

**ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**КОШЕВОЙ ВСЕВОЛОД ІГОРОВИЧ**

УДК 636.4.082.4:577.175.6:576.372

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**ЗНИЖЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ЗДАТНОСТІ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ**  
**ЗА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ТА МЕТОДИ ЇЇ КОРЕКЦІЇ**

Галузь знань – 21 «Ветеринарна медицина»

Спеціальність – 211 «Ветеринарна медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання  
на відповідне джерело



В. І. Кошевой

Науковий керівник – **Науменко Світлана Валеріївна,**  
доктор ветеринарних наук, професор

Харків – 2023

## АНОТАЦІЯ

*Кошевой В.І.* **Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина» – Державний біотехнологічний університет, МОН України, – Харків, 2023.

Дисертаційну роботу присвячено науково-експериментальному обґрунтуванню патогенетичних механізмів зниження репродуктивної здатності кнурів і розробленню способу її корекції редокс-активними наночастинками. На основі біохімічних й аналітико-статистичних досліджень показано наявність гормонально-метаболічних змін за зниження показників якості сперми самців, досліджено вплив гідрозолу наночастинок гадолінію ортованадату на гермінативно-ендокринну функцію гонад, зокрема, якісні показники еякулятів і гормональний фон, зміни у балансі прооксидантно-антиоксидантної системи та проведено оцінку порівняльно-економічної ефективності запропонованого способу корекції неплідності кнурів.

Кваліфікаційна наукова праця є частиною ініціативної теми з державною реєстрацією кафедри ветеринарної репродуктології Харківської державної зооветеринарної академії (з 01.09.2021 р. – кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету) «Розроблення та впровадження інноваційних методів та рішень з використанням інформаційно-технічних приладів у ветеринарній репродуктології» (термін виконання 2015-2025 рр., номер державної реєстрації 0114U005415).

Експериментальні дослідження виконані у чотирьох послідовних серіях дослідів: у першій серії встановлювали стан прооксидантно-антиоксидантної

системи кнурів з різними показниками якості сперми (нормативними й зниженими), у другій – визначили вплив наночастинок гадолінію ортованадату на репродуктивну функцію лабораторних тварин (кролів) за третбутилгідропероксид-індукованого оксидативного стресу, що дозволило обґрунтувати розроблення новітнього способу корекції неплідності, апробування якого на кнурах зі зниженою репродуктивною здатністю здійснили у третій серії дослідів, а у четвертій – порівняли ефективність застосування наночастинок з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд» й визначили економічну доцільність розробленого способу корекції.

Зниження репродуктивної здатності кнурів супроводжувалося збільшенням інтенсивності процесів ліпопероксидації – за зменшення об'єму еякуляту на 14,4 % ( $P < 0,001$ ), концентрації сперміїв на 10,5 % ( $P < 0,01$ ), рухливості на 42,9 % ( $P < 0,001$ ) та за підвищення вмісту сперміїв із морфологічними аномаліями на 21 % ( $P < 0,01$ ) встановлено зростання вмісту маркерів оксидативного стресу: тіобарбітурат-активних продуктів на 90,1 % ( $P < 0,001$ ), дієнових кон'югатів – на 19,2 % ( $P < 0,001$ ) і стабільних метаболітів циклу NO – на 88,3 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з самцями з повноцінними еякулятами.

Стан антиоксидантної захисної системи у кнурів зі зниженням репродуктивної здатності характеризувався негативними змінами, особливо ензиматичної ланки – активність супероксиддисмутази була меншою на 30,2 % ( $P < 0,01$ ), каталазна активність – на 33,9 % ( $P < 0,001$ ), глутатіонпероксидазна – на 28,4 % ( $P < 0,05$ ), глутатіонредуктазна – на 20,2 % ( $P < 0,05$ ). При цьому, вміст відновленого глутатіону зменшився на 13,3 % ( $P < 0,001$ ), а вітамінів А, Е і С – на 29,2 % ( $P < 0,001$ ), 27,6 % ( $P < 0,001$ ) і 28,1 % ( $P < 0,001$ ) відповідно.

За оксидативного стресу у кнурів відмічено дисбаланс гормонального фону – відбувалося зменшення рівня загального тестостерону на 45 % ( $P < 0,001$ ) за збільшення рівня  $17\beta$ -естрадіолу на 45,1 % ( $P < 0,001$ ) і кількості

тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну на 33,1 % ( $P < 0,001$ ), що призвело до значного зменшення андрогенної насиченості організму самців – індекс вільних андрогенів дорівнював 19,9 %.

Експериментальним дослідженням на лабораторних тварин – статевозрілих кролях доведено ефективність використання наночастинок ортованадатів рідкісноземельних елементів, зокрема Гадолінію, зерноподібної форми, розміром  $8 \times 25$  нм, у вигляді гідрозолу для корекції репродуктивної здатності на тлі третбутилгідропероксид-індукованого оксидативного стресу. Результати дослідження показали вірогідне зменшення оксидативного навантаження (кількості дієнових конюгатів і тіобарбітурат-активних продуктів на 33,0 % і 27,9 % відповідно,  $P < 0,001$ ), збільшення антиоксидантного потенціалу у сироватці крові кролів (особливо глутатіонової ланки – глутатіонпероксидазна і глутатіонредуктазна активності зросли на 56,8 % і 32,6 % відповідно,  $P < 0,001$ , а вміст відновленого глутатіону був вищим на 66,7 %,  $P < 0,001$ ). Відновлення прооксидантно-антиоксидантного балансу сприяло нормалізації гермінативно-ендокринної функції гонад, так, об'єм еякуляту збільшувався на 34,0 % ( $P < 0,001$ ), кількість живих і рухливих сперміїв зростали на 18,8 % і 13,2 % відповідно ( $P < 0,001$ ), концентрація статевих клітин була вищою на 4,7 % ( $P < 0,001$ ), а вміст морфологічно аномальних сперміїв навпаки знижувався на 25,6 % ( $P < 0,05$ ). На підставі отриманих результатів було розроблено спосіб корекції неплідності кнурів.

Застосування наночастинок гадолінію ортованадату активованих Європієм як корегувального засобу за неплідності кнурів виявило значний клініко-біохімічний ефект. Так, після введення гідрозолу наночастинок спостерігали позитивну динаміку вмісту маркерів оксидативного стресу у організмі кнурів – на 15-ту добу дослідження мала тенденцію до зниження кількості дієнових кон'югатів, а концентрація тіобарбітурат-активних продуктів була достовірно меншою на 24,7 % ( $P < 0,05$ ), тоді як вміст стабільних метаболітів циклу NO був меншим на 25,2 % ( $P < 0,001$ ).

На 30-ту добу експерименту нами встановлено відновлення прооксидантного балансу: концентрацію дієнових кон'югатів була зменшено на 9,4 % ( $P < 0,05$ ), а вміст тіобарбітурат-активних продуктів на 48,2 % ( $P < 0,001$ ), кількість стабільних метаболітів циклу NO була меншою на 42,6 % ( $P < 0,001$ ) показників до введення, що свідчить про наявність пролонгованого ефекту введення наночастинок.

Отримані зміни сприяли покращенню показників якості сперми, балансу статевих гормонів і позитивній динаміці компонентів антиоксидантної захисної системи. Оцінюючи ефективність розробленого способу корекції відзначено, що на 90-ту добу дослідження показники якості еякулятів майже досягали значень самців групи контролю: показники рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті, що особливо уразливі до дії оксидативного стресу, достовірно підвищувалися на 95,2 % ( $P < 0,001$ ) та в 1,48 рази ( $P < 0,001$ ) відповідно, тоді як об'єм еякуляту зростав на 15,1 % ( $P < 0,001$ ), а концентрація сперміїв була вищою на 11,8 % ( $P < 0,01$ ), при цьому вміст сперміїв з морфологічними аномаліями було зменшено на 18,3 % ( $P < 0,01$ ).

Введення гідрозолу наночастинок гадолінію ортованадату сприяло нормалізації гормонального фону кнурів дослідної групи – на 30-ту добу експерименту рівень загального тестостерону збільшувався на 77,4 % ( $P < 0,001$ ), тоді як рівень  $17\beta$ -естрадіолу і вмісту тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну навпаки характеризувалися достовірним зменшенням на 25,0 % ( $P < 0,01$ ) і 26,8 % ( $P < 0,001$ ) відповідно, при цьому індекс вільних андрогенів становив 43,2 % що доводило відновлення гормонального балансу до значень тварин з повноцінною репродуктивною здатністю.

Позитивну динаміку змін за впливу корегувального засобу відмічено у стані антиоксидантної захисної системи, особливо тіол-дисульфідної ланки, так, вміст відновленого глутатіону на 30-ту добу експерименту був вищим на 23,1 % ( $P < 0,01$ ), активність глутатіонпероксидази була вищою на 51,4 %

( $P < 0,001$ ), а глутатіонредуктазна зростала на 36,6 % ( $P < 0,001$ ), що перевищувало дані контролю, у той же час каталазна й супероксиддисмутазна активність були вищими на 49,5 % ( $P < 0,001$ ) і 32,6 % ( $P < 0,01$ ) відповідно, при цьому впливу наночастинок на показники вітамінного обміну відзначено не було.

Порівняльною оцінкою ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд» показано наявність комплексного позитивного впливу обох засобів на андрогенний сперматогенез у кнурів, що характеризувався різноспрямованістю дії – так, введення наночастинок сприяє переважному збільшенню рухливості сперміїв (на 35,5 %,  $P < 0,01$ ) і їх концентрації (на 8,3 %,  $P < 0,01$ ), тоді як використання препарату «Карафанд» покращує об'єм еякуляту (на 23,1 %,  $P < 0,001$ ) і зменшує вміст сперміїв із морфологічними аномаліями (на 48,9 %,  $P < 0,001$ ), варто зазначити, що застосування наночастинок було економічно доцільним – від кнура було додатково отримано від 1 до 3 доз сперми, що склало 3,0-9,0 тис. грн. прибутку, а від однієї свиноматки додатково отримано 3,4 поросяти.

**Наукова новизна** одержаних результатів полягає в обґрунтуванні ефективності застосування наночастинок оксидів рідкісноземельних елементів, зокрема, гадолінію ортованадату, з вираженими антиоксидантними властивостями за зниження репродуктивної здатності кнурів на основі комплексних досліджень його біохімічних механізмів та отриманні нових наукових даних щодо балансу процесів пероксидації та антиоксидантного захисту їх організму.

Показано значне збільшення кількості маркерів оксидативного стресу у тварин зі зниженням репродуктивної здатності, зокрема, уперше визначено вміст стабільних метаболітів циклу Нітрогену оксиду. Отримано нові наукові дані щодо активності антиоксидантної захисної системи у кнурів з низькою якістю сперми. Уперше встановлено вміст тестостерон-естрадіолзв'язуючого

глобуліну у сироватці крові кнурів, завдяки чому досліджено андрогенну насиченість організму кнурів, зокрема, визначено індекс вільних андрогенів.

Уперше показано ефективність використання наночастинок гадолінію ортованадату для корекції репродуктивної здатності кнурів. Доведено їх позитивний вплив на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантний статус сироватки крові кнурів. Встановлено покращення динаміки показників якості сперми і гормонального фону плідників.

**Практична значимість** одержаних результатів підтверджена апробацією розробленого способу корекції неплідності кнурів. Результати досліджень увійшли до методичних рекомендацій «Спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату» (затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету МОН України, протокол № 2 від 05 вересня 2022 р. та Вченою радою Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, протокол № 5 від 21 червня 2022 р.), що апробовано у господарствах Дніпропетровської області і рекомендовано до застосування.

Основні результати дисертації впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу на кафедрах закладів вищої освіти України: акушерства, гінекології і біотехнології відтворення тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України; акушерства і хірургії Сумського національного аграрного університету; хірургії і акушерства сільськогосподарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету; ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету, а також у науково-дослідній роботі відділу наноструктурних матеріалів імені Ю. В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів Національної академії наук України.

**Ключові слова:** свині, кнури, якість сперми, оксидативний стрес, неплідність, наночастинки, антиоксиданти, статеві гормони.

## ANNOTATION

*Koshevoy V.I.* **Reduction of reproductive capacity of boar-sires under oxidative stress and methods of its correction.** – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 21 "Veterinary medicine" in the specialty 211 "Veterinary medicine" – State Biotechnological University, Ministry of Education and Science of Ukraine, – Kharkiv, 2023.

Dissertation is devoted to the scientific and experimental substantiation of pathogenetic mechanisms of reducing the reproductive capacity in boars and the development of a method of its correction of redox-active nanoparticles. Based on biochemical and analytical and statistical studies, the presence of hormone and metabolic changes in the decrease in the quality of sperm of males, the effect of gadolinium orthovanadate nanoparticles hydrosol on the germinative-endocrine function of testes, hormone balance, prooxidant/antioxidant balance and comparative and economic efficiency of the proposed method of correction of boar infertility is evaluated.

Qualification scientific work is part of the initiative topic with the state registration of the Department of Veterinary Reproductology of Kharkiv State Zooveterinary Academy (from 01.09.2021 – Department of Veterinary Surgery and Reproductology of State Biotechnological University) “Development and implementation of innovative methods and solutions using information and technical devices in veterinary reproductive medicine”(term of execution 2015-2025, state registration number 0114U005415).

Experimental studies were carried out in four consecutive series of experiments: in the first series, the state of the prooxidant-antioxidant system of boars with different indicators of sperm quality (normal and reduced) was determined, in the second – the influence of nanoparticles of gadolinium



orthovanadate on the reproductive function of laboratory animals (rabbits) was determined under tert-butylhydroperoxide-induced oxidative stress, which made it possible to substantiate the development of the newest method of infertility correction, which was tested on boars with reduced reproductive capacity in the third series of experiments, and in the fourth – the effectiveness of the use of nanoparticles was compared with the vitamin-hormonal preparation “Karafand” and the economic feasibility of the developed correction method was determined.

The decrease in reproductive capacity of boars was accompanied by an increase in the intensity of the processes of lipoperoxidation – with a decrease in the volume of ejaculate by 14,4 % ( $P < 0,001$ ), the concentrations of sperm by 10,5 % ( $P < 0,01$ ), mobility by 42,9 % ( $P < 0,001$ ) and for increasing the content of sperm with morphological anomalies by 21,0 % ( $P < 0,01$ ) an increase in the content of markers of oxidative stress: thiobarbituric acid reactive compounds by 90,1 % ( $P < 0,001$ ), diene conjugates by 19,2 % ( $P < 0,001$ ) and stable metabolites of Nitric oxide by 88,3 % ( $P < 0,001$ ) compared to males with full-fledged ejaculate.

The state of antioxidant defence system in boars with a decrease in reproductive capacity was characterized by negative changes, especially enzymatic links – superoxidedismutase activity was less than 30,2 % ( $P < 0,01$ ), catalase activity by 33,9 % ( $P < 0,001$ ), glutathione peroxidase by 28,4 % ( $P < 0,05$ ), glutathione reductase by 20,2 % ( $P < 0,05$ ). At the same time, reduced glutathione content decreased by 13,3 % ( $P < 0,001$ ), and vitamins A, E and C by 29,2 % ( $P < 0,001$ ), 27,6 % ( $P < 0,001$ ) and 28,1 % ( $P < 0,001$ ) respectively.

In the boars under oxidative stress an imbalance of hormonal background was noted – there was a decrease in total testosterone by 45 % ( $P < 0,001$ ) with an increase in  $17\beta$ -estradiol by 45,1 % ( $P < 0,001$ ) and the amount of testosterone-estradiolbinding globulin by 33,1 % ( $P < 0,001$ ), which led to a significant decrease in the androgen saturation of the male body – the free androgens index was 19.9 %.

Experimental research on laboratory animals – sexually mature rabbits proved the effectiveness of using orthovanadate nanoparticles of rare earth

elements, in particular Gadolinium, grain-like shape, size  $8 \times 25$  nm, in the form of a hydrosol for correction of reproductive capacity against the background of tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress. The results of the study showed a probable decrease in the oxidative load (the amount of diene conjugates and thiobarbiturate-active products by 33,0 % and 27,9 %, respectively,  $P < 0,001$ ), an increase in the antioxidant potential in the blood serum of rabbits (especially the glutathione link – glutathione peroxidase and glutathione reductase activity increased by 56,8 % and 32,6 %, respectively,  $P < 0,001$ , and the content of reduced glutathione was higher by 66,7 %,  $P < 0,001$ ). Restoring the prooxidant-antioxidant balance contributed to the normalization of the germinal-endocrine function of the gonads, thus, the volume of ejaculate increased by 34,0 % ( $P < 0,001$ ), the number of live and motile sperm increased by 18,8 % and 13,2 %, respectively ( $P < 0,001$ ), the concentration of germ cells was higher by 4,7 % ( $P < 0,001$ ), and the content of morphologically abnormal sperm, on the contrary, decreased by 25,6 % ( $P < 0,05$ ). Based on the obtained results, a method of correction of infertility in boars was developed.

The use of nanoparticles of gadolinium orthovanadate activated with Europium as a corrective agent for infertility in boars revealed a significant clinical and biochemical effect. Thus, after the introduction of nanoparticle hydrosol, positive dynamics of the content of markers of oxidative stress in the body of wild boars were observed – on the 15<sup>th</sup> day the study had a decrease in the number of diene conjugates, and the concentration of thiobarbituric acid reactive compounds was probably less by 24,7 % ( $P < 0,05$ ), while stable metabolites of Nitric oxide content was less than 25,2 % ( $P < 0,001$ ).

On the 30<sup>th</sup> day of the experiment, we set the renewal of prooxidant balance: the diene conjugates concentration was reduced by 9,4 % ( $P < 0,05$ ), and the content of thiobarbituric acid reactive compounds by 48,2 % ( $P < 0,001$ ), the number of stable metabolites of Nitric oxide was less than 42,6 % ( $P < 0,001$ ) for administration, which indicates the prolonged effect of the introduction of the nanoparticles.

The obtained changes contributed to the improvement of sperm quality indicators, the balance of sex hormones and the positive dynamics of the components of the antioxidant defense system. Evaluating the effectiveness of the developed method of correction, it was noted that at the 90<sup>th</sup> day of the study, the quality of ejaculates almost reached the values of males of the control group: indicators of motility of sperm and the number of mobile sperm in ejaculate, which is particularly vulnerable to oxidative stress, probably increased by 95,2 % ( $P < 0,001$ ) and 1,48 times ( $P < 0,001$ ), whereas the volume of ejaculate increased by 15,1 % ( $P < 0,001$ ), and the concentration of sperm was higher by 11,8 % ( $P < 0,01$ ), while the content of sperm with morphological anomalies was reduced by 18,3 % ( $P < 0,01$ ).

The introduction of hydrosol of gadolinium orthovanadate nanoparticles normalization of hormonal background of boars of experimental group – at the 30<sup>th</sup> day of the experiment, the level of total testosterone increased by 77,4 % ( $P < 0,001$ ), while the level of  $17\beta$ -estradiol and the content of testosterone-estradiolbinding globulin were characterized by a significant decrease in a demand 25,0 % ( $P < 0,01$ ) and 26,8 % ( $P < 0,001$ ), respectively, with Iva was 43.2 %, which led to the restoration of hormonal balance to the values of animals with full reproductive capacity.

The positive dynamics of changes in the effects of a correction agent was observed in a state of antioxidant defence system, especially the thiol-disulfide link, so the reduced glutathione content by the 30<sup>th</sup> day of the experiment was higher by 23,1 % ( $P < 0,01$ ), glutathione peroxidase activity was higher by 51,4 % ( $P < 0,001$ ), and glutathione reductase increased by 36,6 % ( $P < 0,001$ ), which exceeded control data, at the same time catalase and superoxidedismutase activity were higher by 49,5 % ( $P < 0,001$ ) and 32,6 % ( $P < 0,01$ ), respectively, while the impact of the nanoparticles on vitamin metabolism was not noted.

The comparative evaluation of the use of gadolinium orthovanadate nanoparticles with vitamin-hormonal drug “Karafand” shows the presence of a complex positive effect of both agents on andro- and spermatogenesis

in boars, which was characterized, так, введення наночастинок сприяє переважному збільшенню рухливості сперміїв (на 35,5 %,  $P < 0,01$ ) and their concentrations (by 8,3 %,  $P < 0,01$ ), while the use of the drug "Karafand" improves the volume of ejaculate (by 23,1 %,  $P < 0,001$ ) and reduces content sperm with morphological abnormalities (by 48,9 %,  $P < 0,001$ ), it should be noted that the use of nanoparticles was economically advisable – from the boar was additionally obtained from 1 to 3 doses of semen, which amounted to 3,0-9,0 thousand profit, and 3,4 piglets were extra from one sow.

**The scientific novelty** of the obtained results is to substantiate the effectiveness of the use of nanoparticles of rare-earth elements, in particular, gadolinium orthovanadate, with pronounced antioxidant properties with reducing the reproductive capacity of boars on the basis of complex studies of its biochemical mechanisms and obtaining new scientific data on the balance of peroxidation processes and antioxidant protection of their body.

There is a significant increase in the number of oxidative stress markers in animals with a decrease in reproductive capacity, in particular, the first determined content of stable metabolites of the Nitrogen oxide cycle. New scientific data on the activity of the antioxidant defence system in boars with low sperm quality. For the first time, the content of testosterone-estradiolbinding globulin in the serum of boars, which investigated the androgen saturation of the boar body, in particular, the free androgen index was determined.

For the first time, the efficiency of use of gadolinium orthovanadate nanoparticles is shown to correct the reproductive capacity of boars. Their positive effect on the intensity of the processes of the lipid peroxidation and the antioxidant status of the serum of boars. Improve the dynamics of sperm quality and hormonal background of the fruit. A comparative evaluation of the effectiveness of the use of nanoparticles with a vitamin-hormonal drug was carried out and the economic efficiency of the developed method of correction was determined.

**The practical significance** of the obtained results is confirmed by the approbation of the developed method of correction of infertility in boars. The

research results were included in the methodological recommendations "Method of correcting the reproductive capacity of boars with nanoparticles of gadolinium orthovanadate" (approved by the Academic Council of the Faculty of Veterinary Medicine of the State Biotechnological University of the Ministry of Education and Culture of Ukraine, protocol No. 2 dated September 5, 2022 and the Academic Council of the Institute of Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine, protocol No. 5 dated June 21, 2022), which has been tested in the farms of the Dnipropetrovsk region and is recommended for use.

The main results of the dissertation were implemented in the educational process and research work at the departments of higher education institutions of Ukraine: obstetrics, gynecology and animal reproduction biotechnology of the National University of Bioresources and Nature Management of Ukraine; obstetrics and surgery of the Sumy National Agrarian University; surgery and obstetrics of agricultural animals of the Dnipro State Agrarian and Economic University; of veterinary surgery and reproduction of the State University of Biotechnology, as well as in the research work of the Department of Nanostructured Materials named after Yu. V. Malyukin, Institute of Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine.

