26. Aleinikova T. L., Rubtsova G. V., Pavlova N. A. *A guide to practical studies of biochemistry*. Moscow, Meditsina Publ., 2000. 126 p. (in Russian).
27. Reznikov A. G. *Methods for determining hormones*. Kiev, Naukova dumka Publ., 1980. 400 p. (in Russian).
28. Gladkova A. I. *Andrological manifestations of stress*. Kharkiv, S. A. M Publ., 2013. 268 p. (in Russian).
29. Matthiesson K. L., McLachlan R. I., O'Donnell L., Frydenberg M., Robertson D. M., Stanton P. G., Meachem S. J. The relative roles of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in maintaining spermatogonial maturation and spermiation in normal men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2006, vol. 91, no. 10, pp. 3962–3969. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1145>
30. Wisniewski A. B., Klein S. L., Lakshmanan Y., Gearhart J. P. Exposure to genistein during gestation and lactation demasculinizes the reproductive system in rats. *Journal of Urology*, 2003, vol. 169, no. 4, pp. 1582–1586. <https://doi.org/10.1097/01.ju.0000046780.23389.e0>
31. Henry L. A., Witt D. M. Effects of neonatal resveratrol exposure on adult male and female reproductive physiology and behavior. *Developmental Neuroscience*, 2006, vol. 28, no. 3, pp. 186–195. <https://doi.org/10.1159/000091916>

32. Raineki C., Lucion A. B., Weinberg J. Neonatal handling: an overview of the positive and negative effects. *Developmental Psychobiology*, 2014, vol. 56, no. 8, pp. 1613–1625. <https://doi.org/10.1002/dev.21241>
33. Toufexis D., Rivarola M. A., Lara H., Viau V. Stress and the reproductive axis. *Journal of Neuroendocrinology*, 2014, vol. 26, no. 9, pp. 573–586. <https://doi.org/10.1111/jne.12179>
34. Novikova E. G., Lutov Yu. V., Selyatitskaya V. G. Erectile dysfunction association with hypogonadism and metabolic syndrome among men of various age groups. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*, 2012, vol. 25, no. 4, pp. 685–690 (in Russian).
35. Schug T. T., Janesick A., Blumberg B., Heindel J. J. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2011, vol. 127, no. 3–5, pp. 204–215. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.007>
36. Newbold R. R. Developmental exposure to endocrine-disrupting chemicals programs for reproductive tract alterations and obesity later in life. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2011, vol. 94, no. 6, suppl., pp. 1939S–1942S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.001057>
37. Loizzo A., Loizzo S., Galiotta G., Caiola S., Spampinato S., Campana G., Seghieri G., Ghirlanda G., Franconi F. Overweight and metabolic and hormonal parameter disruption are induced in adult male mice by manipulations during lactation period. *Pediatric Research*, 2006, vol. 59, no. 1, pp. 111–115. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000190575.12965.ce>
38. Vaiserman A. Early-life exposure to endocrine disrupting chemicals and later-life health outcomes: an epigenetic bridge? *Aging and Disease*, 2014, vol. 5, no. 6, pp. 419–429. <https://doi.org/10.14336/ad.2014.0500419>
39. Goldfine A. B., Patti M.-E., Zuberi L., Goldstein B. J., LeBlanc R., Landaker E. J., Jiang Z. Y., Willsky G. R., Kahn C. R. Metabolic effects of vanadyl sulfate in humans with non-insulin-dependent diabetes mellitus: *in vivo* and *in vitro* studies. *Metabolism*, 2000, vol. 49, no. 3, pp. 400–410. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(00\)90418-9](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(00)90418-9)
40. Clark T. A., Deniset J. F., Heyliger C. E., Pierce G. N. Alternative therapies for diabetes and its cardiac complications: role of vanadium. *Heart Failure Reviews*, 2014, vol. 19, no. 1, pp. 123–132. <https://doi.org/10.1007/s10741-013-9380-0>
41. Wang Q., Wang N., Dong M., Chen F., Li Z., Chen Y. GdCl<sub>3</sub> reduces hyperglycaemia through Akt/FoxO1-induced suppression of hepatic gluconeogenesis in type 2 diabetic mice. *Clinical Science*, 2014, vol. 127, no. 2, pp. 91–100. <https://doi.org/10.1042/cs20130670>
42. Alkaladi A., Abdelazim A. M., Afifi M. Antidiabetic activity of zinc oxide and silver nanoparticles on streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, vol. 15, no. 2, pp. 2015–2023. <https://doi.org/10.3390/ijms15022015>
43. Cui W., Guo H., Cui H. Vanadium toxicity in the thymic development. *Oncotarget*, 2015, vol. 6, no. 30, pp. 28661–28677. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5798>
44. Ballester J., Muñoz M. C., Domínguez J., Rigau T., Guinovart J. J., Rodríguez-Gil J. E. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. *Journal of Andrology*, 2004, vol. 25, no. 5, pp. 706–719. <https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02845.x>

### Інформація об авторах

*Белкина Инна Олеговна* – м.л. науч. сотрудник. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: [inna-bel@mail.ru](mailto:inna-bel@mail.ru)

*Карпенко Нина Алексеевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, заведующий лабораторией. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: [nina.a.karpenko@gmail.com](mailto:nina.a.karpenko@gmail.com)

*Коренева Евгения Михайловна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: [eugenia\\_koreneva@ukr.net](mailto:eugenia_koreneva@ukr.net)

*Смоленко Наталья Павловна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: [smtaska@ukr.net](mailto:smtaska@ukr.net)

*Чистякова Элина Евгеньевна* – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины (ул. Алчевских, 10, 61002, г. Харьков, Украина). E-mail: [chistelina@i.ua](mailto:chistelina@i.ua)

*Клочков Владимир Кириллович* – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины (пр. Науки, 60, 61072, г. Харьков, Украина)

### Information about the authors

*Inna O. Belkina* – Junior researcher. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: [inna-bel@mail.ru](mailto:inna-bel@mail.ru)

*Nina A. Karpenko* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher, Head of the Laboratory. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: [nina.a.karpenko@gmail.com](mailto:nina.a.karpenko@gmail.com)

*Evgenia M. Koreneva* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: [eugenia\\_koreneva@ukr.net](mailto:eugenia_koreneva@ukr.net)

*Natalia P. Smolenko* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: [smtaska@ukr.net](mailto:smtaska@ukr.net)

*Elina E. Chistyakova* – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine (10, Alchevsky, 61002, Kharkiv, Ukraine). E-mail: [chistelina@i.ua](mailto:chistelina@i.ua)

*Vladimir K. Klochkov* – Ph. D. (Chem.), Senior researcher. Institute for Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine (60, Nauky Ave, 61072, Kharkiv, Ukraine)