**Keywords:** pigs, boars, sperm quality, oxidative stress, infertility, nanoparticles, antioxidants, sex hormones.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

*Наукові праці, які відображають основні наукові результати дисертації:*

**Статті у наукових виданнях,  
включених до наукометричної бази даних Scopus:**

1. **Koshevoy V.**, Naumenko S., Skliarov P., Fedorenko S., Kostyshyn L. (2021). Male infertility: Pathogenetic significance of oxidative stress and antioxidant defence (review). *Scientific Horizons*, 24(6), 107–116. [https://doi.org/10.48077/scihor.24\(6\).2021.107-116](https://doi.org/10.48077/scihor.24(6).2021.107-116) (Дисертант проаналізував і узагальнив дані сучасних літературних джерел зі з'ясування значення оксидативного стресу у репродуктивній здатності самців і підготував статтю до друку).
2. Skliarov P., Fedorenko S., Naumenko S., **Koshevoy V.**, Pelyh K. (2021). The development of phyto- and tissue origin medicines for veterinary reproductive issues. *Scientific Horizons*, 24(8), 15–25. [https://doi.org/10.48077/scihor.24\(8\).2021.15-25](https://doi.org/10.48077/scihor.24(8).2021.15-25) (Здобувачем проведено експериментальні дослідження ефективності корекції репродуктивної здатності кнурів вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд», проаналізовано одержані результати, підготовлено роботу до друку).
3. **Koshevoy V.**, Naumenko S., Skliarov P., Syniahovska K., Vikulina G., Klochkov V., Yefimova S. (2022). Effect of gadolinium orthovanadate nanoparticles on male rabbits' reproductive performance under oxidative stress. *World's Veterinary Journal*, 12(3), 296–303. <https://doi.org/10.54203/scil.2022.wvj37> (Дисертантом виконано експериментальні дослідження з визначення впливу застосування наночастинок гадолінію ортованадату на репродуктивну функцію кролів за оксидативного стресу, проаналізовано одержані результати, підготовлено роботу до друку).

**Статті у наукових фахових виданнях України,  
включених до міжнародних наукометричних баз даних:**

4. **Koshevoy V. I., Naumenko S. V.** (2020). The impact of oxidative stress in reducing the reproductive capacity of the boar-inseminators. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 5, 246–249. <https://doi.org/10.31890/vttp.2020.05.43> (Здобувач організував і провів дослідження, обробив і узагальнив одержані результати, підготував роботу до друку).
5. **Koshevoy V. I., Naumenko S. V.** (2020). The activity of the antioxidant protection enzymatic system of boars with a decrease in their reproductive capacity under oxidative stress. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(3), 194–197. <https://doi.org/10.32819/2020.8302> (Дисертантом проведено експериментальні дослідження, проаналізовано їх результати і підготовлено статтю до друку).
6. **Koshevoy V. I., Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L.** (2021). The use of gadolinium orthovanadate nanoparticles for the correction of reproductive ability in boars under oxidative stress. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 12(2), 74–82. <https://doi.org/10.31548/ujvs.2021.02.008> (Здобувачем розроблено методіку корекції, проведено дослідження, узагальнено результати і підготовлено роботу до друку).
7. **Koshevoy V. I., Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L.** (2021). The peculiarities of hormonal background in boars under correction of reproductive capacity by gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(104), 66–70. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10411> (Дисертантом проведено дослідження гормонального фону кнурів, оброблено одержані результати і підготовлено статтю до друку).

**Наукові праці у виданнях держав Європейського союзу:**

**Стаття у періодичному науковому виданні (Польща):**

8. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L. (2021). Antioxidant status of blood serum in boars under correction of reproductive ability by gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Colloquium Journal*, 35(122), 5–9. <https://doi.org/10.24412/2520-6990-2021-35122-5-9> (Дисертантом виконано експериментальні дослідження, узагальнено одержані результати і підготовлено статтю до друку).

**Розділ колективної монографії (Словаччина):**

9. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L. The use of nanoparticles based on rare-earth elements oxides for the correction of reproductive ability in boars. *Modern medicine and pharmacology: innovations and prospects of development after the beginning of the RF war with Ukraine: collective monograph*. Bratislava, Slovakia, 2022. P. 26–46. ISBN 978-80-974150-9-9. (Здобувачем розроблено методику корекції, проведено дослідження, узагальнено результати і підготовлено роботу до друку).

**Науково-методичні рекомендації:**

10. **Кошевой В.И.**, Науменко С.В., Клочков В.К., Єфімова С.Л., Склярів П.М. Спосіб корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату (науково-методичні рекомендації, затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету, протокол № 2 від 05 вересня 2022 р. та Вченою радою Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, протокол № 5 від 21 червня 2022 р.). Харків, 2022. 32 с. (Дисертантом проведено експериментальні дослідження й зібрано літературу за напрямом експерименту, проаналізовано їх результати і підготовлено рекомендації до друку).



**Наукові праці, які відображають апробацію результатів дисертації:**

11. Koshevoy V. I. The state of nonenzymatic system of antioxidant protection in boar-inseminators with decreased reproductive capacity under the influence of oxidative stress. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин: щорічна наук.-практ. конф. мол. вчених* (м. Київ, 9 лип. 2020 р.). Київ, 2020. С. 16.
12. **Кошевой В. І.**, Науменко С. В. Патогенетичне значення оксидативного стресу у зниженні репродуктивної здатності кнурів-плідників. *Topical aspects of modern science and practice: abstracts of I International Scientific and Practical Conference* (Frankfurt am Main, Germany, September 21-24, 2020). Frankfurt am Main, 2020. P. 399–402. (Здобувач виконав біохімічні дослідження, проаналізував одержані результати й підготував тези до друку).
13. Koshevoy V. I. Dynamics of the content of oxidative stress markers in boars during correction of reproductive ability reduction using gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини: ХІХ Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Яновича В. Г.* (м. Львів, 3–4 грудня 2020 р.). *Біологія тварин*, 2020, 22(4), С. 70.
14. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V. Oxidative stress and male infertility: the activity of the antioxidant protection enzymatic system. *Today`s problems in medicine, pharmacy and dentistry: abstracts of international scientific and practical conference* (Arad, Romania, December 17–18, 2020). Arad, 2020. P. 90–94. (Дисертант провів і узагальнив результати біохімічних досліджень, підготував тези до друку).
15. **Кошевой В. І.**, Науменко С. В., Клочков В. К., Єфімова С. Л. Вплив наночастинок гадолінію ортованадату на гермінативну функцію сім'яників кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу. *Актуальні проблеми незаразної патології тварин: матеріали Всеукраїнської*

науково-практичної Інтернет-конференції (м. Полтава, 22 квітня 2021 р.). Полтава, 2021. С. 39–42. (*Здобувачем виконано експериментальні дослідження, узагальнено їх результати і підготовлено тези до друку*).

16. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V., Skliarov P. M. The activity of the glutathione link of antioxidant protection of boars with a decrease in reproductive capacity under oxidative stress. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин: матеріали щорічної науково-практичної конференції молодих вчених* (м. Київ, 30 червня 2021 р.). Київ, 2021. С. 16. (*Дисертантом проведено дослідження, оброблено і проаналізовано результати, підготовлено тези до друку*).

17. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V. The assessment of hormonal background in boars with decreased reproductive ability under oxidative stress. *Modern methods of diagnostic, treatment and prevention in veterinary medicine: II conference dedicated to the 140<sup>th</sup> anniversary of the opening of the educational institution “Kaiser-Royal Veterinary School of Horseshoeing together with an Inpatient Clinic for animals in Lviv”* (Lviv, November 18–19, 2021). Lviv, 2022. P. 186–187. (*Здобувачем виконано дослідження, узагальнено їх результати і підготовлено тези до друку*).

18. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В. Порівняльна ефективність засобів корекції неплідності кнурів. *XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених*, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, члена-кореспондента НААН, Заслуженого діяча науки і техніки України, професора Макара І. А. (м. Львів, 19 травня 2022 р.). *Біологія тварин*, 2022, 24(2), С. 43. (*Дисертантом проведено дослідження, оброблено і проаналізовано результати, підготовлено тези до друку*).

19. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В. Динаміка антиоксидантного захисту в організмі кнурів за корекції їх репродуктивної здатності наночастинками ванадатів рідкісноземельних елементів. *Ветеринарна медицина: сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та продовольчої безпеки: Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція* (м. Житомир,

9–10 черв. 2022 р.). Житомир, 2022. С.137–140. (*Здобувачем виконано дослідження, узагальнено їх результати і підготовлено тези до друку*).

20. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В. Динаміка гормонального фону за корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату. *A change of the paradigm of modern science after the military invasion of the Russia on the territory of independent Ukraine: international scientific-practical conference* (Bratislava, Slovakia, June 22–23, 2022). Bratislava, 2022. P.127–130. (*Дисертант провів і узагальнив дослідження, підготував тези до друку*).

21. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В., Клочков В.К., Єфімова С.Л. Обґрунтування механізмів дії наночастинок ванадатів рідкісноземельних елементів як коректорів репродуктивної здатності самців. *Єдине здоров'я – 2022: матеріали Міжнародної наукової конференції, присвяченої 100-річчю кафедр факультету ветеринарної медицини НУБіП України* (м. Київ, 22–24 вересня 2022 р.). Київ, 2022. С. 132–133. (*Здобувачем виконано дослідження, узагальнено їх результати і підготовлено тези до друку*).

## ЗМІСТ

<b>АНОТАЦІЯ.....</b>	<b>2</b>
<b>ANNOTATION .....</b>	<b>8</b>
<b>СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА.....</b>	<b>14</b>
<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА СИМВОЛІВ... 23</b>	
<b>ВСТУП.....</b>	<b>24</b>
<b>РОЗДІЛ 1. ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗНИЖЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ЗДАТНОСТІ САМЦІВ І ЗАСОБИ ЇХ КОРЕКЦІЇ. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ. ....</b>	<b>32</b>
1.1 Сучасний погляд на патогенетичне значення оксидативного стресу за неплідності самців: механізми впливу, молекулярно-біохімічні зміни, фактори виникнення .....	34
1.2 Цикл Нітрогену оксиду, його вплив на сперматогенез і якість сперми та роль у концепції патогенезу неплідності самців .....	41
1.3 Значення системи антиоксидантного захисту у репродуктивному потенціалі самців: компоненти і їх класифікація, механізми дії та сучасні маркери оцінки .....	43
1.4 Новітні засоби корекції репродуктивної здатності самців: проблеми пошуку, реалізація впливу й ефективність, поширення наноструктурних засобів.....	48
<i>Висновок з огляду літератури. ....</i>	<i>53</i>
<b>РОЗДІЛ 2. ВИБІР НАПРЯМКІВ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ .....</b>	<b>54</b>
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ .....</b>	<b>64</b>
3.1 Значення оксидативного стресу у розвитку зниження репродуктивної здатності кнурів.....	65
3.1.1 Інтенсивність процесів ліпопероксидації і стан системи циклу Нітрогену оксиду у кнурів зі зниженням репродуктивної здатності .....	66

3.1.2 Стан системи антиоксидантного захисту організму кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу .....	70
3.1.3 Особливості гормонального фону кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу .....	76
<i>Висновок до підрозділу 3.1</i> .....	79
3.2 Розроблення способу корекції зниження репродуктивної здатності самців за оксидативного стресу наночастинками гадолінію ортованадату .....	80
3.2.1 Експериментальне дослідження з визначення впливу наночастинок гадолінію ортованадату на репродуктивну функцію кролів за третбутилгідропероксид-індукованого оксидативного стресу .....	82
3.2.2 Ефективність використання наночастинок гадолінію ортованадату для корекції оксидативного навантаження в організмі кнурів.....	90
3.2.3 Вплив застосування наночастинок гадолінію ортованадату на показники якості сперми кнурів .....	93
3.2.4 Рівні статевих гормонів і андрогенна насиченість організму кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за корекції наночастинками гадолінію ортованадату .....	96
3.2.5 Вплив корекції наночастинками гадолінію ортованадату на антиоксидантний статус сироватки крові кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу .....	99
<i>Висновок до підрозділу 3.2</i> .....	106
3.3 Порівняльна оцінка ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом й оцінка економічної ефективності розробленого способу корекції .....	107
<i>Висновок до підрозділу 3.3</i> .....	115
<b>РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ .....</b>	<b>116</b>
<b>ВИСНОВКИ .....</b>	<b>140</b>
<b>ПРАКТИЧНІ ПРОПОЗИЦІЇ.....</b>	<b>143</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....</b>	<b>144</b>

<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>178</b>
Додаток А. Список опублікованих праць за темою дисертації.....	179
Додаток Б. Відомості про апробацію матеріалів дисертації.....	184
Додаток В. Розділ колективної монографії і методичні рекомендації.....	194
Додаток Г. Акти впровадження результатів дисертаційної роботи в навчальний процес і науково-дослідну роботу.....	199
Додаток Д. Акт впровадження результатів дисертації в господарстві.....	205
Додаток Е. Висновок біоетичної експертизи.....	207

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА СИМВОЛІВ**

- 17- $\beta$ -E – 17- $\beta$ -естрадіол;  
GSH – відновлений глутатіон;  
GSH-Px – глутатіонпероксидаза;  
GSH-Rd – глутатіонредуктаза;  
NO – Нітроген оксид;  
NO<sub>x</sub> – стабільні метаболіти циклу Нітроген оксиду;  
tBHP – третбутилгідропероксид;  
АО – антиоксиданти;  
АОЗ – антиоксидантний захист;  
АФН – активні форми Нітрогену;  
АФО – активні форми Оксигену;  
ВРО – вільнорадикальне окислення;  
ДК – дієнові кон'югати;  
ІВА – індекс вільних андрогенів;  
ЛПО – ліпопероксидація;  
МДА – малоновий діальдегід;  
НЧ – наночастинки;  
ОС – оксидативний стрес;  
ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів;  
РЗ – репродуктивна здатність;  
СОД – супероксиддисмутаза;  
ТБК-АП – тіобарбітурат-активні продукти;  
ТЕЗГ – тестостерон-естрадіолзв'язуючий глобулін;  
Тс<sub>заг.</sub> – тестостерон загальний.

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Репродуктивна здатність (РЗ) є однією з найбільш вразливих функцій організму до дії негативних чинників. У переважній більшості випадків неплідності самців провідним патогенетичним механізмом постає оксидативний стрес (ОС), що являє собою стан, за якого в організмі відбувається інтенсифікація синтезу активних форм Оксигену (АФО), Нітрогену і Сульфуру, накопичення токсичних продуктів пероксидації й відмічається зменшення активності антиоксидантної захисної системи (Bisht et al., 2017; Varik et al., 2019; Otasevic et al., 2020). Відомо, що АФО знижують рівень статевих гормонів і порушують гормональний баланс у організмі самців (Appasamy et al., 2007; Rehman et al., 2020). Реалізація негативного впливу ОС на спермії та інтерстиціальні ендокриноцити відбувається шляхом пошкодження ліпопротеїнів їх мембран, агрегації і фрагментації внутрішньоклітинних та/або ядерних протеїнів, зокрема ДНК, та інгібуванню стероїдогенних ензимів (Wang et al., 2017).

Організм кнурів, їх статева система й сперма вразливі до дії біолого-технологічних факторів (Jezek et al., 2011; Gadella, 2017). Сперма зазнає ушкоджуючої дії при використанні репродуктивних технологій, що проявляється дисбалансом у системі антиоксидантного захисту (АОЗ) (Subramanian et al., 2018). Дослідниками показано вплив пори року і негативну дію теплового стресу на РЗ кнурів (Koziorowska-Gilun et al., 2011; Shostya et al., 2020), проте комплексного дослідження зі з'ясування механізмів неплідності й розробки ефективних засобів її корекції вкрай мало.

Особливу увагу при розробленні засобів, що корегують функції статевої системи приділяють питанням безпечності, в першу чергу, для організму, й зокрема, статевих залоз тварин. Показано позитивний вплив на репродуктивну функцію самців коензиму Q<sub>10</sub> (Gvozdjakova et al., 2013), Селену в комбінації з вітаміном Е (Domaslowska et al., 2018), аміногуанізіну (Pintus et al., 2018) й проліну (Feng et al., 2020), вітаміну А (Skliarov et al.,



2020) та L-карнітину (Yang et al., 2020), мелатоніну (Zhao et al., 2021), корекції мінерального живлення (Карповський В.І. зі спів., 2020) й кормових добавок (Шостя А.М. зі співав., 2021), тощо.

Проте, перераховані засоби, що характеризуються різноспрямованістю дії й сприяють покращенню показників якості сперми і її запліднюючої здатності, мають обмежений потенціал щодо ефективного корегування процесів ліпопероксидації й не мають комплексного антиоксидантного (АО) впливу на організм. Такими властивостями володіють сучасні наноструктурні матеріали, наприклад, наночастинки (НЧ) Цинку оксиду (Goma et al., 2020) або Ауруму (Liu et al., 2020), які сприяють нормалізації сперматогенезу й гормонального фону самців. З іншого боку, НЧ з вираженими антиоксидантними властивостями, зокрема Молібдену (Asadi et al., 2017) й Аргентуму (Olugbodi et al., 2020), виявляють ушкоджуючу дію на морфологію статевих залоз та через це не можуть використовуватися в репродуктологічній практиці.

Перспективними засобами корекції ОС є сучасні наноматеріали з вираженими редоксактивними властивостями, наприклад церію діоксиду та на основі ванадатів рідкісноземельних елементів, зокрема Гадолінію (Koreneva et al., 2016; Yefimova et al., 2019). Дані оксидні нанокристали з іонами змінної валентності завдяки унікальним фізико-хімічним здатностям виявляють антиоксидантні властивості при взаємодії з АФО (Семінько, 2020). Показано ефективне знешкодження токсичних радикалів НЧ ванадатів рідкісноземельних елементів, зокрема гідроксильних і пероксильних радикалів, пероксиду водню. Антиоксидантна активність даних НЧ пояснюється високим вмістом іонів Ванадію у їх структурі та зворотнім перемиканням ступенів окислення (Maksimchuk et al., 2021). Доведено позитивний вплив НЧ гадолінію ортованадату на репродуктивну функцію самців щурів за патологій статевої системи (Belkina et al., 2017; Karpenko et al., 2020) й вікових змін у їх організмі (Nikitchenko et al., 2021).

Отже, актуальним науковим завданням є встановлення значення оксидативного стресу як патогенетичного фактора неплідності кнурів, розроблення способу корекції їх репродуктивної здатності наночастинками гадолінію ортованадату й обґрунтування його ефективності.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є частиною ініціативної теми з державною реєстрацією кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету (ДБТУ) «Розроблення та впровадження інноваційних методів та рішень з використанням інформаційно-технічних приладів у ветеринарній репродуктології» (термін виконання 2015-2025 рр., номер державної реєстрації 0114U005415).

**Мета та завдання дослідження.** *Мета досліджень* – експериментально обґрунтувати спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу НЧ гадолінію ортованадату як засобу патогенетичної терапії.

Досягнення цієї мети зумовило постановку наступних *завдань*:

- встановити вміст маркерів ОС у сироватці крові кнурів за різної повноцінності репродуктивної здатності;
- визначити стан антиоксидантної захисної системи у кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за ОС;
- провести аналіз гормонального фону кнурів зі зниженою відтворною здатністю за ОС та встановити рівень андрогенної насиченості їх організму;
- обґрунтувати вплив застосування НЧ гадолінію ортованадату на статеву функцію й прооксидантно-антиоксидантну систему на лабораторних тваринах;
- встановити ефективність корекції НЧ гадолінію ортованадату інтенсивності процесів ліпопероксидації (ЛПО) у організмі кнурів;

- визначити вплив способу корекції репродуктивної здатності НЧ гадолінію ортованадату на гермінативно-ендокринну функцію сім'яників кнурів;
- визначити вплив способу корекції неплідності кнурів на антиоксидантний статус сироватки крові;
- провести порівняльну оцінку ефективності застосування НЧ гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом й визначити економічну ефективність розробленого способу корекції.

*Об'єкт дослідження* – прояв репродуктивної здатності кнурів за ОС та вплив НЧ гадолінію ортованадату як корегувального засобу.

*Предмет дослідження* – показники якості сперми кнурів, біохімічні показники сироватки крові – маркери ОС, компоненти АОЗ системи, статеві гормони, тощо у тварин зі зниженням РЗ та за корекції НЧ гадолінію ортованадату.

*Методи дослідження* – клінічні (загальний стан організму тварин), андрологічні (оцінка якості сперми, прояви статевих рефлексів), біохімічні (вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), стабільних метаболітів циклу NO, активність АО ензимів, вміст неензиматичних АО і рівні статевих гормонів), статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента та аналізу ANOVA).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше на основі комплексних досліджень біохімічних механізмів зниження репродуктивної здатності кнурів обґрунтовано можливість застосування НЧ оксидів рідкісноземельних елементів з вираженими антиоксидантними властивостями.

Показано значне збільшення кількості маркерів ОС у тварин зі зниженням репродуктивної здатності (тіобарбітурат-активних продуктів (ТБК-АП) на 90,1 % ( $P < 0,001$ ), дієнових кон'югатів (ДК) – на 19,2 % ( $P < 0,001$ ), уперше визначено вміст стабільних метаболітів циклу Нітрогену

оксиду, що був достовірно вищим порівняно з кнурами із повноцінною репродуктивною здатністю (на 88,3 %,  $P < 0,001$ ).

Отримано нові наукові дані щодо активності антиоксидантної захисної системи у кнурів з низькою якістю сперми (зниження активності каталази на 33,9 % ( $P < 0,001$ ), супероксиддисмутази (СОД) – на 30,2 % ( $P < 0,01$ ), глутатіонпероксидази (GSH-Px) – на 28,4 % ( $P < 0,05$ ), глутатіонредуктази (GSH-Rd) – на 20,2 % ( $P < 0,05$ ), вмісту відновеного глутатіону (GSH) – на 13,3 % ( $P < 0,001$ ), вітаміну А – на 29,2 % ( $P < 0,001$ ), вітаміну Е – на 27,6 % ( $P < 0,001$ ), вітаміну С – на 28,1 % ( $P < 0,001$ ).

Уперше встановлено збільшення вмісту тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну (ТЕЗГ) у сироватці крові за зниження репродуктивної здатності (на 33,1 %,  $P < 0,001$ ) та визначено зниження індексу вільних андрогенів (ІВА, до 19,9 %), що свідчило про низьку андрогенну насиченість організму кнурів.

Уперше доведено ефективність використання НЧ гадолінію ортованадату для корекції репродуктивної здатності кнурів. Доведено їх позитивний вплив на інтенсивність процесів ПОЛ (зменшення оксидативного навантаження – вмісту ТБК-АП на 48,2 % ( $P < 0,001$ ), ДК – на 9,4 % ( $P < 0,05$ ),  $\text{NO}_x$  – на 42,6 % ( $P < 0,001$ ) і антиоксидантний статус сироватки крові кнурів (збільшення активності глутатіонової ланки АОЗ – GSH-Px на 51,4 % ( $P < 0,001$ ), GSH-RD – на 36,6 % ( $P < 0,001$ ) і вмісту GSH – на 23,1 % ( $P < 0,01$ ), а також активності каталази на 49,5 % ( $P < 0,001$ ) і СОД – на 32,6 % ( $P < 0,01$ ).

Встановлено покращення динаміки показників якості сперми (збільшення рухливості сперміїв на 95,2 % ( $P < 0,001$ ), кількості рухливих сперміїв – в 1,48 разів ( $P < 0,001$ ) за зменшення вмісту сперміїв із морфологічними аномаліями на 18,3 % ( $P < 0,01$ ) і гормонального фону плідників (зростання рівня загального тестостерону на 77,4 % ( $P < 0,001$ ), зменшення вмісту ТЕЗГ – на 26,8 % ( $P < 0,001$ ); індекс вільних андрогенів дорівнював 43,2 %).

Проведено порівняльну оцінку ефективності застосування НЧ з вітамінно-гормональним препаратом й визначено економічну ефективність розробленого способу корекції.

**Практичне значення одержаних результатів.** За результатами досліджень запропоновано спосіб корекції зниження репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу, заснований на використанні НЧ гадолінію ортованадату за зниження репродуктивної здатності, що призводить до нормалізації еякулятів і нормалізації гормонального фону кнурів.

Результати досліджень увійшли до методичних рекомендацій «Спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату» (затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету МОН України, протокол № 2 від 05 вересня 2022 р. та Вченою радою Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, протокол № 5 від 21 червня 2022 р.), що апробовано у господарствах Дніпропетровської області і рекомендовано до застосування.

Основні результати дисертації впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу на кафедрах закладів вищої освіти України: акушерства, гінекології і біотехнології відтворення тварин Національного університету біоресурсів і природокористування; акушерства і хірургії Сумського національного аграрного університету; хірургії і акушерства сільськогосподарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету; ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету, а також у науково-дослідній роботі відділу наноструктурних матеріалів імені Ю. В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням автора. Здобувачем самостійно підібрано наукову літературу за темою дисертації, опрацьовано первинні дані, проведено

експериментальні, науково-виробничі й лабораторні дослідження, здійснено статистичний аналіз, проаналізовано й узагальнено одержані результати. Планування досліджень, обговорення одержаних результатів, висновки та пропозиції виробництву проведено за методичної допомоги наукового керівника доктора ветеринарних наук, професора С. В. Науменко.

**Апробація результатів дисертаційної роботи.** Основні результати досліджень дисертації доповідались і схвалені на звітних науково-практичних конференціях за підсумками науково-дослідної роботи науковців, науково-педагогічних працівників, аспірантів та студентів Харківської державної зооветеринарної академії (м. Харків, 2020 р., 2021 р.), а також: I міжнародній науково-практичній конференції «Topical aspects of modern science and practice» (Frankfurt am Main, Germany, 2020 р.). XIX всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції молодих вчених «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченій 90-річчю від дня народження професора В. Г. Яновича (м. Львів, 2020 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Today`s problems in medicine, pharmacy and dentistry» (Arad, Romania, 2020 р.); щорічних науково-практичних конференціях молодих учених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (м. Київ, 2020 р., 2021 р.); всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Актуальні проблеми незаразної патології тварин» (м. Полтава, 2021 р.); державній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми внутрішньої патології тварин», присвяченій пам'яті академіка НААН В. І. Левченка (м. Біла Церква, 2021 р.); II конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині», присвяченій 140-річчю відкриття навчального закладу «Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові» (м. Львів, 2021 р.); XX всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції молодих вчених, присвяченій 90-річчю від дня

народження професора І. А. Макара (м. Львів, 2022 р.); всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Ветеринарна медицина: сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та продовольчої безпеки» (м. Житомир, 2022 р.); міжнародній науково-практичній конференції «A change of the paradigm of modern science after the military invasion of the Russia on the territory of independent Ukraine» (Bratislava, Slovakia, 2022 р.); міжнародній науковій конференції «Єдине здоров'я – 2022», присвяченій 100-річчю кафедр факультету ветеринарної медицини НУБіП України (м. Київ, 2022 р.).

**Публікації.** Основні положення дисертаційної роботи викладено у 21 науковій праці, з них 3 статті – у наукових фахових виданнях, включених до наукометричної бази даних Scopus, 4 статті – у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних, 1 стаття – у періодичному науковому виданні країн Європейського союзу (Польща), 1 розділ колективної монографії (Словаччина), 1 науково-методичних рекомендаціях та 11 – у матеріалах і тезах наукових конференцій.

**Структура та обсяг дисертаційної роботи.** Дисертацію викладено на 207 сторінках комп'ютерного тексту, вона містить анотації, вступ, огляд літератури, вибір напрямків, матеріали і методи виконання роботи, результати експериментальних досліджень, їх аналіз і узагальнення, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел та додатки. Дисертаційну роботу проілюстровано 25 рисунками й 18 таблицями. Бібліографія містить 250 джерел, у тому числі – 218 латиницею.

## **РОЗДІЛ 1. ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗНИЖЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ЗДАТНОСТІ САМЦІВ І ЗАСОБИ ЇХ КОРЕКЦІЇ. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.**

Репродуктивна система самців залежить від різноманітних факторів та зазнає багатьох негативних впливів зовнішнього і внутрішнього середовища і, як правило, не здатна, в повній мірі, на адекватну відповідь (Agarwal et al., 2006a; Koshevoy & Naumenko, 2020a).

Провідною ланкою у патогенезі патологій статевої системи самців, що викликають зниження якісних показників сперми прийнято вважати стан оксидативного стресу (ОС) їх організму (Ritchie & Ko, 2020). Оксидативним стресом називають надмірне підвищення процесів пероксидації ліпідів, протеїнів, тощо (збільшення синтезу та/або нагромадження кисневих радикалів) на тлі низької активності антиоксидантного захисту (АОЗ) (Koshevoy et al., 2021).

Вже понад 80 років триває вивчення ролі активних форм Оксигену (АФО) у сперматогенезі, функціонуванні статевих клітин і заплідненні. Так, відомо, що низькі концентрації АФО необхідні для важливих фізіологічних процесів у сперміях, таких як акросомальна реакція і взаємодія сперміїв із ооцитами, натомість високі рівні АФО лежать у основі дисбалансу прооксидантно-антиоксидантної системи, викликаючи ОС, який є одним з найбільш руйнівних факторів, що впливають на функцію сперміїв і знижують репродуктивний потенціал самців тварин і чоловіків (MacLeod, 1943; Griveau & Le Lannou, 1997; Aitken et al., 2007; Aktan et al., 2013; Agarwal et al., 2018; Ribas-Maynou & Yesre, 2020).

Аналогічні дані існують про взаємовідносини високих концентрацій Нітрогену оксиду й метаболітів його циклу, які утворюються при підвищенні синтезу активних форм Нітрогену (АФН), зі станом репродуктивної системи (Doshi et al., 2012). АФО/АФН у організмі можуть виконувати як фізіологічну роль, так і чинити негативний вплив на репродуктивну здатність,



викликаючи стресові стани, такі як ОС і нітрозативний стрес, що супроводжується зниженням кількості рухливих сперміїв, ушкодженням їх мембран і акросомальних ензимів, мітохондріальною дисфункцією статевих клітин. Біохімічний зв'язок оксидативного і нітрозивного стресу є нерозривним і, як правило, ці процеси перебігають у організмі паралельно (Ford, 2004; Williams & Ford, 2005; De Lamirande & O'Flaherty, 2008; Aitken et al., 2012; Doshi et al., 2012; Aitken et al., 2014; Sabeti et al., 2016).

Підвищення вмісту АФО/АФН виявляють в нативно отриманих і епідидимальних сперміях і спермальній плазмі майже половини чоловіків зі зниженими показниками еякулятів, при цьому спостерігають різноваріантну динаміку компонентів АОЗ (Gil-Guzman et al., 2001; Vernet et al., 2004).

Широко застосований в урологічній практиці термін безпліддя чоловіків констатує цілковиту нездатність до запліднення овоцита, натомість, в практиці репродуктивної ендокринології і андрології використовують термін гіпофертильності, тобто, зниження запліднюючої здатності самця, з огляду на можливість ефективної корекції/лікування (Kirakoya et al., 2015; Jandou et al., 2020; Girault et al., 2021).

Для ветеринарної андрології загальноприйнятим є поняття неплідності самців, яка класифікується на різні форми, зокрема, набуту, симптоматичну, виробничу, тощо. На нашу думку, зростання кількості неплідних тварин може бути пов'язане з появою нової форми неплідності, зокрема мультифакторіальної, коли сукупність дії певних негативних чинників поєднується і призводить до порушень процесів сперматогенезу й якісних характеристик еякулятів (Koshevoy et al., 2021). Отже, дослідження даної проблеми не втрачає своєї актуальності, а врахування отриманих результатів є необхідною умовою для розроблення ефективних засобів корекції неплідності самців.

## 1.1 Сучасний погляд на патогенетичне значення оксидативного стресу за неплідності самців: механізми впливу, молекулярно-біохімічні зміни, фактори виникнення

Поняття оксидативного стресу і роль активних форм Оксигену. Результати багаторічних досліджень вчених з усього світу доводять необхідність оцінки балансу прооксидантно-антиоксидатної системи за різноманітних патологічних станів. ОС організму – стан, що характеризується надлишком АФО та/або дефіцитом антиоксидантів, і, насамперед, є провідною причиною зниження репродуктивної здатності (гіпофертильності) та безпліддя. Руйнівною силою ОС є ушкодження ліпідів, протеїнів мембран і органел та ДНК клітин, внаслідок чого циклічний каскад окисно-відновних реакцій послаблює функції сперміїв та статевої системи загалом (рис. 1) (Agarwal & Bui, 2017).

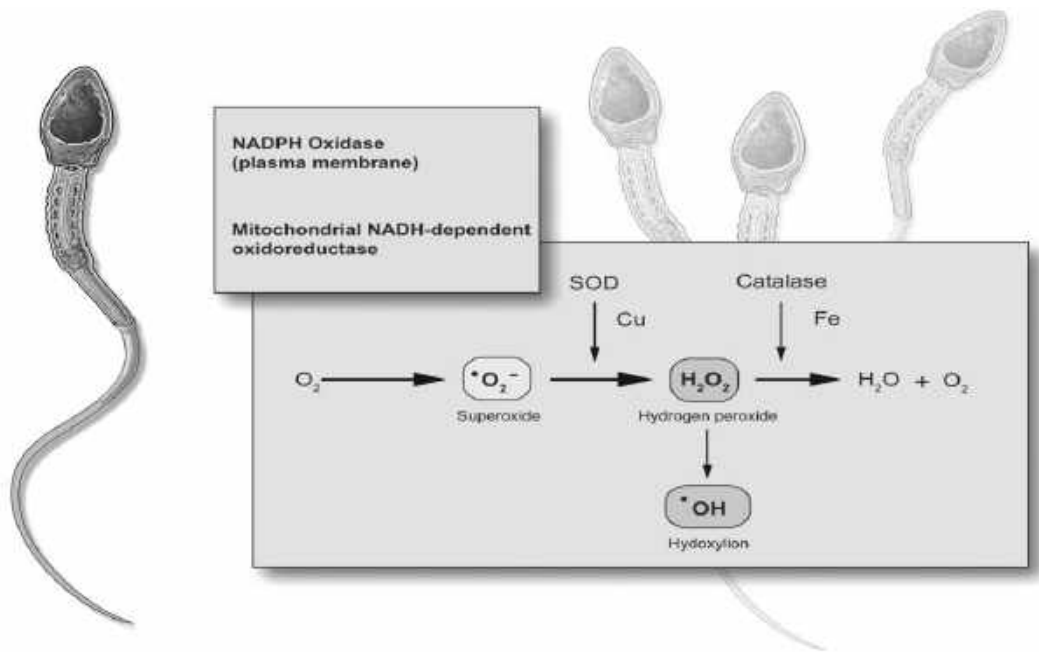


Рис. 1. Активні форми Оксигену у спермії (Agarwal & Bui, 2017).

Неодмінно оксидативні ушкодження статевої системи виявляють при різноманітних репродуктопатіях за токсичних отруень, тривалому застосуванні лікарських засобів. Наприклад, сірчастий іприт,

як цитотоксичний і хімічний агент, ушкоджує тканини, у тому числі репродуктивної системи і викликає неплодність, що супроводжується інтенсифікацією процесів ВРО (Marzony et al., 2016). ОС також розглядають як причину синдрому підвищеної в'язкості сперми, за якого спостерігають індукований підвищений синтез АФО, що викликає ОС (Beigi Narchegani et al., 2019).

Також, сучасні дані свідчать про участь ОС як центрального елементу, що сприяє гіпофертильності у чоловіків з варикоцеле, на яке сім'яники реагують тепловим стресом, ішемією або продукцією вазодилаторів, таких як Нітроген оксид (Agarwal et al., 2006b; Hamada et al., 2012).

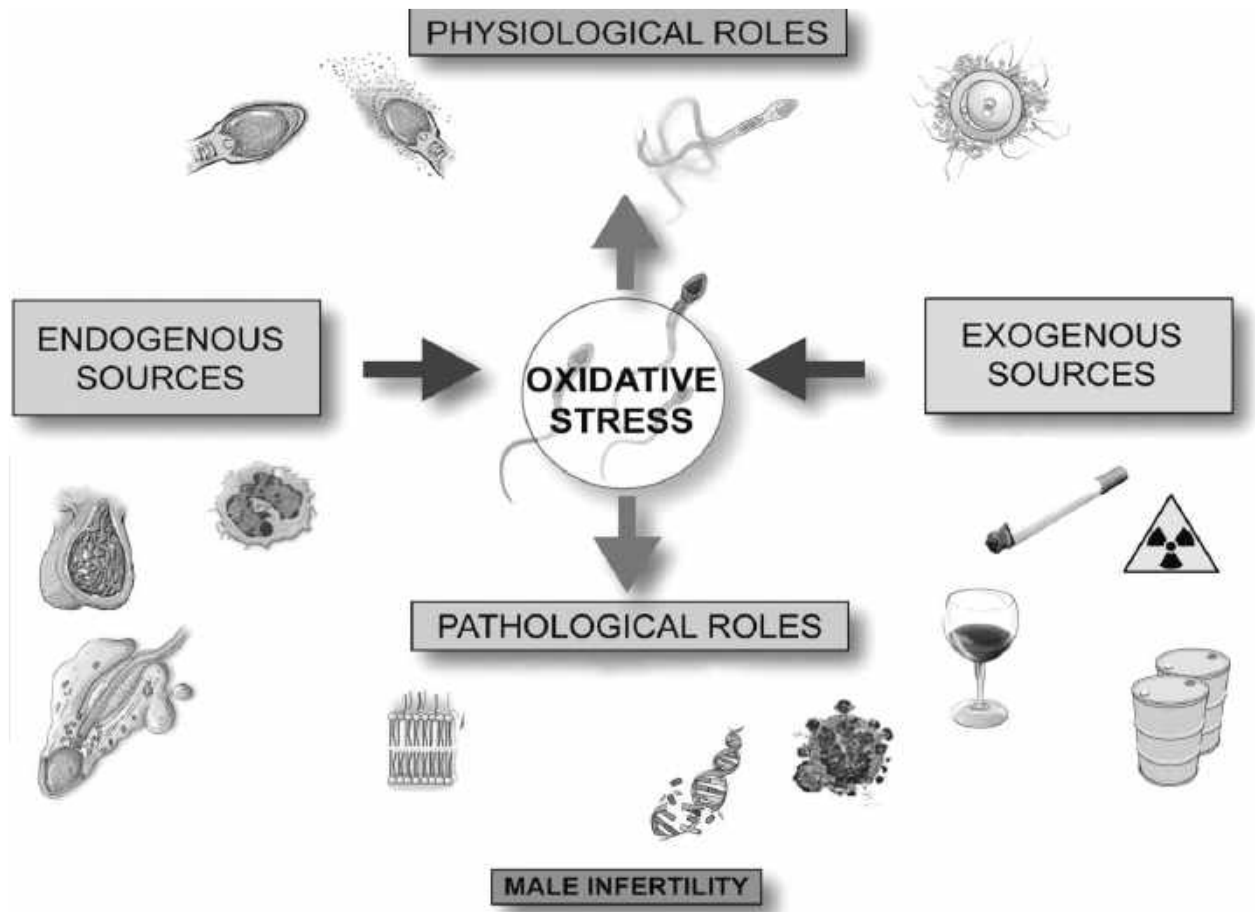
За простатиту також спостерігають ОС на місцевому та системному рівні, при цьому зниження якості сперми відбувається переважно за дії підвищених концентрацій АФО, які виникають за впливу як асептичного запалення, так і дії бактеріальних агентів (Kullisaar et al., 2011; Ihsan et al., 2018; Коренева зі співав., 2019).

АФО утворюються у спермальній плазмі з ендогенних джерел, таких як лейкоцити або незрілі спермії і є фізіологічно необхідними для рухливості сперміїв і запліднення ооцита. Вплив АФО на фертильність регулюється оксидативним парадоксом, що визначається тонким балансом між оксидативним стресом і антиоксидантною активністю. За правильної регуляції АФО забезпечують ефективне функціонування статевої системи (Ritchie & Ko, 2020).

Напроти, при збільшенні генерації утворюється їх непропорційна кількість, яка викликає зниження репродуктивних функцій сперміїв і є причиною гіпофертильності. Загалом, при незначному накопиченні АФО організм здатний до адекватної відповіді і перешкоджає негативним наслідкам їх впливу (Dimakroulou & Jayasena, 2018).

Проте, при неповноцінності раціонів, порушеннях обміну речовин, за впливу різноманітних патогенів навколишнього середовища виявляють дисбаланс у взаємодії вільнорадикальних окислів зі скавенджерними

речовинами. Вони викликають неплідність у самців свійських тварин (Koshevoy et al., 2021). Подібні зміни є причиною більшості випадків ідіопатичних форм безпліддя у практиці гуманної медицини (рис. 2) (Agarwal & Bui, 2017).



**Рис. 2. Схематичне зображення фізіологічної/патологічної ролі активних форм Оксигену у статевій системі самців та основних факторів, що викликають їх продукування (Agarwal & Bui, 2017).**

Причини розвитку ОС різноманітні: це запальні процеси у статевій системі, включаючи варикоцеле, аліментарно-дефіцитні стани, ожиріння, метаболічний синдром, інфекції, що передаються статевим шляхом (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Treponema pallidum*, тощо), простатит, в тому числі бактеріального генезу, мутації мікроорганізмів, що призводять до ОС, вірусні інфекції (наприклад, вірус імунодефіциту людини, гепатити, тощо) (Potts & Pasqualotto, 2003; Agarwal et al., 2018).

Розвиток ОС відзначають за дії гамма-опромінення, що встановлено у досліджах на щурах обох статей поєднано зі станом гемодинамічного стресу (Maulood et al., 2016). До факторів, що сприяють розвитку гіпофертильності за ОС у чоловіків відносять також табакокуріння й зловживання алкоголем, що сприяє зниженню показників якості сперми і рівня статевих гормонів (Ramgir & Abilash, 2019).

Особливо небезпечною є дія фосфорорганічних сполук, наприклад, диметоату, який чинить вплив на реакції ОС у сперміях щурів *in vitro*, на антиоксидантний захист сперміїв (Ben Abdallah et al., 2011). Фрагментацію ДНК сперміїв за порушень сперматогенезу, що викликані, ймовірно, впливом ОС, спостерігають у чоловіків за ожиріння, вплив якого у батьків може негативно впливати на репродуктивне й метаболічне здоров'я нащадків (Chambers & Anderson, 2015).

*Інтенсивність процесів ліпопероксидації і репродуктивний потенціал.* Численними дослідженнями доведено, що зниження репродуктивного потенціалу супроводжується збільшенням інтенсивності процесів ліпопероксидації, так, наприклад, науковці відділення акушерства і гінекології JIPMER (Індія) встановили статистично значущі відмінності вмісту малонового діальдегіду (МДА) з аномальними параметрами сперми, при цьому вони мали знижений індекс оксидативного стресу (OSI), порівняно з групою з нормальними показниками сперми (Barik et al, 2019). Це пояснюється наявністю у мембранах сперміїв ссавців великої кількості поліненасичених жирних кислот, що робить їх особливо чутливими до перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) (Adewoyin et al., 2017).

Неодноразово це доведено експериментально – вченими університету Rovira&Virgili (Іспанія) створена експериментальна модель гіпофертильності самців щурів, індукованої сульфасалазином, при введенні якого відмічають підвищення вмісту речовин, реагуючих з тіобарбітуровою кислотою, зниження вмісту СОД і ГР у сім'яниках і їх придатках (Alonso et al., 2009).

Визначення концентрації АФО та інтенсивності ПОЛ у сперміях і плазмі сперми використовуються як засоби визначення фертильності (Agarwal et al., 2006b; De Lamirande & O'Flaherty, 2008). За зниження показників якості сперми відзначено збільшення вмісту первинних продуктів ПОЛ – дієнових кон'югатів (ДК) у сперміях і плазмі сперми, при цьому концентрація МДА також достовірно підвищується (Tavilani et al., 2005; Vykova et al., 2007a).

*Механізм гіпофертильності самців за впливу високих концентрацій АФО.* Морфологія сперміїв – важлива і складна характеристика їх запліднюючої здатності. Показано, що ОС впливає на морфологію сперміїв, викликаючи розвиток їх аномальних форм, ушкодженню мембран. Так, частота тератозооспермії може бути напряму пов'язана з надлишковою продукцією АФО. Таким чином оцінка морфології сперміїв є не менш важливим критерієм оцінки якості сперми, крім активності і концентрації сперміїв (Agarwal et al., 2014).

ОС при гіпофертильності викликає значне зниження рухливості сперміїв, збільшення відсотку морфологічних аномалій, переважно хвоста сперміїв, при цьому відмічають значне зниження загальної антиоксидантної здатності сироватки крові, вмісту сечової кислоти і альбумінів. Зниження антиоксидантної здатності сироватки крові, вмісту сечової кислоти і альбумінів викликають руйнування мембрани сперміїв, що, в свою чергу, знижує прогресивну рухливість клітин (Palani, 2018).

Реалізація негативного впливу ОС відбувається шляхом дії високих концентрацій АФО, що призводять до оксидативного пошкодження мембран сперміїв і ДНК статевих клітин як наслідок мутації гену, так і через пряме руйнування основного ланцюга ДНК, мітохондріальну дисфункцію і апоптичну загибель клітин (Zalata et al., 2004; Ritchie & Ko, 2020).

ОС викликає пошкодження як мітохондріальної, так і ядерної ДНК, при цьому впливає на епігеном спермія, що приводить до неплідності, можливих абортів або ж негативному перебігу вагітності і підвищеній захворюваності нащадків (Bisht et al., 2017).

Вважається, що ОС чинить вплив також на нормальний ембріональний розвиток – вивчаючи явище ОС сперміїв дослідники встановили особливості антиоксидантного захисту у генетичних лініях (Gharagozloo & Aitken, 2011). При цьому, спермії не здатні відновлювати ушкодження, що викликані ОС, через обмежений АО потенціал (Sabeti et al., 2016).

При розвитку безпліддя на тлі ОС відмічають вірогідне підвищення вмісту Купруму у сироватці крові і спермальній плазмі та рівня Феруму у плазмі сперми, що свідчить про їх безпосередню участь у сперматогенезі і дає можливість припустити, що дані іони відіграють роль медіаторів ефектів оксидативного пошкодження (Aydemir et al., 2006).

Проведеними дослідженнями доведена провідна роль ОС у зниженні репродуктивної здатності кнурів. Так, встановлено, що за зниження показників якості сперми кнурів відмічають інтенсифікацію ПОЛ, що підтверджується достовірним зростанням продуктів ліпопероксидації (Koshevoy & Naumenko, 2020a).

Китайськими дослідниками отримано дані щодо впливу АФО на гістогематичні бар'єри організму самців. Так, у сім'яниках ссавців гемато-тестикулярний бар'єр на відміну від гемато-енцефалічного і гемато-офтальмічного бар'єрів, складається зі співіснуючих щільних тканин і спайок, тим не менш, ці сполуки повинні відкриватися (або розбиратися) для пристосування до міграції прелептотенових і лептотенових сперматоцитів через гемато-тестикулярний бар'єр під час сперматогенезу при збереженні його цілісності (Yan&Cheng, 2005). Тимчасове відкриття гемато-тестикулярного бар'єру, яке сприяє переміщенню статевих клітин, опосередковується через вплив АФО, тестостерону і цитокінів на кінетику ендоцитозу та рециркуляцію інтегральних мембранних протеїнів (Yan et al., 2008). Варто звернути увагу, що такі зміни, ймовірно, також приймають певну участь у патогенезі зниження репродуктивної здатності.

*Особливості розвитку ОС у спермі за кріоконсервації та при розморожуванні.* Поширення використання різноманітних середовищ для

відбору, використання і зберігання сперміїв із вираженою антиоксидантною здатністю дозволяє не тільки зберегти репродуктивний потенціал клітин, а й дослідити у стандартизованому середовищі з високим вмістом АО динамічно або опосередковано продукцію АФО сперміями або іншими контамінуючими клітинами (Smith et al., 2013). Здатність захищати спермії від оксидативного пошкодження має особливе значення для індустрії штучного осіменіння через підвищення синтезу АФО сперміями при обробці.

Багато досліджень присвячено зниженню запліднюючої здатності сперми кнурів після кріоконсервації і розморожування через підвищену, порівняно з іншими видами, тенденцію до оксидативного ушкодження, якому перешкоджає використання засобів антиоксидантної дії – глутатіону, СОД, вітаміну Е, тощо (Bathgate, 2011).

Підвищення генерації АФО як побічний ефект кріоконсервації сперми бугаїв призводить до ОС, деградації протеїнів, фрагментації ДНК і загибелі клітин, для превенції якого було досліджено вплив лікопіну, який знижує синтез АФО у спермі та сприяє збереженню акросомальної реакції і мітохондріального потенціалу сперміїв (Tvrda et al., 2017).

Таким чином, результати аналізу літературних джерел показали провідне значення ОС як патогенетичного механізму неплідності самців, в якому важливу роль відіграє ініціація інтенсифікації процесів пероксидації за рахунок підвищеного синтезу АФО, їх вплив на руйнацію мембран сперміїв, розвиток мітохондріальної дисфункції, інактивацію акросомальних ензимів і, нарешті, позбавлення спермія запліднюючої здатності.



## 1.2 Цикл Нітрогену оксиду, його вплив на сперматогенез і якість сперми та роль у концепції патогенезу неплідності самців

Нітрогену оксид (NO) відіграє важливу роль у функціонуванні репродуктивної системи, представлений самим NO, його метаболітами і специфічним ензимом – NO-синтазою (NOS) і власне її ізоформами. NO у низьких концентраціях відіграє провідну роль в регуляції сигнальних шляхів, регулює тонус гладкої мускулатури, контролює проникність гемато-тестикулярного бар'єру, еректильну функцію, тощо (Lee & Cheng, 2009; Doshi et al., 2012).

Передача редокс-сигналів, опосередкована АФО/АФН є надзвичайно важливою для репродуктивної функції сперміїв. В низьких концентраціях метаболіти циклу Нітрогену оксиду виступають у ролі скавенджерів кисневих радикалів (Otasevic et al., 2020).

NO виробляється синтазами Нітрогену оксиду і відіграє важливу роль у репродукції від мозку до статевих органів. Статеві клітини і інтерстиціальні ендокриноцити у сім'яниках виявляють стадійно-залежну ядерну і цитоплазматичну ендотеліальну і індукцибельну NOS-імунореактивність. Всі три ізоформи NOS були локалізованими на ядерній мембрані і цитоплазмі епітеліальних клітин у всіх протоках, у хвості і цитоплазматичних краплях сперміїв (Liman & Alan, 2016).

Специфічний для статевих залоз самців підклас nNOS, відомий як TnNOS, був нещодавно ідентифікований як досить потужне джерело NO. TnNOS розміщується виключно в інтерстиціальних ендокриноцитах – це підтверджує участь циклу Нітрогену оксиду у гормональній функції сім'яників. При підвищенні вмісту NO приймає участь в утворенні АФН – пероксинітриду ( $\text{ONOO}^-$ ),  $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$ , нітрокислого йона, нітрозил-вмісних сполук, що викликають нітрозативний стрес (Doshi et al., 2012).

Останнім часом отримано нові наукові дані щодо властивостей NO в умовах, близьких до біології ссавців, так, доведено, що NO не окислюється

і не відновлюється одноелектронними процесами, реагує з іншими вільними радикалами зі швидкістю, близькою до обмеженої дифузії, а autoxidation rate is second order in NO concentration, hence slow under bioregulatory conditions (Ford & Miranda, 2020).

При дослідженні ролі індукцйбельної NOS у дисфункції сім'яників за варикоцеле встановлено переважну експресію іNOS у цитоплазмі інтерстиціальних ендокриноцитів і лише невеликий відсоток експресії її у клітинах Сертолі. Оскільки активність іNOS була достовірно вищою у інтерстиціальних ендокриноцитах щурів з варикоцеле активність іNOS може відігравати провідну роль у дисфункцію сім'яників, пов'язаної з варикоцеле у підлітковому віці (Koksal et al., 2004).

*Вплив метаболітів циклу Нітрогену оксиду на сперматогенез і якість сперми.* Експериментальними дослідженнями доведено зниження активності NOS поліпшує зниження функції сперміїв у самців щурів, викликане ніотином, при цьому досліджуючи ефективність використання L-аргініну для інгібування NOS, встановлено зниження сперматотоксичних ефектів, через механізм, що залежить від рівня циркулюючого тестостерону (Oueyiro et al., 2015).

З іншого боку, отримано дані щодо вмісту NO<sub>x</sub> у спермальній плазми здорових і безплідних чоловіків і не отримано достовірних даних щодо кореляції між вмістом NO і якістю сперми (Huang & Khorram, 2002).

Суперечливі результати дослідників можна пояснити різницею в методології виконання роботи. Проведеними дослідженнями виявлено вірогідне зростання кількості стабільних метаболітів циклу NO за зниження репродуктивної здатності кнурів за ОС, що супроводжується погіршенням якості сперми, особливо показників рухливості і кількості рухливих сперміїв у еякуляті (Koshevoy & Naumenko, 2020a).

### **1.3 Значення системи антиоксидантного захисту у репродуктивному потенціалі самців: компоненти і їх класифікація, механізми дії та сучасні маркери оцінки**

*Особливості функціонування компонентів системи антиоксидантного захисту і їх роль у діяльності статеві системи самця.* Спермії є високочутливими клітинами до дії високих рівнів АФО через обмеженість антиоксидантної системи, що присутня у цих термінальних клітинах. Проте, для досягнення унікальної цілі сперміїв, тобто перенесення батьківського геному у зрілий ооцит під час запліднення, необхідним є забезпечення жорсткої регуляції рівней АФО. Таким чином, важливо щоб антиоксидантні системи були активними для функціонування сперміїв (Scarлата & O'Flaherty, 2020).

Антиоксиданти (АО) – це сполуки, що перешкоджають синтезу або нейтралізують дію прооксидантів, зокрема АФО (Rosset et al., 2010; Palani, 2018). У нормальному фізіологічному стані, плазма сперми містить механізм антиоксидантних ензимів, що здатні знешкоджувати токсичні АФО, а також чинити захисну дію для сперміїв від будь-якого ймовірного пошкодження. Такі антиоксиданти, як вітаміни Е і С, каротиноїди і карнітин, при надходженні у організм здатні підвищувати антиоксидантний потенціал клітин, та, загалом, позитивно впливають на сперматогенез (Bolle et al., 2002; Akmal et al., 2006; Hogarth & Griswold, 2010; Adewoyin et al., 2017; Skliarov et al., 2020).

Спермії захищені від ОС ферментами АО системи, яка регулює концентрацію АФО. Спермальна плазма насичена різноманітними АО для захисту сперміїв від ОС – ензиматичними АО (СОД, каталаза, ферменти глутатіонового редокс-циклу) та неензиматичними (аскорбат, токоферол, глутатіон, тощо) (Vykova et al., 2007b).

Доведено зменшення активності АО ензимів за зниження репродуктивної здатності кнурів за ОС, зокрема, як активності СОД і

каталази – ензимів першої ланки АОЗ, так ензимів глутатіонової ланки у сироватці крові кнурів якість сперми яких була низькою (Koshevoy & Naumenko, 2020b).

Не дивлячись на антиоксидантну активність спермальної плазми, приданку сім'яника і сперміїв ОС пошкоджує цілісність ДНК і порушує функцію сперміїв (Lanzafame et al., 2009; Showell et al., 2014). Саме тому, важливим питанням є функціонування антиоксидантного захисту у репродуктивній системі самців.

Встановлено, що позаклітинна СОД присутня в сім'яниках у відносно більшій кількості порівняно з іншими органами організму. Більш детально вивчаючи деякі тканини і клітини щурів за допомогою ланцюгової реакції зворотної транскриптази і полімерази було показано, що статеві клітини експресують приблизно третину від експресії клітин Сертолі, що дозволяє припустити, що обидва типи клітин наділені механізмами, необхідними для захисту від радикалів. Ці дослідження доводять важливість молекули СОД для статевої системи самців, яка знаходиться під регуляцією статевих клітин (Mruk et al., 2002).

Дослідниками отримано суперечливі дані стосовно ефективності застосування ендogenous антиоксидантів для пригнічення дії АФО як засобів терапії гіпофертильності чоловіків або як засобів, що додають у культуральне середовище при розподілі сперміїв має низьку ефективність (Lanzafame et al., 2009; Zini & Al-Nathal, 2011).

Рівень антиоксидантів у спермальній плазмі відіграє важливу роль у етіології порушення функцій сперми і є тісно пов'язаними з гіпофертильністю, а зниження їх концентрації або надходження речовин необхідних для їх синтезу може бути однією з причин безпліддя (Colagar et al., 2009; Shete et al., 2012).

Значне місце у системі антиоксидантного захисту організму самців відіграє тіол-дисульфідна система, так званий глутатіоновий редокс-цикл. Глутатіон – головний АО організму допомагає зберігати інші види АО, його

наявність відмічають у чоловічих і жіночих гаметах, проте у різній кількості (Adeoye et al., 2017). Рівень антиоксидантів у спермі є дуже вразливим і мінливим, так, наприклад, при криоконсервації знижується якість сперми і активність спермальних АО, які за дії лікопіну та  $\alpha$ -ліпоєвої кислоти підвищуються, що доведено у дослідженнях на баранах (Ren et al., 2018).

Клінічними дослідженнями доведено зниження антиоксидантного захисту у спермальній плазмі безплідних чоловіків, що корелюють з показниками якості сперми, так, відмічена знижена активність G-6-PDH викликає підвищений синтез АФО, що підтверджено достовірно вищим вмістом МДА. При цьому відмічають зниження кількості ГП і СОД, що призводить до крихкості мембран сперміїв за дії АФО и впливає на іонний обмін, необхідний для нормальної рухливості. Таким чином, у досліді показано, що існує прямий взаємозв'язок між антиоксидантною системою з астеноспермією і клінічними параметрами сперми (Varghese et al., 2009). Аналогічні результати отримані й іншими групами дослідників (Palani & Asdallh, 2019).

Групою вчених показана ефективність застосування добавок Селену і вітаміну Е для покращення якості сперми псів й підвищення антиоксидантного статусу сперміїв, що доведено збільшенням активності ГП і загальної антиоксидантної здатності клітин, що призводить до нормалізації показників якості сперми у тварин з гіпофертильністю (Domoslawska et al., 2018).

Також, отримані дані щодо негативного впливу материнського ожиріння у щурів на систему антиоксидантного захисту сім'яників у нащадків чоловічої статі, що доведено використанням дієти з високим вмістом жирів під час внутрішньоутробного розвитку, яке призводить до фенотипічних змін, таким як дисбаланс синтезу ліпідів і посиленням ОС, викликаючи зміни чоловічої фертильності, що, в свою чергу, може пояснити зниження їх репродуктивної здатності (Bautista et al., 2017).

*Маркери репродуктивного потенціалу самців: АФО і їх метаболіти, загальна антиоксидантна здатність, мітохондріальний потенціал.* Підвищену продукцію АФО і фрагментацію ДНК спостерігають у неплідних пацієнтів у порівнянні з фертильною групою. Так, зміни в синтезі АФО можуть бути пов'язані з ідіопатичним безпліддям, тобто оцінка вмісту маркерів ОС є надійним прогностичним критерієм репродуктивного потенціалу самців (Mayorga-Torres et al., 2016).

Спермії є дуже вразливими до дії АФО через властиві їм недоліки внутрішньоклітинного антиоксидантного ензиматичного захисту, таким чином, загальна антиоксидантна здатність організму стає більш важливою для захисту сперми (Palani, 2018).

Нагальна потреба у надійних діагностичних тестах, які б дозволяли швидко і всебічно визначати стан ОС. Наявні у дослідників способи встановлення ОС дозволяють визначати лише певні компоненти або їх споріднені речовини (Agarwal & Vui, 2017).

Потенціал мітохондріальної мембрани (ММР) є індикатором функціональності сперміїв, який визначають за допомогою специфічних флуоресцентних маркерів (Amaral & Ramalho-Santos, 2009).

Ушкодження ДНК сперміїв за ОС досліджують різними способами. Під час сперміогенезу, який є останньою стадією дозрівання сперміїв, відбувається стадія ремоделювання плазматичної мембрани сперміїв, яка сприяє посиленню регуляції мембранних рецепторів, сприяючи зв'язуванню пеллюцидної оболонки, наприклад, рецепторів гіалуронової кислоти. Відмічено, що спермії відібрані з використанням гіалуронової кислоти в якості селектора, демонструють такі характеристики, як мінімальна фрагментація ДНК, нормальна морфологія і знижена частота хромосомних анеуплоїдій, що свідчить про ефективність використання аналізу зв'язування гіалуронової кислоти в якості методу відбору зрілих, функціонально активних сперміїв (Torabi & Miller, 2016).

Практична репродуктологія використовує показник фрагментації ДНК як надійний індикатор фертильності, що є специфічним, ніж звичайні показники якості сперми (Wright et al., 2014).

Тестування вмісту АФО і антиоксидантної здатності потенціально може давати додаткову прогностичну інформацію до стандартних лабораторних тестів чоловічого безпліддя (Ko et al., 2014). Загальна антиоксидантна здатність сперміїв чоловіків також досліджується за умов різних середовищ із високим вмістом АО (Smith et al., 2013).

В якості біохімічного предиктора чоловічої фертильності доведена ефективність використання загального антиоксидантного статусу (TAS), шляхом визначення даного показнику у спермальній плазмі з використанням набору Randox на групах здорових і безплідних (з різними видами зниження якості сперми) чоловіків у Пакистані, що доводить достовірно вищий рівень антиоксидантного захисту у плідних чоловіків і наявність позитивної кореляції з концентрацією, рухливістю сперміїв і вмістом клітин з нормальною морфологією (Adeel et al., 2011; Pahune et al., 2013).

#### **1.4 Новітні засоби корекції репродуктивної здатності самців: проблеми пошуку, реалізація впливу й ефективність, поширення наноструктурних засобів**

Сучасна репродуктологія активно займається пошуком безпечних та ефективних засобів корекції репродуктивної здатності самців. Основними напрямками цієї корекції є вплив на механізми регуляції і реалізації відтворної здатності, зокрема гормонально-метаболічний обмін, вітамінно-мінеральні фактори, або ланки патогенезу гіпофертильності, особливо ОС (Koshevoy et al., 2022). Важливо відмітити, що ОС, за якого виникає підвищення синтезу й накопичення АФО і АФН призводять до змін редокс-статусу не тільки популяції стероїдогенних клітин, а й зародкової лінії, що викликає порушення гіпоталамо-гіпофізарно-гонадальної вісі, та, внаслідок, знижує якість еякуляту (Ferlin&Foresta, 2014). Антиоксиданти зменшують синтезування вільних радикалів, сповільнюють або інгібують процеси окиснення й здатні відновлювати ушкодження (Mironchuk-Chodakowska et al., 2018).

Застосування АО для підвищення репродуктивного потенціалу є перспективним напрямком досліджень як у гуманній, так і ветеринарній медицині. Показано позитивний вплив мікроелементів, зокрема Цинку і Селену на об'єм еякуляту і рухливість сперміїв (Atig et al., 2012). Мелатонін, бета-каротин або лютеїн також підтримують високу якість сперми (Aitken & Roman, 2008; Zareba et al., 2013).

Декілька досліджень підтвердили, що високе споживання вітамінів А, Е і С корелює з покращенням рухливості сперміїв (Akmal et al., 2006; Braga et al., 2012). Крім того, виживаність сперміїв залежить від АО присутніх у спермальній плазмі, зокрема вітамінів С і Е, відновленої форми глутатіону, амінокислот – таурину і гіпотаурину, альбуміну, карнітину і каротиноїдів (Lewis et al., 2013).



Спермії є особливо чутливими до оксидативних ушкоджень через присутність надлишкової кількості поліненасичених жирних кислот у плазматичній мембрані, що робить їх вкрай вразливими до перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) АФО, викликаючи зниження гнучкості мембрани спермія і зменшенню рухливості його хвоста. Крім того, має місце екстракція цитоплазми на останніх стадіях сперматогенезу, що призводить до виведення великої кількості ензиматичних АО здатних захищати клітину від впливу АФО, що руйнують ДНК (Lewis & Ford, 2012).

Суперечливі дані існують щодо ефективності антиоксидантної терапії монокомпонентними препаратами або комбінованими засобами. Так, за введення L-карнітину, L-ацетилкарнітину, N-ацетилцистеїну, коензиму Q<sub>10</sub>, Селену, вітамінів Е і С, лікопіну та їх комбінацій відмічають покращення параметрів якості сперми, цілісності ДНК за ідіопатичного безпліддя (Arafa et al., 2020).

Високу ефективність доведено при застосуванні N-ацетилцистеїну (NAC). NAC є попередником глутатіону і сприяє значному підвищенню антиоксидантного потенціалу. Так, вплив різних доз NAC *in vitro* мав подібний ефект – за зменшення синтезу АФО спостерігали підвищення показнику рухливості сперміїв (Ciftci et al., 2009; Safarinejad & Safarinejad, 2009).

При застосуванні відновленого глутатіону (GSH), який приймає безпосередню участь у знешкодженні АФО і є одним з найбільш важливих ендогенних АО, відмічено збереження цілісності ДНК сперміїв від оксидативних ушкоджень (Raijmakers et al., 2003).

Крім того, важливу участь в підтримці антиоксидантного гомеостазу сперми приймає коензим Q<sub>10</sub>. Зокрема, доведено наявність взаємозв'язку між концентрацією сперміїв, їх рухливістю і кількістю коензиму Q<sub>10</sub> в еякуляті (Gvozdjakova et al., 2013). Важливо врахувати, що біосинтез коензиму Q<sub>10</sub> має високу активність в тканинах гонад, внаслідок чого

концентрація його в спермі є вищою порівняно з іншими біологічними рідинами (Balercia et al., 2009; Littarru & Tiano, 2010).

До основних засобів корекції ОС належать групи препаратів, які напряму або опосередковано чинять антиоксидантний ефект або знижують інтенсивність процесів пероксидації шляхом елімінації її токсичних продуктів. Механізм дії даних препаратів залежить від особливостей їх фармацевтичної композиції, так, вітамінно-мінеральні препарати реалізують свою дію через покращення активності неферментативної ланки АОЗ, наприклад каротиноїди при надходженні у організм сприяють підвищенню синтезу вітаміну А у печінці і активації процесів АОЗ, так само як введення токоферолів й аскорбінової кислоти (Domoslawska et al., 2018; Skliarov et al., 2020).

На ферментативну систему АОЗ впливає введення таких мікроелементів як Цинк і Купрум, вони, в свою чергу, є складовими одного з провідних ензимів першої ланки АОЗ – супероксиддисмутази, яка виступає субстратом для іншого потужного ензиму – каталази (Palani, 2018; Scarlata & O’Flaherty, 2020). Потужною антиоксидантною дією характеризуються препарати, на основі янтарної кислоти, яка є основним компонентом шунту Робертса й реалізує свій ефект у відділах нервової системи (Zarubina et al., 2012).

В останні роки зростає інтерес дослідників біомедичної галузі до біогенних елементів, в тому числі рідкісноземельних металів, наприклад, Ванадію. Важливість Ванадію пояснюється його багатогранною біологічною роллю, в тому числі його участі у метаболізмі глюкози і ліпідів як інсуліноміметичним, антиліпемічним засобом, що полегшує окисний стрес за цукрового діабеті при введенні в малих дозах. Ванадій може бути корисним як потенційний імуностимулюючий засіб, а також як протизапальний терапевтичний металопрепарат, спрямований на різні захворювання (Tripathi et al., 2018).

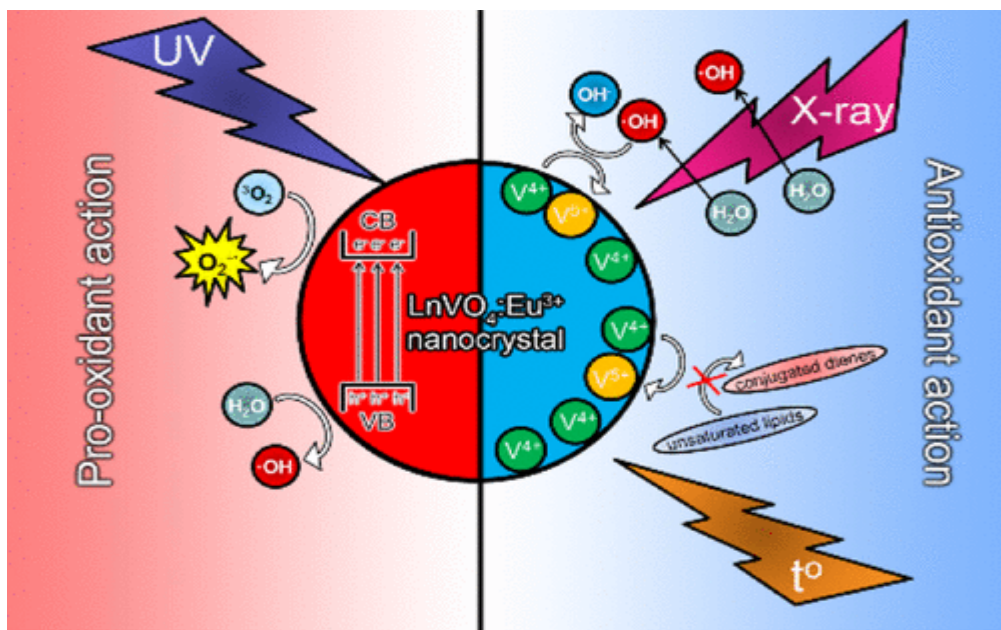
Крім того, макроергічний Ванадій приймає участь в регуляції сигнальних шляхів на клітинному або субклітинному рівнях. Слід зазначити, що реалізація такої дії спростерігається за мінімальних кількостей сполук Ванадію, натомість збільшення дози викликає токсичні ефекти, внаслідок чого до сьогодні сполуки Ванадію не використовуються у клінічній фармакологічній практиці (Rehder, 2016). Використання високих доз даного елемента у макроформі навіть сприяє інтенсифікації ОС на моделі клітин (Matsugo et al., 2014).

Різні сполуки Ванадію показали різні фізіологічні ефекти. Потенційні сполуки на основі Ванадію – неорганічні та координаційні сполуки з органічними лігандами – ванадат (V), оксидованадій (IV) та в комплекси з власними лігандними системами організму. Було показано, що сполуки Ванадію потенційно ефективні проти діабету 2 типу, злоякісних пухлин, інвазійних та бактеріальних хвороб. Проте, до сих пір сполуки Ванадію ще не затверджені в якості фармацевтичних препаратів для клінічного застосування (Rehder, 2016). Натрію метаванадат здатний модулювати обмін ліпідів шляхом стимуляції ліпогенезу одночасно пригнічуючи ліполітичну активність у гепатоцитах (Zarqami et al., 2018).

Особливістю дії сполук Ванадію є вплив на антиоксидантну захисну систему шляхом підвищення активності ензимів, таких як супероксиддисмутаза, каталаза і, особливо, глутатіонової ланки – глутатіонпероксидази, що показано на гепатоцитах людини *in vitro* (Kim et al., 2012). Слід відмітити, що багато авторів висловлюють припущення про інсулін-мімічну активність характерну сполукам Ванадію. На модельних системах показана їх здатність до стимуляції продукції невеликих кількостей АФО і, таким чином, посилення інсулінової сигналізації. З іншого боку, надмірний синтез кисневих радикалів сприяє зниженню сигналізації інсуліну, та навіть втрачання активності даного гормону (Willsky et al., 2011; Sugiyama et al., 2012). У клітинах, частково завдяки схожості ванадату і фосфату, сполуки ванадію активують численні

сигнальні шляхи і фактори транскрипції. Це саме по собі потенціює застосування терапевтичних засобів на основі Ванадію (Pessoa et al., 2015).

До таких сполук належать наночастинки з ензимоподібними властивостями (Vernekar et al., 2014). НЧ ортованадатів рідкісноземельних елементів, зокрема Гадолінію, чинять позитивний вплив на статеву функцію самців щурів за гіперестрогенізації та стресу, експериментального простатиту (Belkina et al., 2017; Karpenko et al., 2020).



**Рис. 3. Схематичне зображення окислювально-відновної активності (про- та антиоксидантної дії) наночастинок  $\text{LnVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  ( $\text{Ln} = \text{Gd}, \text{Y}$  і  $\text{La}$ ) за різних зовнішніх умов (Yefimova et al., 2019).**

Експериментальними дослідженнями доведено ефективне знешкодження токсичних радикалів НЧ  $\text{LnVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  ( $\text{Ln} = \text{Gd}, \text{Y}$  і  $\text{La}$ ), зокрема гідроксильних і пероксильних радикалів, пероксиду водню у водних розчинах і ліпідних суспензіях, що імітують біологічне середовище (рис. 3). Антиоксидантна активність НЧ пояснюється високим вмістом іонів Ванадію у їх структурі та зворотнім перемиканням ступенів окислення ( $\text{V}^{3+} \leftrightarrow \text{V}^{4+}$  та  $\text{V}^{4+} \leftrightarrow \text{V}^{5+}$ ) (Yefimova et al., 2019; Maksimchuk et al., 2021). Вищенаведене доводить, що застосування неплідним самцям НЧ гадолінію ортованадату потребує подальших досліджень.

*Висновок з огляду літератури.*

Отже, оксидативний стрес є провідним патогенетичним механізмом гіпофертильності (зниження репродуктивної здатності) самців, який через накопичення токсичних продуктів пероксидації чинить згубну дію на діяльність репродуктивної системи шляхом зниження мітохондріального потенціалу сперміїв, і, як наслідок, їх рухливості, ушкодження акросомальних ензимів, що унеможлиблює процес запліднення. Переважна кількість авторів збігаються на думці, що це відбувається за тривалого впливу негативних чинників, внаслідок якого антиоксидантна захисна система втрачає здатність адекватної відповіді на інтенсифікацію процесів пероксидації і потребує фармакологічної корекції. При цьому, визначення маркерів ОС і динаміки АОЗ повинні бути впроваджені в схеми андрологічної диспансеризації плідників. Перспективним напрямком досліджень, на нашу думку, постає пошук і наукове обґрунтування безпечних і ефективних засобів корекції неплідності кнурів за оксидативного стресу, зокрема НЧ гадолінію ортованадату з вираженими антиоксидантними властивостями.

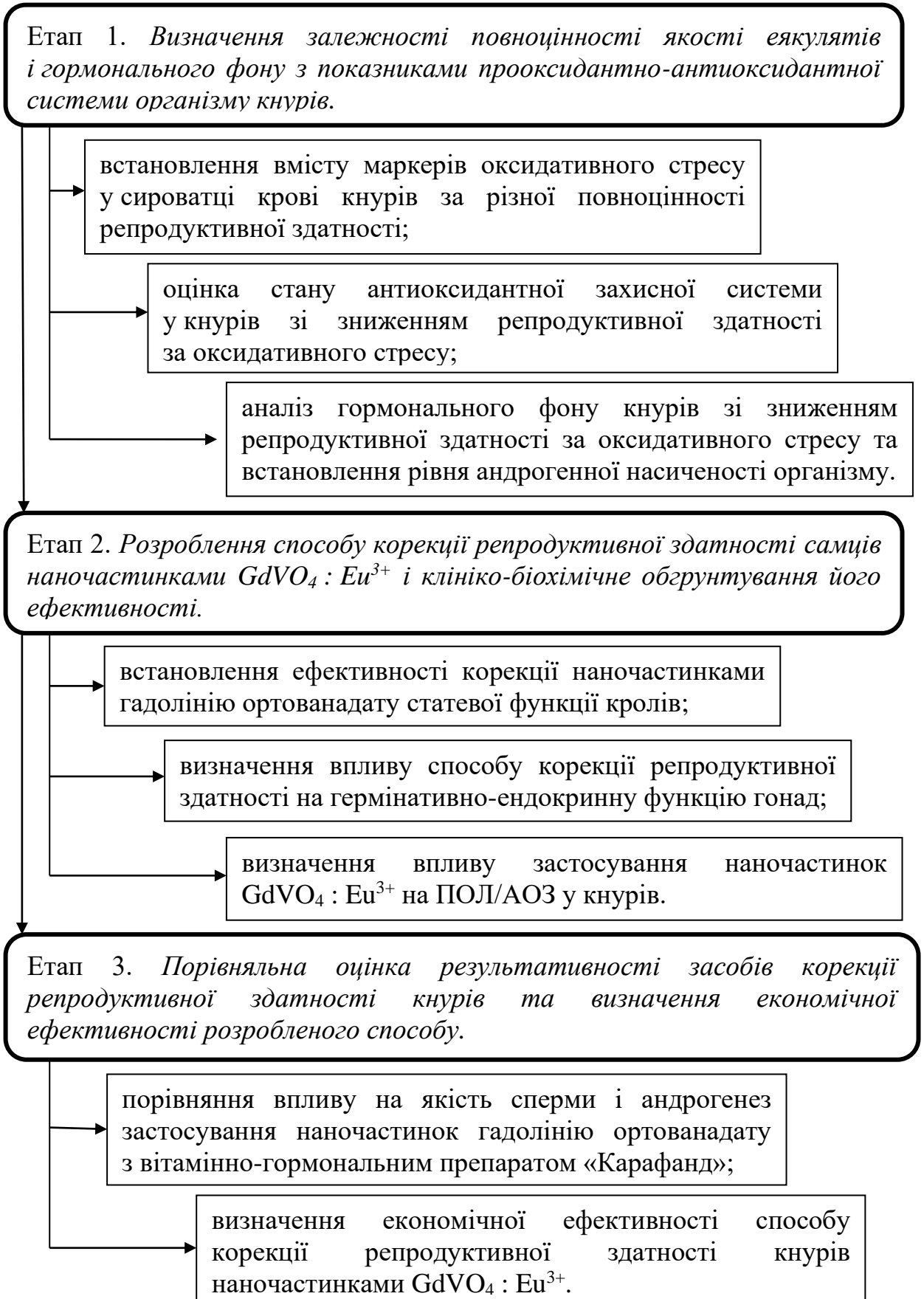
Результати аналізу літературних джерел узагальнені і опубліковані у науковій статті – Koshevoy, V., Naumenko, S., Skliarov, P., Fedorenko, S., Kostyshyn, L., 2021.

## РОЗДІЛ 2. ВИБІР НАПРЯМКІВ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дисертаційна робота виконана упродовж 2020-2022 рр. в умовах лабораторій кафедри ветеринарної репродуктології Харківської державної зооветеринарної академії (з 01.09.2021 р. – кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України), відділу наноструктурних матеріалів імені Ю. В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України (м. Харків), Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету МОЗ України (м. Харків) і медичної лабораторії «Аналітика» (м. Харків).

Матеріалом досліджень зі встановлення значення ОС у розвитку зниження репродуктивної здатності й розробці способу корекції неплідності були кнури породної лінії гібрид F1 велика біла × йоркшир, віком 2-5 років, масою 280-320 кг (n=18), що належали сільському фермерському господарству «Влада» Юріївського району Дніпропетровської області. Порівняльну оцінку ефективності застосування НЧ гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд» провели в умовах господарства «Вільне-2002» Новомосковського району Дніпропетровської області на кнурах тієї ж породної лінії віком 2-5 років, масою 280-320 кг (n=15). Експериментальне дослідження з встановлення ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату для корекції репродуктивної здатності виконано на статевозрілих кролях породи *Hyla*, живою масою 3-5 кг (n=36).

Дисертаційна робота виконана за трьома послідовними етапами (рис. 4), які включали комплексні дослідження значення оксидативного стресу за зниження репродуктивної здатності самців, науково-експериментальне обґрунтування ефективності використання НЧ гадолінію ортованадату й порівняльно-економічний аналіз розробленого способу корекції неплідності кнурів.



*Рис. 4. Загальна схема досліджень.*

При виконанні досліджень дотримувалися «Загальних принципів експериментів на тваринах», які ухвалені на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001) і є узгодженими з положеннями Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1987) і відповідають Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження» зі змінами (висновок біоетичної експертизи комісії факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету від 16 лютого 2023 р. (додаток Е).

У першій серії дослідів визначали стан прооксидантно-антиоксидантної системи у кнурів з різними показниками повноцінності гермінативно-ендокринної функції гонад. Для цього проаналізували якісні показники еякулятів кнурів (n=18) і сформували дві групи самців – контрольну (n=5) з показниками якості сперми, що відповідали нормативним, і дослідну (n=5) – зі зниженою якістю, особливо за показниками рухливості і кількості рухливих сперміїв у еякуляті.

Досліди виконані у зимовий період в якому, зазвичай, відзначають підвищення інтенсивності процесів ліпопероксидації на тлі зменшення АО потенціалу, тобто фізіологічний ОС. В дану пору року характерним для деяких порід кнурів є зменшення показників якості сперми, інколи показників рухливості і кількості рухливих сперміїв, рідше вмісту статевих клітин з морфологічними аномаліями, концентрації або об'єму еякуляту.

Тваринам обох груп попередньо провели андрологічну диспансеризацію, що включала клінічні (огляд, пальпація, термографія статевих органів, встановлення макро- і мікроскопічних показників якості сперми) та біохімічні (оцінка стану процесів пероксидації, антиоксидантного потенціалу сироватки крові плідників, гормонального фону). Крім того, дослідили умови утримання, годівлі і використання плідників для виключення можливих негативних впливів на їх організм, які могли б ініціювати ОС.



Оцінку якості сперми кнурів проводили загальноновживаним у штучному осіменінні свиней непрямим методом, що включав визначення якісних показників еякулятів кнурів одразу після одержання, з наступним порівнянням з розробленими нормативами. Також за застосування даного методу необхідним є осіменіння оціненими еякулятами групи свиноматок для підрахунку проценту заплідненості з можливістю подальшого прогнозування запліднюючої здатності кнура, що у даній серії дослідів проведено не було, адже еякуляти самців включених до дослідної групи мали низькі показники якості, що відповідно, значно знизило б і запліднюючу здатність кнурів (Харенко зі співав., 2010).

Використовували дві групи оцінки якісних показників сперми: макроскопічну (візуальну або окомірну) – об'єм, колір, запах і консистенцію, та, додатково, наявність механічних домішок; мікроскопічну – рухливість, концентрацію, кількість рухливих сперміїв у еякуляті і вміст статевих клітин з морфологічними аномаліями.

Сперму одержували на штучну вагіну і при визначенні об'єму еякуляту градуйованим циліндром враховували тільки профільтровану від секрету цибулинно-сечівникових залоз частину, отриману величину виражали у  $\text{см}^3$ . Колір визначали візуально, оглядаючи на світло крізь стінку циліндру. При цьому визначали наявність домішок, оцінювали запах сперми і консистенцію.

Рухливість сперміїв, тобто здатність їх до прямолінійно-поступального руху, виражали у балах і визначали у роздавленій краплі за 10-бальною шкалою – за кожні 10 % сперміїв з прямолінійно-поступальним рухом ставили один бал. Концентрацію статевих клітин в еякуляті встановлювали за допомогою лічильної камери Горяєва з глибиною 0,1 мм після розрідження у колбі в 20 разів і виражали у  $\text{млрд}/\text{см}^3$  або  $\text{млн}/\text{см}^3$ . Кількість рухливих сперміїв в еякуляті обчислювали математично враховуючи показники рухливості (бали), концентрації ( $\text{млрд}/\text{см}^3$ ) та об'єм еякуляту ( $\text{см}^3$ ), отримані значення виражали у млрд.

Вміст сперміїв із морфологічними аномаліями досліджували розріджуючи свіжовзяту сперму 1 %-м розчином натрію хлориду або зовсім не розріджували, далі наносили на сухе предметне скло невеликого розміру краплю і робили з неї тонкий мазок, який після висушування й фіксації фарбували розчином азур II-еозину. Мікроскопували за допомогою мікроскопу LEICA DM 2500 використовуючи об.  $\times 15$ , ок.  $\times 40$ . Відсоток визначали за стандартною формулою (Яблонський, 2002).

Після отримання еякулятів проводили відбір проб крові у яких визначали інтенсивність процесів пероксидації за вмістом маркерів ОС – дієнових кон'югатів (ДК), тіобарбітурат-активних продуктів (ТБК-АП) і вмістом стабільних метаболітів циклу Нітроген оксиду ( $\text{NO}_x$ ).

Вміст ДК визначали в гептан-ізопропанольному екстракті спектрофотометрично при довжині хвилі  $\lambda=233$  нм, виходячи з величини молярного коефіцієнту екстинкції для спряжених дієнів поліненасичених вищих жирних кислот (Гаврилов и соавт., 1988), а ТБК-АП – за методом, що базується на зв'язуванні малонового діальдегіду з тіобарбітуровою кислотою з утворенням стійкого триметинового комплексу за довжини хвилі  $\lambda=532$  нм (Орехович, 1977).  $\text{NO}_x$  у сироватці крові кнурів встановлювали за методом заснованим на реакції, в якій Кадмій у присутності Цинку відновлює нітрат до нітриту, для чого відталені депротеїнізовані зразки сироватки крові інкубували після додавання реактиву Грісса і досліджували за довжини хвилі  $\lambda=546$  нм (Голиков и Николаева, 2004).

Стан антиоксидантної захисної системи оцінювали за активністю первинних АО ензимів – супероксиддисмутази (СОД) і каталази; компонентами тіол-дисульфідної системи – активністю глутатіонпероксидази (GSH-Px), глутатіонредуктази (GSH-Rd) і вмістом відновленого глутатіону (GSH), враховуючи їх баланс за допомогою співвідношень та індексів.

Визначення активності СОД (КФ 1.15.1.1) проводили за методом, принцип якого ґрунтується на конкурентній взаємодії СОД з нітросинім тетразолієм за супероксидні аніон-радикали, що утворюються в результаті

реакції відновленої форми НАДН та феназинметасульфату, вимірювання здійснювали за довжини хвилі  $\lambda=540$  нм (Чевари и соавт., 1985). Каталазну (КФ 1.11.1.6) активність визначали за кількістю незруйнованого пероксиду водню у пробі, який взаємодіючи з солями молібдену утворює стійкий забарвлений комплекс, інтенсивність якого виміряно за довжини хвилі  $\lambda=410$  нм проти контрольної проби, що вміщувала 2 мл  $H_2O$  замість пероксиду водню (Королюк и соавт., 1988).

Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали за методом Батлера з використанням реактиву Елмана, а активність GSH-Px (КФ 1.11.1.9) оцінювали за швидкістю окиснення відновленої форми глутатіону в присутності гідропероксиду третинного бутилу в колірній реакції з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою й вимірюванням за довжини хвилі  $\lambda=412$  нм (Moін, 1986). Активність GSH-Rd (КФ 1.6.4.2) встановлювали за зниженням вмісту НАДФН при  $37^\circ C$  протягом 1 хв. за довжини хвилі  $\lambda=340$  нм (Carlberg & Mannervik, 1985).

Для визначення балансу активності ензиматичної системи АОЗ проводили математичну обробку даних для виведення співвідношень показників і індексів активності ензимів: співвідношення для СОД, каталази і GSH-Px вираховували шляхом округлення чисел, отримані значення ділили на 10, для вираження співвідношення GSH-Rd використовували отримані дані округляючи числа до десятих; індекс СОД/каталаза виводили сумуючи дані по групах, ділили на 10 и округлювали до цілих чисел; індекс GSH-Px/GSH-Rd визначали сумуючи округлені дані по групах і ділили на 3, результати обчислення індексів виражали у відносних одиницях (відн. од.).

Крім того, досліджували вміст вітамінів А, Е і С у сироватці крові методом високоефективної рідинної хроматографії як компонентів неензиматичної ланки АОЗ (Влізло зі співав., 2012).

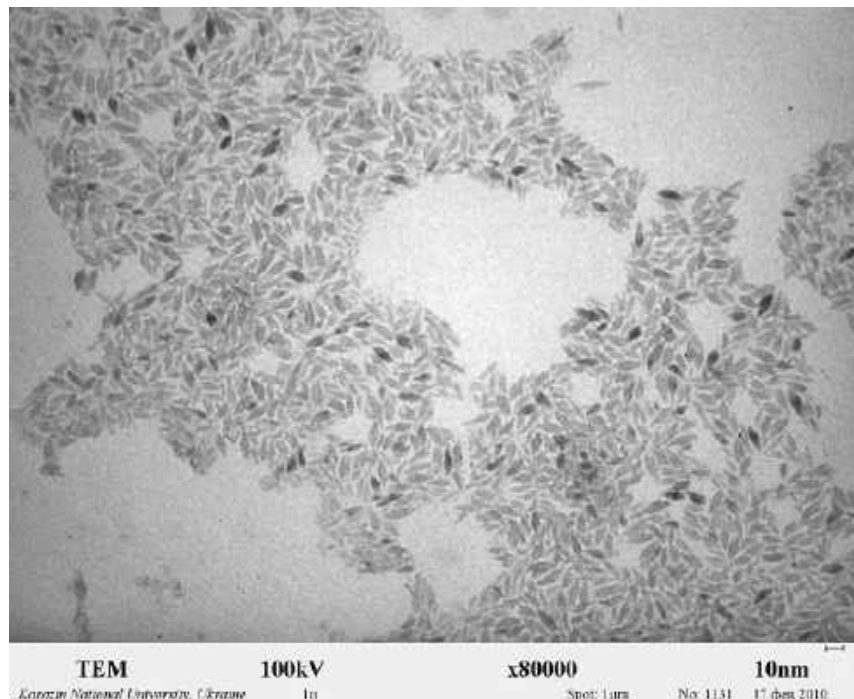
Надалі оцінювали стан андрогенної насиченості організму кнурів. Для цього встановлювали рівні статевих гормонів – загального тестостерону ( $T_{c_{заг}}$ ) і 17- $\beta$ -естрадіолу (17- $\beta$ -Е) у сироватці крові та вміст тестостерон-

естрадіолзв'язуючого глобуліну (ТЕЗГ) у еритроцитах методом імунохемилюмінесценції. Обчислювали індекс вільних андрогенів (ІВА) – кількість загального тестостерону у сироватці крові ділили на вміст ТЕЗГ, отриману величину виражали у відсотках (%).

У другій серії дослідів провели експериментальне дослідження зі з'ясування впливу НЧ гадолінію ортованадату на репродуктивну функцію лабораторних тварин – кролів за третбутилгідропероксид-індукованого ОС.

Для цього використовували НЧ гадолінію ортованадату, активовані Європієм ( $GdVO_4 : Eu^{3+}$ ), синтезовані за договором про науково-практичне співробітництво (№ 48 від 22.07.2020 р.) у відділі наноструктурних матеріалів імені Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАНУ (завідувач – д.ф.-м.н., професор, член-кореспондент НАНУ Єфімова С.Л.).

Електронно-мікроскопічна фотографія колоїдного розчину твердої фази НЧ гадолінію ортованадату активованих європієм зображена на рис. 5.



**Рис. 5. Електронно-мікроскопічні фотографії колоїдного розчину НЧ гадолінію ортованадату, активованих Європієм (Klochkov et al., 2012).**

Дані НЧ за показниками безпеки належать до IV класу – малотоксичні сполуки, що дозволяє використовувати їх у медико-біологічних дослідженнях (Koreneva et al., 2016). Гідрозоль НЧ  $GdVO_4 : Eu^{3+}$ , що являв собою прозорий безбарвний розчин зі ступенем дисперсності нанокристалів не більше 10 % отримували згідно «Лабораторної методики одержання колоїдних розчинів нанокристалів ортованадатів гадолінію, активованих європієм» (2013 р.).

Були сформовані групи з тварин-аналогів віком 29 тижнів живою масою  $3,54 \pm 0,05$  кг. Кролів було поділено на три групи: тваринам дослідної групи I (n=12) моделювали стан оксидативного стресу введенням tВНР у дозі еквівалентній 1:10 LD<sub>50</sub> упродовж 14 діб (за методикою Fatemi et al., 2014); самцям дослідної групи II (n=12) вводили tВНР за вищезначеною методикою після чого перорально застосовували гідрозоль НЧ гадолінію ортованадату активованих Європієм у дозі 0,05-0,10 мг на кг маси тіла; контрольна група кролів (n=12) отримувала аналогічний обсяг дистильованої води протягом експерименту. Утримували тварин в умовах віварію кафедри, з доступом до води і корму без обмежень.

Вплив НЧ на репродуктивну здатність оцінювали за показниками якості сперми, гормонального фону і станом ліпопероксидації та динамікою АОЗ. Зокрема, сперму отримували і оцінювали загальноживаними методами – об'єм еякуляту вимірювали за допомогою градуйованої пробірки, оцінку живих і морфологічно аномальних спермій проводили шляхом підрахунку 200 статевих клітин, пофарбованих еозин-негрозином і виражали отриману величину у відсотках, а кількість рухливих спермій підраховували у декількох полях зору світлового мікроскопу за ок.  $\times 10$ , об.  $\times 10$ , концентрацію обчислювали використовуючи камеру Горяєва.

Гормональний фон оцінювали за рівнями загального тестостерону і 17 $\beta$ -естрадіолу, кількістю ТЕЗГ імунохемилюмінесцентною методикою як описано вище. Андрогенну насиченість визначали за ІВА у %. Тоді як,

маркери ОС і компоненти АОЗ визначали спектрофотометрично за вищезначеними методами з деякими модифікаціями.

У *третьій серії дослідів* провели розроблення способу корекції репродуктивної здатності кнурів НЧ гадолінію ортованадату, активованими Європієм та здійснили клініко-біохімічне обґрунтування його ефективності. Розроблений спосіб полягав у пероральному введенні самцям зі зниженою репродуктивною здатністю гідрозолу НЧ гадолінію ортованадату активованих європієм розміром  $25 \times 8$  нм зерноподібної форми у дозі 0,0125 мг на кг живої маси упродовж 14 діб.

Для експерименту використовували кнурів, що утримувалися на стандартному раціоні і мали вільний доступ до води, яких за показниками якості сперми і вмістом маркерів ОС було поділено на дві групи. Якість сперми самців контрольної групи ( $n=5$ ) відповідала нормативам, а дослідної групи ( $n=5$ ) – була зниженою, особливо за показниками рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті, при цьому у них відмічено інтенсифікацію процесів пероксидації у сироватці крові.

Ефективність розробленого способу корекції оцінювали клінічними – за змінами показників якості сперми та біохімічними методами – за вмістом маркерів ОС у сироватці крові самців, гормональним фоном і АО потенціалом. Проби крові відбирали на 1-шу, 15 і 30 добу, еякуляти оцінювали на 1-шу, 60 і 90 добу дослідження. Дослідження виконували за вищеописаними методиками.

У *четвертій серії дослідів* провели порівняльну оцінку ефективності корекції неплідності кнурів НЧ гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд». Даний препарат являє собою олійний розчин каротиноїдів ( $10,0 \pm 0,75$  мг) і біологічно активних речовин з кореневища аїру болотного ( $1,0 \pm 0,05$  мг) (*Acorus calamus*) і призначений для лікування самців з імпотенцією, корекції і превенції зниження репродуктивної здатності. Препарат «Карафанд» готували у лабораторії кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології ДБТУ згідно затверджених

ТУ У 24.4-1452420732-005:2010 (ДНДКІ ветеринарних препаратів і кормових добавок Держпродспоживслужби, м. Львів) та використовували згідно з методикою (Skliarov et al., 2021).

Було проведено дослід, в якому упродовж 14 днів кнурам зі зниженням репродуктивної здатності вводили препарат «Карафанд» у дозі 20 см<sup>3</sup> на самця (дослідна група I, n=5) і гідрозоль НЧ гадолінію ортованадату активованих європієм у дозі 0,0125 мг на кг живої маси (дослідна група II, n=5). Тварини контрольної групи (n=5) з повноцінною репродуктивною здатністю корегуючих засобів не отримували.

Порівняння результативності запропонованих засобів корекції проводили за клінічними показниками – якістю сперми (об'єм еякуляту, рухливість і концентрація сперміїв, вмістом статевих клітин із морфологічними аномаліями) і біохімічно – за станом андрогенезу (рівнем загального тестостерону в сироватці крові кнурів). Використовували вищеописані методики дослідження.

Еякуляти для дослідження відбирали до введення корегуючих засобів, на 30-ту, 60-ту і 90-ту добу експерименту, а проби сироватки крові для оцінки гормонального фону до введення, на 15-ту, 30, 60 і 90 добу.

Одержані цифрові дані досліджуваних показників обробляли методом варіаційної статистики за допомоги *Microsoft Excel*. Визначали середнє арифметичне (M), статистичну похибку середньоарифметичного (m), достовірність різниці між середнім арифметичним двох варіаційних рядів визначали за критерієм достовірності t-Ст'юдента (різницю між двома величинами вважали достовірною за \* – P<0,05; \*\* – P<0,01; \*\*\* – P<0,001) та використовуючи однофакторний дисперсійний аналіз даних ANOVA за критерієм Tukey, вважаючи достовірною різницю за \* – P<0,05 (Петровська зі співав., 2022).

### РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Розділ структурований відповідно вибору теми роботи і висновку з аналізу наукових літературних джерел, розробленої схеми досліджень і логічних етапів виконання роботи за трьома послідовними підрозділами, що включають результати проведених досліджень та їх математико-статистичну обробку.

Так, він містить результати експериментальних досліджень щодо обґрунтування значення оксидативного стресу у зниженні репродуктивної здатності кнурів, зокрема, стосовно інтенсивності процесів ЛПО, стану системи АОЗ та особливостей їх змін за корекції НЧ гадолінію ортованадату і оцінку ефективності запропонованого корегувального засобу:

- *перший підрозділ* – Значення оксидативного стресу у розвитку зниження репродуктивної здатності кнурів, в якому узагальнено дані досліджень стану прооксидантно-антиоксидантної системи у кнурів за знижених показників якості сперми і гормональному дисбалансі;

- *другий підрозділ* – Розроблення способу корекції зниження репродуктивної здатності самців за оксидативного стресу наночастинками гадолінію ортованадату, що представлений клініко-біохімічним обґрунтуванням доцільності застосування НЧ ортованадатів рідкісноземельних елементів, зокрема Гадолінію, як засобу корекції патогенетичних змін за гіпофертильності кнурів;

- *третій підрозділ* – Порівняльна оцінка ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом й оцінка економічної ефективності розробленого способу корекції, де показано особливості впливу засобів корекції репродуктивної здатності різноспрямованої дії на основні її показники й визначено потенційний ефект від впровадження використання наноструктурних матеріалів у практику репродукції тварин.



### **3.1 Значення оксидативного стресу у розвитку зниження репродуктивної здатності кнурів**

Репродуктивна здатність самця залежить від різноманітних факторів та зазнає багатьох негативних впливів зовнішнього і внутрішнього середовища і, як правило, не здатна, в повній мірі, на адекватну відповідь. Механізми дії цих впливів визначаються структурною і функціональною організацією статевої системи.

Останніми дослідженнями обґрунтовано роль активних форм Оксигену (АФО) і Нітрогену (АФН) у функціонуванні статевої системи самців. У сім'яниках і спермі АФО і АФН можуть виконувати, в залежності від концентрації та інших причин, як фізіологічну роль, так і чинити негативний вплив, викликаючи оксидативний стрес (ОС), що супроводжується зниженням якості сперми і її запліднюючої здатності.

ОС, що виникає в результаті порушення балансу між окислювально-відновлювальними процесами, під дією зовнішніх або внутрішніх чинників та призводить до оксидативної модифікації молекул, зокрема, ліпідів, білків та ДНК. Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) чинить негативний вплив на якість сперми самців і, можливо, є причиною поширених випадків ідіоматичного безпліддя.

Суперечливі дані існують стосовно ролі циклу Нітрогену оксиду (NO) у розвитку зниження репродуктивної здатності. Відомо, що високі концентрації NO виявляють потужні цитотоксичні властивості, активують ПОЛ у сім'яній плазмі.

Репродуктивна здатність кнурів-плідників та механізми її зниження, якість сперми і її біохімічні особливості є предметом дослідження багатьох вчених, проте комплексних досліджень зі з'ясування можливого негативного впливу токсичних радикалів на якість сперми і гормональний фон кнурів вкрай мало, особливо серед порід і гібридів вітчизняної селекції.

### 3.1.1 Інтенсивність процесів ліпопероксидації і стан системи циклу Нітрогену оксиду у кнурів зі зниженням репродуктивної здатності

Метою першого етапу наших досліджень було встановлення особливостей прооксидантно-антиоксидантної системи у кнурів за повноцінного прояву репродуктивної здатності та зі зниженими показниками. З практики репродукції тварин відомо, що навіть за нормативних показників якості сперми самців непоодинокими є випадки низької ефективності парування або штучного осіменіння, які не пов'язані зі сторонніми факторами впливу.

Гіпотетично й деякими експериментальними дослідженнями доведено, що навіть незначний оксидативний дисбаланс в організмі плідника може призводити до накопичення токсичних радикалів і викликати неплідність сперміїв на етапах отримання сперми, її розбавлення й зберігання, за штучного осіменіння й навіть у статевих шляхах самиці.

При проведенні андрологічної диспансеризації тварин із відхиленнями клінічного стану виявлено не було, проте непоодинокими були випадки зниження ефективності використання сперми плідників для штучного осіменіння, особливо у зимовий період.

Досліджені еякуляти кнурів-плідників відрізнялися отриманими показниками: з 18 зразків, що підлягали оцінці, 10 мали задовільні якісні показники і відповідали чинним нормативам (56 %), 6 – характеризувалися зниженими якісними показниками, зокрема, об'ємом еякуляту, концентрацією і рухливістю сперміїв, вмістом статевих клітин із морфологічними аномаліями (33 %), а 2 зразки відрізнялися підвищеною кількістю морфологічно аномальних сперміїв, проте не мали відхилень інших показників.

Варіабельності візуальних показників в досліджених зразках не відзначено – вони мали водянисту консистенцію, були білого із сіруватим відтінком кольору і не мали специфічного запаху.

За отриманими результатами було сформовано групи тварин, що відрізнялися якістю сперми. Дані якісних характеристик еякулятів кнурів наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Оцінка якості сперми кнурів-плідників ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).

Показник	Групи тварин	
	контрольна	дослідна
Об'єм еякуляту, $\text{см}^3$	203,2 $\pm$ 3,9	173,9 $\pm$ 2,0**
Концентрація спермійів, млрд/ $\text{см}^3$	0,19 $\pm$ 0,002	0,17 $\pm$ 0,003*
Рухливість, бали	8,4 $\pm$ 0,25	4,8 $\pm$ 0,37**
Кількість рухливих спермійів у еякуляті, млрд	32,0 $\pm$ 0,87	14,1 $\pm$ 1,13**
Спермії з морфологічними аномаліями, %	16,2 $\pm$ 0,66	19,6 $\pm$ 0,69*

Примітки: \* –  $P < 0,01$ ; \*\* –  $P < 0,001$  – порівняно з показниками контрольної групи.

Першочергово був визначеним об'єм еякуляту у кнурів, який має вирішальне значення при визначенні необхідного ступеня розрідження і дозволяє оцінити кількість спермодоз від плідника. У кнурів дослідної групи встановлено зниження об'єму еякуляту на 14,4 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з групою контролю, хоча показники обох груп відповідали нормативам чинної Інструкції зі штучного осіменіння. При цьому, концентрація спермійів, тобто кількість спермійів у 1  $\text{см}^3$  свіжоодержаної сперми, у дослідних тварин була нижчою на 10,5 % ( $P < 0,01$ ).

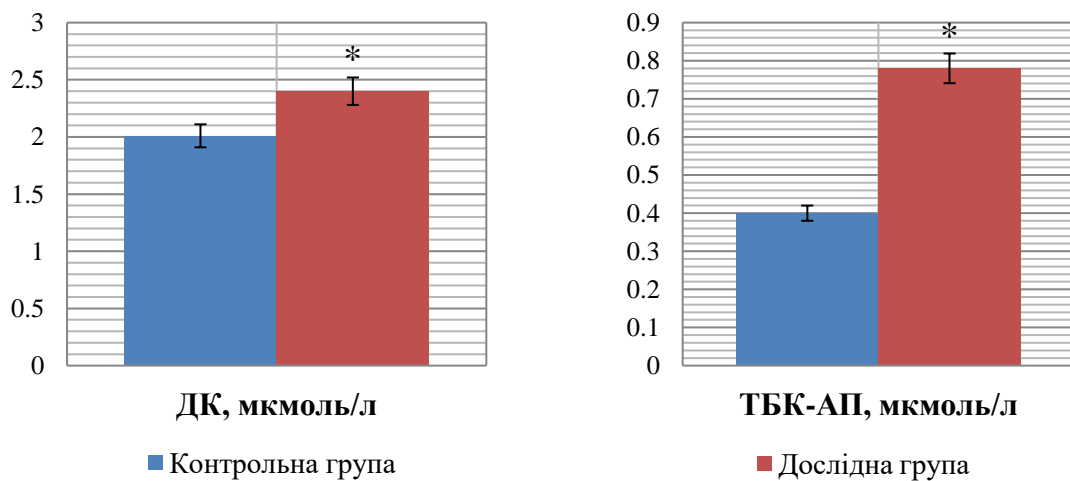
Вирішальним у вибракуванні даних еякулятів став показник рухливості (активності) спермійів, який показує відсоткове співвідношення статевих клітин, що мають прямолінійно-поступальний рух. Так, рухливість статевих клітин була значно зниженою порівняно з показниками самців контрольної групи – на 42,9 % ( $P < 0,001$ ). Відповідно, відмічено зниження кількості

рухливих сперміїв у еякуляті на 55,8 % ( $P < 0,001$ ), а вміст сперміїв із морфологічними аномаліями було підвищено майже на 21 % ( $P < 0,01$ ).

Надалі, було визначено вміст маркерів ОС у сироватці крові кнурів обох груп. Для повного урахування інтенсивності процесів ліпопероксидації, що має прямий вплив на ушкодження клітинних мембран і зниження мітохондріального потенціалу ми визначали показники у двох напрямках – за маркерами синтезування АФО і АФН.

Задля оцінки негативного впливу АФО встановлювали кількість дієнових кон'югатів (ДК) і тіобарбітурат-активних продуктів (ТБК-АП), головним з яких є токсичний малоновий діальдегід, що є первинними і кінцевими компонентами реакцій ЛПО. В свою чергу, АФН – за вмістом стабільних метаболітів циклу Нітроген оксиду ( $\text{NO}_x$ ).

Вміст кількості маркерів оксидативного стресу відображено на рис. 6.

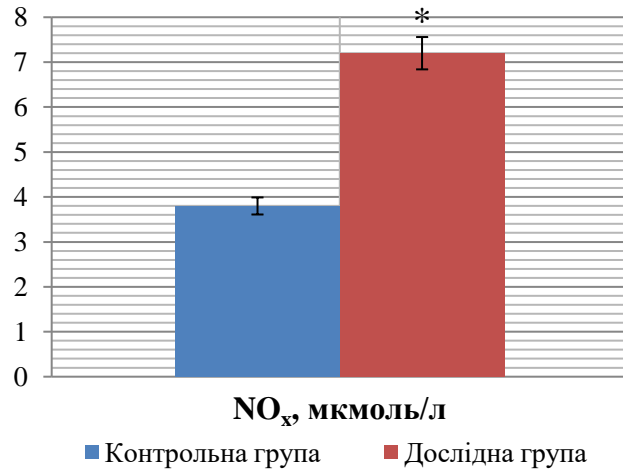


**Рис. 6. Інтенсивність процесів ліпопероксидації у сироватці крові кнурів-плідників ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).**

*Примітка:* \* –  $P < 0,001$  – порівняно з показниками контрольної групи.

У тварин контрольної групи відмічено помірний рівень ліпопероксидації: концентрація ДК становила  $2,0 \pm 0,05$  мкмоль/л, а вміст ТБК-АП –  $0,41 \pm 0,04$  мкмоль/л. Адже відомо, що потрібен певний фізіологічний рівень АКФ для процесів сперматогенезу і запліднення.

Натомість, у самців дослідної групи вміст ДК був достовірно вищим на 19,2 % ( $2,4 \pm 0,04$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ), а кількість ТБК-АП – на 90,1 % ( $0,78 \pm 0,04$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ).



**Рис. 6. Вміст стабільних метаболітів циклу NO у сироватці крові кнурів-плідників ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).**

*Примітка:* \* –  $P < 0,001$  – порівняно з показниками контрольної групи.

Характерним було значне збільшення вмісту  $NO_x$ , що показано на рис. 6. У самців з повноцінною репродуктивною здатністю він становив  $3,8 \pm 0,04$  мкмоль/л, тоді як у дослідній групі був більшим на 88,3 % ( $7,2 \pm 0,04$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ).

З отриманих даних видно, що у тварин дослідної групи відмічено наявність ОС, реалізація якого представлена поєднаними біохімічними процесами оксидативного і нітрозативного ушкоджень, зокрема, ТБК-АП через утворення основ Шиффа, які дестабілізують мембрани та призводять до їх деструкції і ДК, які пошкоджують білки і ліпопротеїди.

Отже, результати досліджень свідчать, що провідним патогенетичним фактором ланкою у зниженні репродуктивної здатності кнурів-плідників, що визначається погіршенням якості сперми, особливо показників рухливості і кількості рухливих статевих клітин у еякуляті, є наслідком підвищення продукції АФО/АФН, що підтверджено накопиченням маркерів ОС у сироватці крові самців.

### 3.1.2 Стан системи антиоксидантного захисту організму кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу

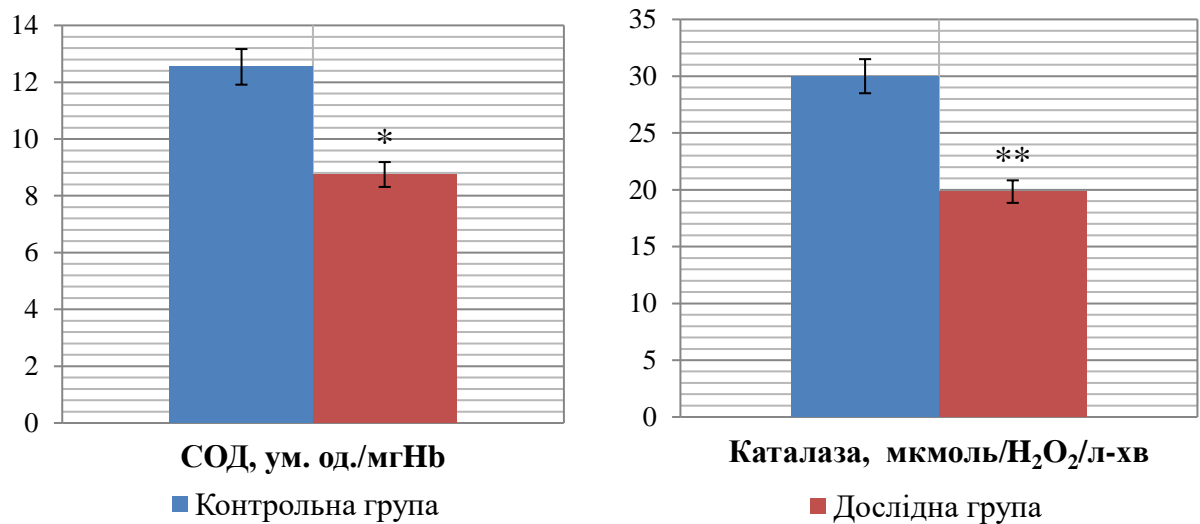
Особливий вразливості до дії біолого-технологічних факторів статевих залоз і сперми, зокрема, протистоїть потужна антиоксидантна захисна система. Крім основної захисної функції, компоненти даної системи чинять регуляторний вплив на сперматогенез і запліднення. У сперміях вона представлена здебільшого тіоловою і тіоредоксиною ланками, тоді як інші АО виявляються у значно менших кількостях.

Використання АО потенціалу статевих клітин відбувається у процесі руху спермія до овоцита у статевих шляхах, крім того у процесі зберігання і розрідження. Логічним є додавання джерел і попередників різноманітних АО у розріджувачі і середовища для сперми. Проте, висока кількість АФО/АФН, що чинять ушкоджуючий вплив на статеві клітини потребує детального вивчення взаємодії з АОЗ.

Для стану ОС характерним є не тільки підвищення синтезу й накопичення токсичних радикалів – прооксидантів, а й зниження АО потенціалу, перш за все, за рахунок компенсаторного впливу АО та збідніння пулу редокс-активних сполук. Враховуючи отримані результати щодо оксидативного навантаження організму самців зі зниженою репродуктивною здатністю за аналізом вмісту маркерів ОС було проведено визначення активності АО у цих самців.

Експериментальні дослідження проведені у двох напрямках – визначенню активності АО ензимів (каталази, СОД, GSH-Px, GSH-Rd) та оцінці вмісту неензиматичних АО (відновленого глутатіону (GSH), вітамінної ланки – А (ретинолу), Е (токоферолу) і С (аскорбінової кислоти), що дозволило всебічно дослідити систему АОЗ.

Результати дослідження активності каталази і СОД у групах кнурів наведені на рис. 7.



**Рис. 7. Супероксиддисмутазна і каталазна активність в організмі кнурів-плідників ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

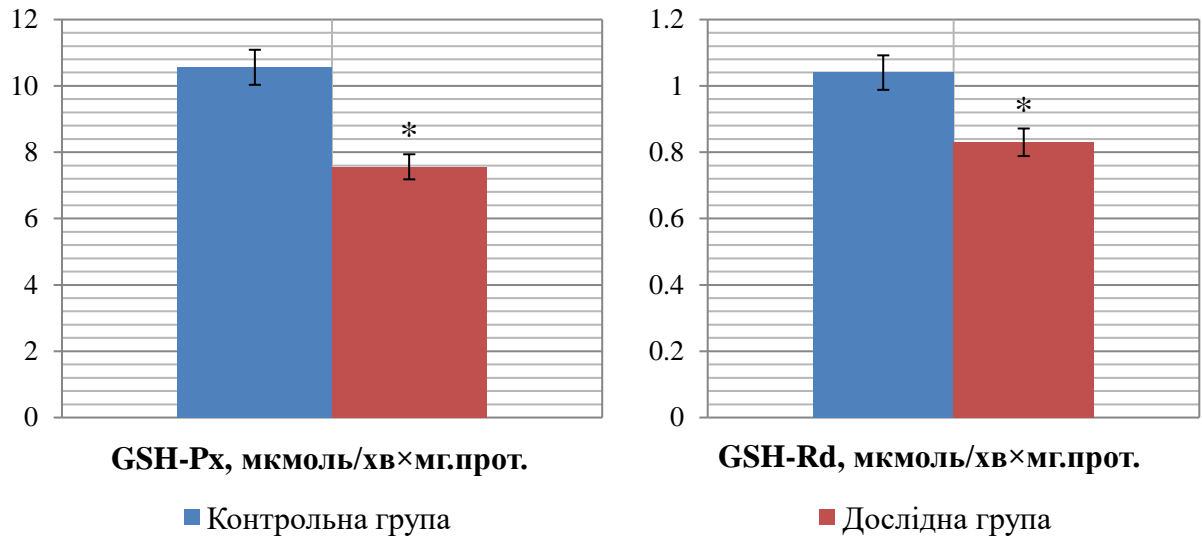
*Примітки:* \* –  $P < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,001$  статистично вірогідні дані порівняно з контролем.

У тварин контрольної групи, з повноцінним проявом репродуктивної здатності, активність каталази – АО ензиму, що знешкоджує надлишкові кількості пероксиду водню, становила  $30,0 \pm 1,16$  мкмоль/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/л-хв. При цьому, активність СОД, що каталізує дисмутацію супероксидного аніон-радикалу, була на рівні  $12,5 \pm 0,75$  ум.од./мгНв.

Натомість, у дослідній групі тварин встановлено вірогідне зниження активності АО ензимів першої ланки захисту – СОД на 30,2 % ( $8,75 \pm 0,4$  ум.од./мгНв,  $P < 0,01$ ), а каталази – на 33,9 % ( $19,8 \pm 0,44$  мкмоль/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/л-хв,  $P < 0,001$ ) порівняно з показниками контролю.

Зниження активності первинних АО ензимів є характерним для збільшення оксидативного навантаження у організмі тварин і обумовлено високим рівнем процесів пероксидації. Система АОЗ, якій властива комплексна взаємодія компонентів відповідає на вплив негативних чинників, так званим компенсаторним шляхом, проте адекватність цієї відповіді залежить від загального АО потенціалу.

Надалі встановили активність показників глутатіонової ланки АОЗ у групах самців, зокрема, GSH-Px та GSH-Rd, що наведені на рис. 8.



**Рис. 8. Глутатіонпероксидазна і глутатіонредуктазна активність в організмі кнурів-плідників ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

*Примітка:* \* –  $p < 0,05$  статистично вірогідні дані порівняно з контролем.

Активність ензимів глутатіонової ланки – GSH-Px і GSH-Rd у самців контрольної групи дорівнювала  $10,6 \pm 0,7$  мкмоль/хв×мг.прот. і  $1,04 \pm 0,06$  мкмоль/хв×мг.прот. відповідно. Слід зауважити, що дані ензими виконують комплексі функції – GSH-Px каталізує відновлення гідроперекисів ліпідів у відповідні спирти та відновлення пероксиду водню до води, а GSH-Rd сприяє відновленню окисленого глутатіону до його сульфгідрильної форми GSH.

Навпаки, у кнурів дослідної групи встановлено виражене зниження активності GSH-Px на 28,4 % ( $7,56 \pm 0,58$  мкмоль/хв×мг.прот.,  $p < 0,05$ ), тоді як активність GSH-Rd у еритроцитах була достовірно зниженою на 20,2 % ( $0,83 \pm 0,04$  мкмоль/хв×мг.прот.,  $p < 0,05$ ) порівняно з показниками контрольної групи.

При зниженні активності окремих компонентів відзначають дисбаланс антиоксидантної захисної системи. Від ступеня зменшення АО потенціалу залежить можливість адекватної відповіді на дії токсичних радикалів. Існує безліч способів оцінки балансу динаміки ПОЛ/АОЗ або їх окремих складових, зокрема, прооксидантно-антиоксидантне співвідношення, індекси



ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів, проте, на нашу думку, логічним є визначення балансу системи АОЗ за співвідношенням окремих показників.

Обчислені дані щодо балансу активності ензиматичної системи АОЗ в організмі самців наведено у табл. 2.

Таблиця 2

**Співвідношення активності ензиматичної ланки АОЗ і їх індекси у кнурів за зниження репродуктивної здатності (n=5)**

Показники	Групи тварин	
	контроль	дослід
Співвідношення активності СОД	1,3 : 0,9	
Співвідношення активності каталази	3 : 2	
<i>Індекс СОД/Каталаза, відн. од.</i>	4	3
Співвідношення активності GSH-Px	1,1 : 0,8	
Співвідношення активності GSH-Rd	1 : 0,8	
<i>Індекс GSH-Px/GSH-Rd, відн. од.</i>	4	3

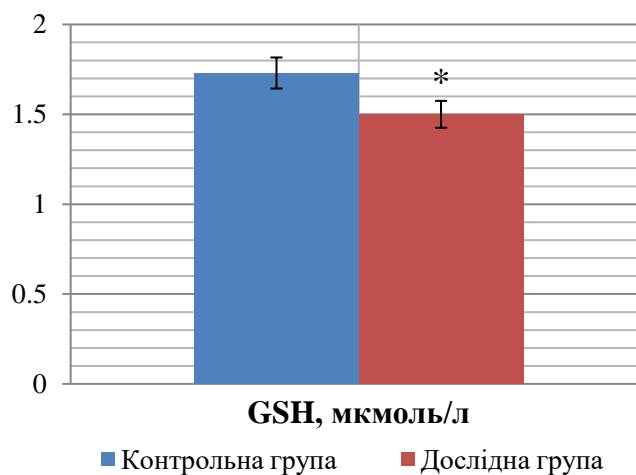
З даних таблиці видно, що співвідношення активності АО ензимів у дослідній групі самців була нижчою показників контролю, проте індекси СОД/Каталаза і GSH-Px/GSH-Rd мали однакові величини, що свідчить про збереження балансу у ензиматичній системі АОЗ. Зменшення індексів ензимів у дослідній групі свідчить про зниження АО потенціалу і підтверджує наявність окисативного ушкодження організму кнурів-плідників.

З огляду на взаємозв'язок різноманітних АО, а також участь деяких ензимів у функціонуванні неензимних речовин з вираженими антиоксидантними властивостями було встановлено вміст їх основних представників у організмі кнурів за зниження репродуктивної здатності.

Вміст компонентів неензимної ланки антиоксидантного захисту досліджували за вмістом GSH, вітамінів А, Е і С, адже саме ці сполуки відіграють значну роль у функціонуванні статевої системи самця.

Ретинол здійснює опосередковану регуляцію синтезу статевих гормонів і стимулює сперматогенез, а токофероли захищають цілісність ДНК сперміїв від токсичних радикалів, регулюють баланс вільних андрогенів і збільшують запліднюючу здатність. Аскорбінова кислота підтримує баланс в'язкості сперми і корегує імунний статус. GSH, в свою чергу, є найбільш значущим АО прямої дії, що міститься у статевих клітинах і плазмі сперми, регулюючи її окисно-відновний баланс.

Результати досліджень узагальнено на рис. 9, у якому відображено вміст GSH та у табл. 3, де показано стан вітамінного обміну.



**Рис. 9. Вміст відновленого глутатіону у сироватці крові кнурів-плідників ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).**

*Примітка:* \* –  $P < 0,001$  – порівняно з показниками контрольної групи.

У дослідній групі кнурів, репродуктивна здатність яких була зниженою, концентрація відновленого глутатіону була меншою на 13,3 % ( $1,5 \pm 0,03$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ), показників контролю, у яких вміст GSH становив  $1,7 \pm 0,03$  мкмоль/л, це пов'язано зі зниженням активності ензимів системи АОЗ, зокрема, GSH-Rd, внаслідок ОС.

**Вітамінний обмін у сироватці крові кнурів  
зі зниженням репродуктивної здатності за ОС (M±m, n=5)**

Показник	Групи тварин	
	контрольна	дослідна
Вітамін А, мкмоль/л	0,72±0,02	0,51±0,03*
Вітамін Е, мкмоль/л	7,6±0,19	5,5±0,19*
Вітамін С, мкмоль/л	12,1±0,37	8,7±0,37*

*Примітка:* \* – P<0,001 – порівняно з показниками контрольної групи.

З даних табл. 3 видно, що у самців дослідної групи вміст вітаміну А був достовірно нижчим показників контрольної групи на 29,2 % (P<0,001), вітаміну Е – на 27,6 % (P<0,001), вітаміну С – на 28,1 % (P<0,001), що свідчить про негативну динаміку вітамінного обміну у організмі.

Загалом, отримані результати показали низький вміст показників неензимної системи антиоксидантного захисту. Враховуючи подібні зміни активності ензимної ланки отримані дані свідчать про відсутність адекватної відповіді АОЗ організму самців за наявного оксидативного навантаження й необхідність застосування корегувальних засобів.

### 3.1.3 Особливості гормонального фону кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу

Завершальним етапом першої серії дослідів було дослідження гормонального фону самців з повноцінною репродуктивною здатністю та за її зниження на тлі оксидативного навантаження.

З огляду на виникнення внаслідок підвищеного синтезу АФО/АФН та/або зниження доступності антиоксидантів оксидативного навантаження у організмі самців відбувається ініціація процесів ПОЛ у тканинах гонад, інтерстиціальних ендокриноцитах, клітинах-нішах сперматогенного епітелію і безпосередньо сперміях. Це сприяє пошкодженню ліпопротеїнів, агрегації і фрагментації протеїнів, а особливо ДНК, та інгібіції стероїдогенних ензимів.

Зміни, викликані ОС у гонадах – органах-виконавцях репродуктивної функції, через пошкодження інтерстиціальних ендокриноцитів або ендокринних структур, таких як передня доля гіпофіза, що є їх органом-регулятором, відмічають зниження синтезу тестостерону і його метаболітів, та, як наслідок, виражений андрогенодефіцит.

Доведено, що за розвитку оксидативного навантаження тестикулярний естрадіол та інгібін інтенсивно виробляються, тим самим пригнічуючи вивільнення тестостерону. Це відбувається внаслідок дії кисневих радикалів на активність ароматаз, що викликають збільшення синтезу естрадіолу. Таким чином, необхідною стає оцінка рівня статевих гормонів.

Результати оцінки рівня статевих гормонів не відображають, у повній мірі, гормональний фон самця, адже частина тестостерону (до 60 %) і метаболічних сполук, наприклад, дегідротестостерон, а також естрадіол (до 20 %) від їх загального вмісту в організмі пов'язані спеціальним протеїном – тестостерон-естрадіолзв'язуючим глобуліном (ТЕЗГ). Його синтез відбувається у печінці і регулює співвідношення вільних андрогенів/естрогенів у організмі.

Біологічно активними, так званими, вільними, фракціями стероїдних гормонів у організмі є 1-3 %, тоді як 58-60 % тестостерону зв'язано у сироватці крові з альбуміном і близько 40 % із ТЕЗГ. Його концентрація також регулює утворення 5 $\alpha$ -дегідротестостерону – активного метаболіту тестостерону і вивільнення останнього з клітин-мішеней.

Тому, з метою всебічного дослідження андрогенної насиченості організму кнурів уперше було визначено вміст ТЕЗГ, враховуючи отримані дані і рівні статевих гормонів (загального тестостерону і 17 $\beta$ -естрадіолу) обчислено індекс вільних андрогенів (ІВА).

Результати дослідження змін рівня статевих гормонів і тестостерон-естрадіолове співвідношення у самців за оксидативного стресу наведено у табл. 4.

Таблиця 4

**Рівень статевих гормонів у сироватці крові кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за ОС (M $\pm$ m, n=5)**

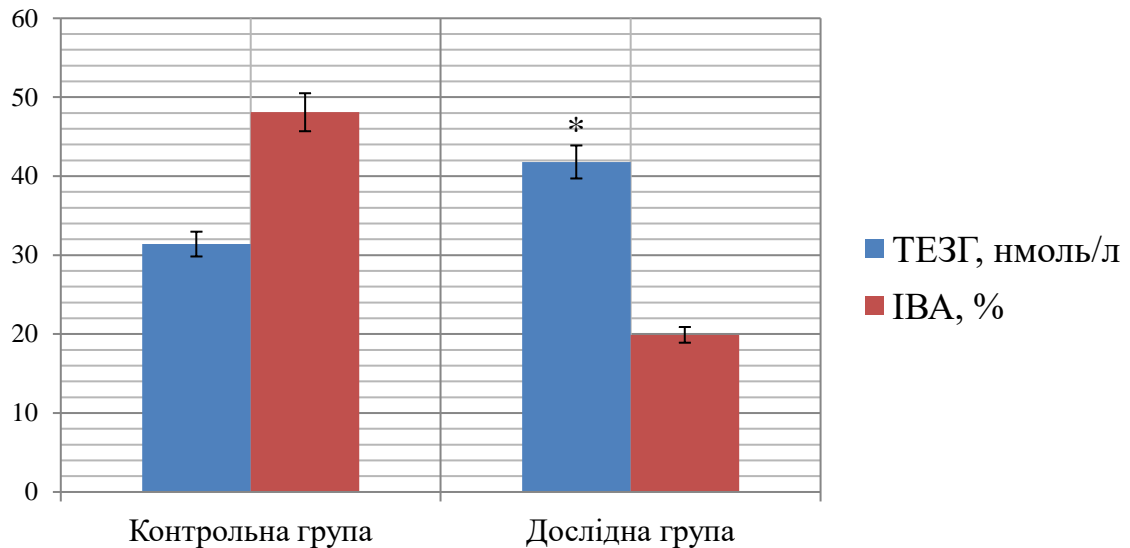
Показник	Групи тварин	
	контрольна	дослідна
Рівень загального тестостерону, нмоль/л	15,1 $\pm$ 0,48	8,3 $\pm$ 0,32*
Рівень 17 $\beta$ -естрадіолу, нмоль/л	1,33 $\pm$ 0,05	1,93 $\pm$ 0,07*
Тестостерон-естрадіолове співвідношення, ум. од.	11,4	4,3

Примітка: \* – P<0,001 – порівняно з показниками контрольної групи.

З даних таблиці, видно, що у самців дослідної групи відмічено вірогідне зменшення рівня тестостерону загального у сироватці крові на 45 % (P<0,001), тоді як вміст 17 $\beta$ -естрадіолу був більшим показників групи

контролю на 45,1 % ( $P < 0,001$ ). При цьому, значним зменшенням характеризувалося й тестостерон-естрадіолове співвідношення.

Для повноти оцінки стану андрогенної насиченості організму кнурів встановили вміст ТЕЗГ у сироватці крові самців і обчислили ІВА. Отримані дані відображено на рис. 10.



**Рис. 10. Вміст тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну і індекс вільних андрогенів у кнурів зі зниженням репродуктивної здатності**

*Примітка:* \* –  $P < 0,001$  – порівняно з показником контрольної групи.

В організмі кнурів з повноцінними показниками репродуктивної здатності вміст ТЕЗГ становив  $31,4 \pm 1,05$  нмоль/л, а отже, ІВА у групі контролю дорівнював 48,1 %.

У дослідній групі тварин відмічено зростання кількості ТЕЗГ на 33,1 % ( $41,8 \pm 1,57$  нмоль/л,  $P < 0,001$ ). Такі зміни призвели до значного зменшення індексу вільних андрогенів у організмі кнурів зі зниженням репродуктивної здатності – він склав 19,9 %.

Отримані дані показали наявність андрогенодефіцитного стану у самців дослідної групи. Це свідчить, про взаємозв'язок негативного впливу накопичення продуктів пероксидації у організмі самців на гормональну активність ендокринних залоз, та ймовірні шляхи реалізації механізмів гіпофертильності кнурів.

### *Висновок до підрозділу 3.1*

Отже, результати досліджень показали, що зниження репродуктивної здатності кнурів, особливо за показниками рухливості (на 42,9 %,  $P < 0,001$ ) і кількості рухливих сперміїв (на 55,8 %,  $P < 0,001$ ), супроводжується оксидативним дисбалансом, зокрема, накопиченням маркерів оксидативного стресу – ТБК-АП (на 90,1 %,  $P < 0,001$ ) і  $\text{NO}_x$  (на 88,3 %,  $P < 0,001$ ) на тлі зменшення потенціалу АОЗ: активності каталази і СОД (на 33,9 %,  $P < 0,001$  і на 30,2 %,  $P < 0,01$  відповідно), глутатіонового пулу – вмісту GSH (на 13,3 %,  $P < 0,001$ ), активності GSH-Px (на 28,4 %,  $P < 0,05$ ) та GSH-Rd (на 20,0 %,  $P < 0,05$ ) і вітамінної ланки (ретинолу на 29,2 %, токоферолу на 27,6 % і аскорбінової кислоти на 28,1 %,  $P < 0,001$ ), при цьому, відзначено зменшення андрогенної насиченості організму (зниження вмісту ТЕЗГ на 33,1 %,  $P < 0,001$ , ІВА становив 19,9 %). Отримані дані дозволяють сформулювати концепцію патогенезу гіпофертильності кнурів.

Результати досліджень опубліковані у наукових працях:

Koshevoy V. I. (2020); Koshevoy V. I., Naumenko S. V. (2020a); Koshevoy V. I., Naumenko S. V. (2020б); Koshevoy V. I., Naumenko S. V. (2020в); Кошевой В. И., Науменко С. В. (2020).

### **3.2 Розроблення способу корекції зниження репродуктивної здатності самців за оксидативного стресу наночастинками гадолінію ортованадату**

Надмірний синтез АФО/АФН призводять до накопичення токсичних радикалів і їх метаболітів в організмі тварин, що викликають зменшення АО потенціалу, та, як наслідок, чинять негативний вплив на гонади й інші ендокринні структури. Це призводить до зниження репродуктивної здатності – гіпофертильності, що у самців проявляється погіршенням якісних показників сперми, особливо рухливості сперміїв, гормонального дисбалансу (андрогенодефіциту). З результатів першої серії дослідів видно, що ОС є провідною ланкою у патогенезі гіпофертильності кнурів, а отже, корекція даного стану повинна бути направлена, в першу чергу, на зниження оксидативного навантаження організму самців.

До основних засобів корекції ОС належать групи препаратів, які напряду або опосередковано чинять антиоксидантний ефект або знижують інтенсивність процесів пероксидації шляхом елімінації її токсичних продуктів. Серед існуючих засобів з антирадикальними властивостями зацікавленість дослідників зосереджена на розробленні й апробації наноструктурованих матеріалів, особливо наночастинок металів, як з макро- і мікроелементів біологічна дія яких добре вивчена, так і рідкісноземельних.

Доведено позитивний вплив наночастинок гадолінію ортованадату активованих Європієм на репродуктивну функцію самців щурів за репродуктопатій і експериментального простатиту, крім того показано належність даних НЧ до IV класу токсичності, що дозволяє їх використання ссавцям. Ефективність розроблених НЧ можна пояснити підвищенням активності згаданих сполук при переході у наноформу, адже у вигляді промислових фармацевтичних композицій, які відомі на сьогодні, таких властивостей вони не виявляють.



Спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів НЧ гадолінію ортованадату засновано на редокс-активності, що виявляють дані нанокристалічні частинки і біологічній активності їх окремих хімічних складових, зокрема Ванадію і Гадолінію. Відомо, що особливістю дії сполук Ванадію є вплив на антиоксидантну захисну систему шляхом підвищення активності її ензимів, регуляція деяких внутрішньоклітинних сигнальних шляхів. Крім того, відомо що макроергічних Ванадій може викликати оксидативний стрес на клітинному рівні, тоді як у наноформі, за певних умов, ці властивості втрачаються. Натомість, спорідненість дії сполук Ванадію з інсуліном визначає його вплив на ендокринні залози.

Для встановлення ефективності використання НЧ  $Gd(VO_4) : Eu^{3+}$  провели експериментальне дослідження на лабораторних тваринах – кролях за умов tВНР-індукованого ОС. Практичне застосування способу корекції репродуктивної здатності кнурів полягало у пероральному введенні гідрозолу НЧ гадолінію ортованадату один раз на добу упродовж 14 днів. Ефективність запропонованого способу оцінювали за показниками якості сперми плідників і гормональним балансом у їх організмі, вмістом маркерів ОС і станом системи АОЗ.

Інтерпретацію результатів досліджень проводили порівнюючи дані показників дослідної групи з даними до введення НЧ і з групою контролю, що включала самців з повноцінною репродуктивною здатністю.

Даний підрозділ структурований за принципом розкриття очікуваних механізмів впливу НЧ на організм кнурів зі зниженою репродуктивною здатністю. В першу чергу, показано ефект впливу введення НЧ на вміст маркерів ОС – ДК, ТБК-АП і стабільні метаболіти циклу NO, зменшення вмісту яких сприяло б зниженню оксидативного навантаження, по-друге – на гермінативно-ендокринну здатність гонад кнурів, нормалізація якої призвела до збільшення запліднюючої здатності сперми і, по-третє, – на активність компонентів антиоксидантного захисту, що дозволило б отримати пролонгацію корегувального ефекту.

### 3.2.1 Експериментальне дослідження з визначення впливу наночастинок гадолінію ортованадату на репродуктивну функцію кролів за третбутилгідропероксид-індукованого оксидативного стресу

З'ясування впливу певних чинників на організм тварини, обґрунтування механізмів дії і оцінка перспектив застосування новітніх фармакологічних засобів стає можливим за відтворення умов розвитку певної патології. Таким чином, необхідним стає використання моделей патологічних станів для створення нових засобів їх корекції, дослідження властивостей цих засобів та ефективності.

Для цього важливим є врахування етіології й патогенетичних особливостей патології, так, наприклад, неплодність самців виникає внаслідок впливу великої кількості негативних факторів, як екзо- так і ендогенного походження, проте реалізація їх впливу визначається ініціацією процесів пероксидації, яке за певних умов призводить до критичного зниження АО потенціалу, зокрема, пригнічення активності ензимів АОЗ, та, як наслідок, накопичення токсичних радикалів. Такі радикали руйнують мембрани клітин, їх ДНК, зменшують мітохондріальний потенціал. Сукупність таких негативних змін є особливо вразливим для статевої функції й повноцінності процесу запліднення.

Більшість відомих моделей ОС викликаються індукторами, основними з яких є чотирхлористий карбон ( $CCl_4$ ), галактозамін (GalN), парацетамол, етиловий спирт, тощо. Ці моделі використовуються, як правило, для моделювання окисних ушкоджень *in vitro*, тоді як лише обмежена кількість речовин здатні викликати окисне навантаження організму тварини в цілому.

Серед існуючих моделей ОС *in vivo* було обрано ту, що базується на застосуванні стабільної речовини – третбутилгідропероксиду (tBHP), якій властиво збільшувати інтенсивність процесів пероксидації в організмі самців сприяючи синтезу більшості відомих АФО. Крім того, доведеною є негативна дія tBHP на морфологію статевих залоз самців і якісні показники сперми.

З огляду на дані літературних джерел щодо унікальних скавенджерних властивостей НЧ ванадатів рідкісноземельних елементів та їх позитивного впливу на статеву систему самців було проведено експериментальне дослідження з визначення впливу гідрозолу НЧ гадолінію ортованадату на репродуктивну функцію лабораторних тварин – статевозрілих кролів за tВНР-індукованого ОС.

У таблиці 5 показано результати оцінки якості сперми кролів за tВНР-індукованого ОС та корекції НЧ гадолінію ортованадату.

Таблиця 5

### Якісні показники еякулятів кролів

Показники	Групи тварин:				
	контрольна (n=12)	дослідна I (n=12)	дослідна II (n=12)		
			55-та доба	70-та доба	85-та доба
Об'єм еякуляту, см <sup>3</sup>	0,74±0,03 <sup>a</sup>	0,53±0,02 <sup>ab</sup>	0,51±0,02 <sup>ac</sup>	0,62±0,03 <sup>b</sup>	0,71±0,02 <sup>bc</sup>
Концентрація спермійв, ×10 <sup>6</sup> кл./см <sup>3</sup>	296,42±2,03 <sup>a</sup>	271,64±1,39 <sup>ab</sup>	272,98±1,34 <sup>abc</sup>	281,94±1,78 <sup>bc</sup>	284,40±1,94 <sup>c</sup>
Рухливість спермійв, %	84,40±2,07	72,10±1,49	71,20±1,53	78,40±2,18	81,60±1,50
Кількість живих спермійв, %	86,30±2,11	73,40±2,36	75,60±2,87	84,80±2,15	87,20±2,08
Вміст морфологічно аномальних спермійв, %	14,30±1,27	20,70±1,08	21,00±0,71	17,60±0,68	15,40±1,36

*Примітки.* <sup>a, b, c</sup> – статистично вірогідні зміни даних, що йдуть в одному рядку з різними верхніми індексами (ANOVA, P < 0,05).

Так, у тварин дослідної групи I індукований ОС викликав зниження основних характеристик еякуляту, зокрема об'єму на 28,4 % (P < 0,001),

кількості живих на 15,0 % ( $P < 0,05$ ) і рухливих на 14,6 % ( $P < 0,001$ ) та концентрації сперміїв на 8,4 % ( $P < 0,001$ ), при цьому значно збільшувався вміст морфологічно аномальних клітин (на 44,8 %,  $P < 0,05$ ).

За застосування НЧ гадолінію ортованадату спостерігали позитивну динаміку змін репродуктивної функції кролів. Так, відбулося збільшення об'єму еякуляту на 17,0 % ( $P < 0,05$ ) і 34,0 % ( $P < 0,001$ ) на 70-ту й 85-ту добу відповідно, порівняно з даними дослідної групи I. При цьому, відзначено збільшення вмісту живих і кількості рухливих сперміїв в еякуляті: на 70-ту добу на 15,5 % і 8,7 % відповідно ( $P < 0,05$ ), а на 85-ту добу – на 18,8 % і 13,2 % відповідно ( $P < 0,001$ ).

Незначних змін зазнала концентрація статевих клітин – на 70-ту і 85-ту добу експерименту вона збільшилася на 3,8 % і 4,7 % відповідно ( $P < 0,001$ ). Натомість, відмічено зменшення вмісту морфологічно аномальних сперміїв відмічено на 70-ту добу (на 15,0 %,  $P < 0,05$ ), тоді як на 85-ту добу експерименту він був достовірно нижчим показнику дослідної групи I на 25,6 % ( $P < 0,05$ ).

Отримані зміни гермінативної функції статевих залоз кролів супроводжувалися подібними позитивними змінами ендокринної системи та, загалом, нормалізували андрогенну насиченість організму самців. Динаміка статевих гормонів в організмі кролів за tВНР-індукованого ОС та корекції НЧ гадолінію ортованадату відображена у табл. 6.

З даних таблиці 6 видно, що у тварин дослідної групи I рівень  $T_{сзг}$  був зменшеним на 56,8 % ( $P < 0,001$ ), тоді як  $17-\beta-E$  і вміст ТЕЗГ були вищими на 25,2 % ( $P < 0,05$ ) і 41,2 % відповідно ( $P < 0,001$ ) показників групи контролю. Внаслідок таких змін значення ІВА становило лише 12,6 %, що свідчило про негативну динаміку вмісту метаболічно активних андрогенів.

Вплив НЧ гадолінію ортованадату на гормональний баланс в організмі кролів мав неоднозначний характер – відмічали значне збільшення рівня

$T_{сзг.}$  у сироватці крові – на 30,2 % і в 1,13 разів на 30-ту і 45-ту добу експерименту відповідно ( $P < 0,05-0,001$ ).

Таблиця 6

### Динаміка статевих гормонів в організмі кролів

Показники	Групи тварин:				
	контрольна (n=12)	дослідна I (n=12)	дослідна II (n=12)		
			15-та доба	30-та доба	45-та доба
Загальний тестостерон, нмоль/л	4,21±0.17 <sup>a</sup>	1,82±0.07 <sup>ab</sup>	1,84±0.06 <sup>ac</sup>	2,37±0.11 <sup>b</sup>	3,89±0.14 <sup>c</sup>
17-β-естрадіол, нмоль/л	1,31±0.05 <sup>a</sup>	1,64±0.06 <sup>ab</sup>	1,61±0.05 <sup>c</sup>	1,58±0.04	1,37±0.03 <sup>c</sup>
Тестостерон-естрадіолзв'язуючий глобулін, нмоль/л	10,24±0.33 <sup>a</sup>	14,46±0.61 <sup>ab</sup>	14,12±0.58 <sup>ac</sup>	13,23±0.47 <sup>b</sup>	10,67±0.36 <sup>c</sup>
Індекс вільних андрогенів, %	41,1	12,6	13,0	17,9	36,5

*Примітки.* <sup>a, b, c</sup> – статистично вірогідні зміни даних, що йдуть в одному рядку з різними верхніми індексами (ANOVA,  $P < 0,05$ ).

Збільшення рівня  $T_{сзг.}$  супроводжувалося незначними коливаннями рівня 17-β-Е і ТЕЗГ, що мали тенденцію до зниження на 30-ту добу після застосування НЧ і були достовірно меншими показників групи дослідної групи I на 16,5 % ( $P < 0,05$ ) і 26,2 % ( $P < 0,001$ ) відповідно на 45-ту добу.

Слід відмітити, що динаміка змін всередині дослідної групи II підтверджує ефективність застосування НЧ гадолінію ортованадату – так, на 45-ту добу експерименту, рівень  $T_{сзг.}$  збільшився в 1,11 рази ( $P < 0,001$ ), а 17-β-Е зменшився на 14,9 % ( $P < 0,05$ ), тоді як кількість ТЕЗГ була меншою на 24,4 % ( $P < 0,001$ ) показників до введення НЧ.

Динаміку прооксидантно-антиоксидантної системи у кролів наведено у табл. 7-9. Для комплексної оцінки антирадикальних властивостей НЧ

гадолінію ортованадату було проведено аналіз їх впливу на інтенсивність процесів ліпопероксидації у сироватці крові, каталазну й супероксиддисмутазну активність і стан тіол-дисульфідної ланки АОЗ (глутатіону і його ензимів).

У кролів дослідної групи I спостерігали зміни окислювального балансу в бік зростання оксидативного навантаження. Так, вміст первинних продуктів ліпопероксидації – ДК був вищим на 57,9 % ( $P < 0,001$ ) показників групи контролю, а кількість ТБК-АП, серед яких МДА, з вираженими токсичними властивостями, збільшувалася на 48,3 % ( $P < 0,001$ ). Отже, введення tВНР викликало значну інтенсифікацію процесів ВРО, що позначалося сталим станом ОС у організмі самців.

Таблиця 7

### Динаміка процесів пероксидації у сироватці крові кролів

Показники	Групи тварин:				
	контрольна (n=12)	дослідна I (n=12)	дослідна II (n=12)		
			15-та доба	30-та доба	45-та доба
Дієнові кон'югати, мкмоль/л	1,21±0,04 <sup>a</sup>	1,91±0,06 <sup>ab</sup>	1,84±0,05 <sup>ac</sup>	1,63±0,04 <sup>b</sup>	1,28±0,04 <sup>bc</sup>
Тіобарбітурат- активні продукти, мкмоль/л	0,87±0,03 <sup>a</sup>	1,29±0,03 <sup>ab</sup>	1,27±0,03 <sup>ac</sup>	1,14±0,03 <sup>b</sup>	0,93±0,03 <sup>bc</sup>

*Примітки.* <sup>a, b, c</sup> – статистично вірогідні зміни даних, що йдуть в одному рядку з різними верхніми індексами (ANOVA,  $P < 0,05$ ).

Динаміка процесів пероксидації за застосування НЧ зазнавала позитивних змін. Кількість ДК знижувалася на 30-ту і 45-ту добу на 14,7 % та 33,0 % відповідно ( $P < 0,001$ ). Також відмічали поступову елімінацію ТБК-АП, що на 30-ту добу знижувалася на 11,6 % ( $P < 0,05$ ), а на 45-ту добу була меншою показників дослідної групи I на 27,9 % ( $P < 0,001$ ). Таким чином,

результати довели ефективне корегування стану ОС за введення НЧ гадолінію ортованадату.

Натомість, динаміка різних ланок АОЗ у організмі кролів покращувалася, особливо, за вмістом глутатіону і його ензимів. У табл. 8 показано активність каталази і СОД у організмі кролів за індукованого ОС та застосування НЧ.

Таблиця 8

**Динаміка каталазної й супероксиддисмутазної активності  
у сироватці крові кролів**

Показники	Групи тварин:				
	контрольна (n=12)	дослідна I (n=12)	дослідна II (n=12)		
			15-та доба	30-та доба	45-та доба
Активність каталази, мкмоль/Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /л-хв	83,27±1,21 <sup>a</sup>	64,15±1,42 <sup>ab</sup>	63,06±1,36 <sup>abc</sup>	73,10±1,44 <sup>b</sup>	81,10±0,89 <sup>bc</sup>
Активність СОД, ум.од./мгНв	12,14±0,13 <sup>a</sup>	7,21±0,17 <sup>ab</sup>	7,46±0,26 <sup>abc</sup>	9,04±0,11 <sup>b</sup>	11,05±0,09 <sup>bc</sup>

*Примітки.* <sup>a, b, c</sup> – статистично вірогідні зміни даних, що йдуть в одному рядку з різними верхніми індексами (ANOVA, P <0,05).

За введення розчину tВНР у тварин дослідної групи I спостерігали негативну динаміку компонентів антиоксидантної захисної системи. Так, значно зменшувалася активність ензимів первинного захисту: СОД на 40,6 % (P<0,001), а каталази на 23,0 % (P<0,001) порівняно з контрольними величинами. Це унеможливило адекватність відповіді організму на дію застосованого токсичного чинника.

У тварин дослідної групи II під впливом НЧ гадолінію ортованадату відзначали поступову нормалізацію активності даних ензимів – на 30-ту добу експерименту активність СОД і каталази зростала на 25,4 % та 14,0 % (P<0,001) порівняно з дослідною групою I, тоді як на 45-ту добу

експерименту – збільшувалася на 53,3 % та 26,4 % відповідно ( $P < 0,001$ ), що майже досягало контрольних значень.

Подібний характер впливу НЧ мали й на динаміку глутатіонового пулу АОЗ. У табл. 9. наведено дані стану тіол-дисульфідної ланки АОЗ у організмі кролів. Введення tВНР сприяло виснаженню антиоксидантів, в тому числі з даних табл. 9 видно, що у самців дослідної групи I відзначено зменшення вмісту GSH на 37,2 % ( $P < 0,001$ ) та активності GSH-Px та GSH-Rd на 28,7 % і 20,8 % відповідно ( $P < 0,001$ ) порівняно з групою контролю.

Таблиця 9

### Динаміка глутатіонової ланки АОЗ у сироватці крові кролів

Показники	Групи тварин:				
	контрольна (n=12)	дослідна I (n=12)	дослідна II (n=12)		
			15-та доба	30-та доба	45-та доба
GSH, мкмоль/л	7,12±0,38 <sup>a</sup>	4,47±0,28 <sup>ab</sup>	4,59±0,34 <sup>ac</sup>	6,15±0,34 <sup>b</sup>	7,45±0,47 <sup>bc</sup>
GSH-Px, мкмоль/хв×мг.прот.	15,12±0,24 <sup>a</sup>	10,78±0,17 <sup>ab</sup>	11,86±0,19 <sup>ac</sup>	14,13±0,20 <sup>b</sup>	16,90±0,22 <sup>bc</sup>
GSH-Rd, мкмоль/хв×мг.прот.	2,36±0,04 <sup>a</sup>	1,87±0,03 <sup>ab</sup>	1,84±0,04 <sup>ac</sup>	2,07±0,05 <sup>b</sup>	2,48±0,03 <sup>bc</sup>

*Примітки.* <sup>a, b, c</sup> – статистично вірогідні зміни даних, що йдуть в одному рядку з різними верхніми індексами (ANOVA,  $P < 0,05$ ).

Слід зазначити, що особливістю дії використаних НЧ було відновлення пулу глутатіонової ланки антиоксидантного захисту – вже на 30-ту добу експерименту вміст GSH підвищувався на 37,6 % ( $P < 0,001$ ), активність GSH-Px зростала на 31,1 %  $P < 0,001$ , а GSH-Rd і на 10,7 % ( $P < 0,01$ ).

Наприкінці дослідження дані показники були вищими порівняно з дослідною групою I, зокрема, кількість GSH на 66,7 % ( $P < 0,001$ ), а активність GSH-Px на 56,8 % ( $P < 0,001$ ), а GSH-Rd на 32,6 % ( $P < 0,001$ ). Зазначимо, що отримані показники перевищували дані контрольних величин



– активність GSH-Px на 11,8 % ( $P < 0,05$ ), вміст GSH на 4,6 % ( $P < 0,05$ ), активність GSH-Rd мала тенденцію до збільшення на 5,1 %.

Отримані зміни свідчать про наявність комплексного позитивного впливу НЧ гадолінію ортованадату на репродуктивну функцію самців кролів за оксидативного стресу, та, дають підстави розробити спосіб застосування даних НЧ як коректорів репродуктивної здатності кнурів.

### **3.2.2 Ефективність використання наночастинок гадолінію ортованадату для корекції оксидативного навантаження в організмі кнурів**

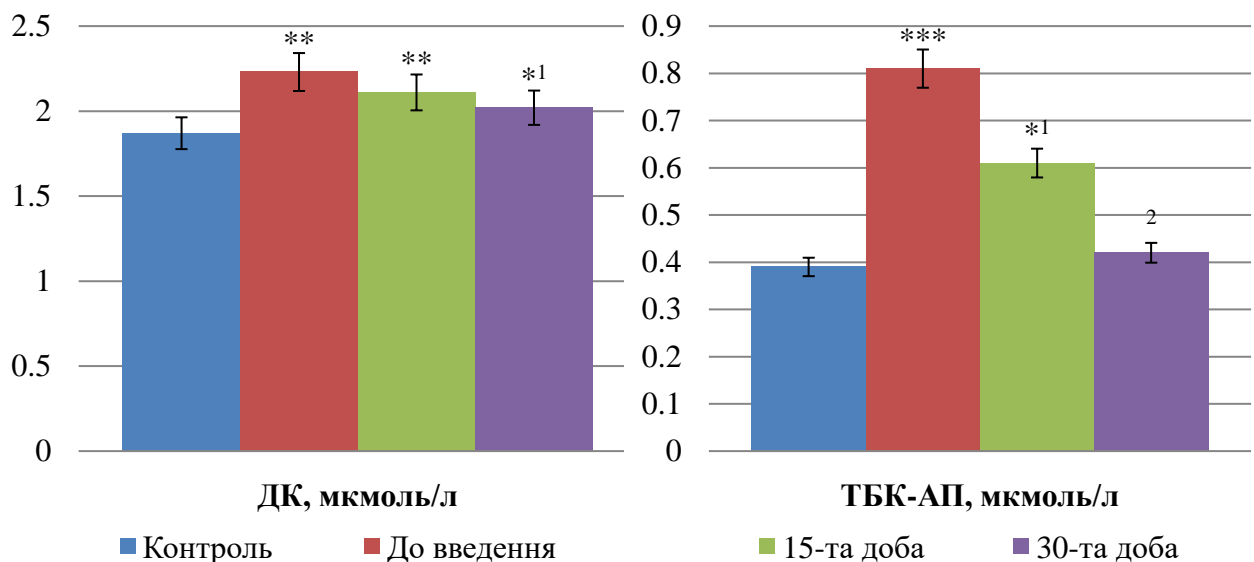
Токсичні продукти пероксидації, особливо ліпідів і протеїнів, здатні викликати патологічні процеси в організмі тварин. Особливого значення це набуває в статевій системі, адже ушкодження ДНК і статевих клітин призводить до незворотніх наслідків. Це стає важливим враховуючи сезонність прояву цих процесів і можливу відсутність адекватної відповіді на них антиоксидантної захисної системи, особливо, при поєднаній дії негативних чинників – індукторів пероксидації.

За застосування корегувальних чинників різноманітної хімічної природи спостерігають посилення типових реакцій, що знешкоджують токсичні радикали за принципом одноелектронного заміщення. Дослідити динаміку цих процесів можливо за визначення вмісту АФК/АФН, що є високореактогенними сполуками, або ж за їх метаболітами, які є більш стабільними. Отримати об'єктивну інформацію щодо інтенсивності процесів біологічного окислення в організмі самця дозволяє визначення вмісту маркерів ОС у біологічних рідинах – крові, її сироватці або плазмі, спермі або спермальній плазмі.

Для оцінки ефективності використання наночастинок гадолінію ортованадату для корекції оксидативного стресу було визначено вміст ДК, ТБК-АП і стабільних метаболітів циклу NO у сироватці крові кнурів до введення НЧ, після завершення корекції – на 15-ту добу, й для встановлення пролонгованості ефекту – на 30-ту добу експерименту.

Показники самців групи контролю, з повноцінною репродуктивною здатністю, використовували як еталон порівняння для встановлення ефективності впливу розробленого способу корекції. Так, вміст маркерів ОС у тварин контрольної групи становив: ДК –  $1,87 \pm 0,03$  мкмоль/л, ТБК-АП –  $0,39 \pm 0,04$  мкмоль/л, а стабільних метаболітів циклу NO –  $3,96 \pm 0,07$  мкмоль/л.

Аналізуючи результати біохімічних досліджень, встановлено наявність стану ОС у самців дослідної групи до введення НЧ (рис. 11) – вміст ДК був достовірно вищим показників контролю на 19,3 % ( $2,23 \pm 0,07$  мкмоль/л,  $P < 0,01$ ). Також виявлено підвищення концентрації ТБК-АП у сироватці крові в 1,07 рази ( $0,81 \pm 0,04$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ).

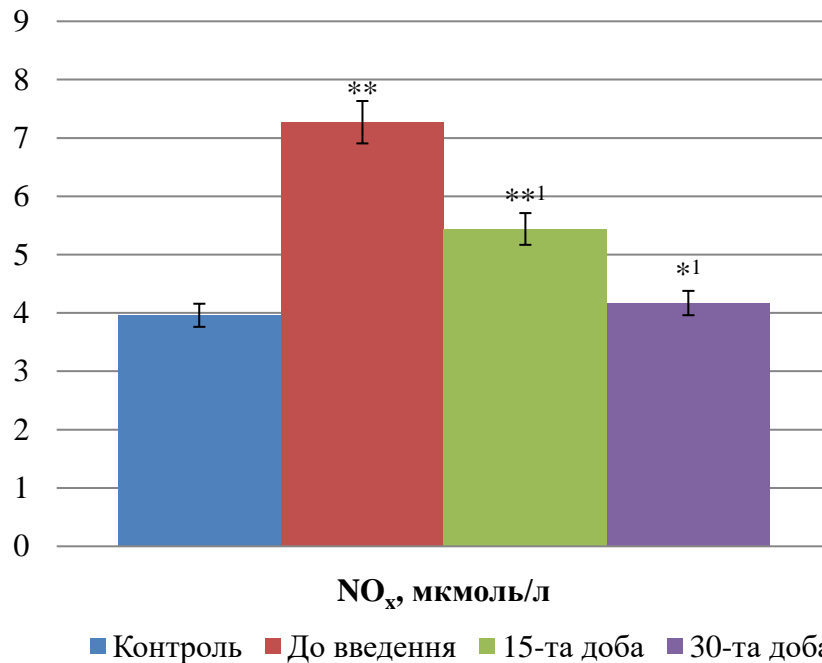


**Рис. 11. Інтенсивність процесів пероксидації у сироватці крові кнурів за корекції наночастинками гадолінію ортованадату**

*Примітки.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю; <sup>1</sup>  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup>  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

Значно збільшеною була й кількість стабільних метаболітів циклу Нітрогену оксиду (рис. 12) – на 83,6 % ( $7,27 \pm 0,11$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ) порівняно з групою контролю. Вірогідне підвищення вмісту даних показників свідчить про збільшення інтенсивності процесів пероксидації і наявність нітрозивного ушкодження організму кнурів, що є провідною причиною зниження репродуктивної здатності й узгоджується з раніше отриманими даними.

Отримані дані щодо інтенсивності оксидативного навантаження підтверджують необхідність застосування корегувальних засобів з вираженою редокс-активністю.



**Рис. 12. Вміст стабільних метаболітів циклу NO у сироватці крові кнурів за корекції наночастинками гадолінію ортованадату**

*Примітки.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю;

<sup>1</sup>  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

З даних рис. 11 і 12 видно, що за використання НЧ гадолінію ортованадату активованих європієм спостерігали зниження інтенсивності процесів пероксидації у сироватці крові кнурів. При цьому, досліджувані показники мали позитивну динаміку змін вже на 15-ту добу дослідження: кількість ДК мала тенденцію до зниження й була на 5,4 % менше показників до введення ( $2,11 \pm 0,04$  мкмоль/л), а концентрація ТБК-АП була достовірно меншою на 24,7 % ( $0,61 \pm 0,06$  мкмоль/л,  $P < 0,05$ ). Кількість стабільних метаболітів циклу NO була нижчою на 25,2 % ( $5,44 \pm 0,11$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ). Отримані дані показали ефективність введення НЧ для зменшення

оксидативного навантаження і позитивний вплив способу корекції на динаміку пероксидації.

На 30-ту добу дослідження у сироватці крові спостерігали відновлення прооксидантного балансу, який майже сягав показників контрольної групи. Вміст ДК було достовірно зменшено на 9,4 % ( $2,02 \pm 0,05$  мкмоль/л,  $P < 0,05$ ), концентрація ТБК-АП була нижчою показників групи до введення на 48,2 % ( $0,42 \pm 0,04$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ). Це свідчить про зниження інтенсивності процесів ЛПО й наявність пролонгованого ефекту введення гідрозолу НЧ. Подібні зміни відзначені у циклі Нітрогену оксиду – його кількість була меншою на 42,6 % ( $4,17 \pm 0,05$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ) показників до введення. Отже, результатами досліджень показано ефективність використання НЧ гадолінію ортованадату для корекції ОС у організмі кнурів.

### **3.2.3 Вплив застосування наночастинок гадолінію ортованадату на показники якості сперми кнурів**

Попередніми дослідженнями підтверджено значне зниження показників рухливості і кількості рухливих сперміїв у еякулятах кнурів за оксидативного навантаження внаслідок накопичення АФО і АФН у організмі, особливо показників рухливості і кількості рухливих сперміїв у еякуляті. Погіршення показників якості сперми призводить до значного зниження її запліднюючої здатності, може викликати негативні наслідки у приплоду.

Корекція ОС в організмі кнурів за зниження репродуктивної здатності НЧ гадолінію ортованадату позитивно впливає на динаміку сперміогенезу, що встановлено за результатами оцінки якості сперми тварин дослідної групи і показано у табл. 10. Важливо відмітити, що дія наночастинок на показники якості сперми була комплексною, тобто впливала на всі основні оцінювані компоненти – об'єм, концентрацію і рухливість, вміст морфологічно аномальних статевих клітин.

**Показники якості сперми кнурів за корекції наночастинками гадолінію ортованадату (M±m, n=5)**

Показник	Групи тварин			
	контроль	Дослід		
		до введення	60 доба	90 доба
Об'єм еякуляту, см <sup>3</sup>	209,5±3,2	173,5±3***	183,6±2,9*** <sup>1</sup>	199,7±2,5 <sup>3</sup>
Концентрація спермій, млрд/см <sup>3</sup>	0,19±0,003	0,17±0,003**	0,18±0,002* <sup>1</sup>	0,19±0,003 <sup>2</sup>
Рухливість, бали	8,6±0,3	4,2±0,4***	6±0,3*** <sup>2</sup>	8,2±0,4 <sup>3</sup>
Кількість рухливих спермій у еякуляті, млрд	34,2±1,02	12,6±1,32***	19,8±1,19*** <sup>2</sup>	31,3±1,62 <sup>3</sup>
Вміст спермій із морфологічними аномаліями, %	15,4±0,6	19,1±0,4***	18,2±0,4**	15,6±0,6 <sup>2</sup>

*Примітки.* \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001 – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю; <sup>1</sup> P<0,05; <sup>2</sup> P<0,01; <sup>3</sup> P<0,001 – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

Зниження репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу визначається погіршенням показників якості сперми, при оцінці яких було встановлено, що у самців дослідної групи були значно зниженими показники рухливості спермій (на 51,2 %, P<0,001) і кількості рухливих спермій у еякуляті (на 63,2 %, P<0,001), також відмічено зменшення об'єму еякуляту на 17,2 % (P<0,001) і концентрації спермій на 10,5 % (P<0,01), тоді як вміст

сперміїв із морфологічними аномаліями був достовірно вищим на 24 % ( $P < 0,001$ ) показників контрольної групи.

Так, на 60-ту добу дослідження показник рухливості сперміїв був достовірно вищим показників тварин до введення гідрозолу НЧ на 42,9 % ( $P < 0,01$ ), при цьому кількість рухливих сперміїв у еякуляті була вищою на 57,1 % ( $P < 0,01$ ). В цілому якість отриманої сперми була вищою ніж до введення НЧ – об'єм еякуляту на 5,8 % ( $P < 0,05$ ), концентрація сперміїв на 5,9 % ( $P < 0,05$ ), а вміст сперміїв із морфологічними аномаліями мав тенденцію до зниження. Ймовірно, це забезпечить економічну ефективність застосування даного способу корекції.

Оцінюючи ефективність корекції ОС НЧ гадолінію ортованадату відзначено, що на 90-ту добу дослідження показники якості еякулятів майже досягали значень контрольної групи самців. Особливо чутливі до дії ОС показники рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті достовірно підвищувалися на 95,2 % ( $P < 0,001$ ) та в 1,48 рази ( $P < 0,001$ ) відповідно до показників групи тварин до введення. Позитивний вплив наночастинок відмічено на динаміку об'єму еякуляту, який на 90-ту добу дослідження був вищим на 15,1 % ( $P < 0,001$ ), концентрації сперміїв, що була вищою на 11,8 % ( $P < 0,01$ ). Вміст сперміїв з морфологічними аномаліями зменшувався на 18,3 % ( $P < 0,01$ ).

Результати дослідження спермограми кнурів після корекції ОС доводять наявність спермомодельючої дії НЧ на основі оксидів рідкісноземельних елементів, дозволяє рекомендувати його до практичного впровадження й розробки способів корекції гіпофертильності різного генезу у самців різних видів.

### **3.2.4 Рівні статевих гормонів і андрогенна насиченість організму кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за корекції наночастинками гадолінію ортованадату**

Повноцінність прояву репродуктивної функції регулюється гормональним балансом, а його зміни призводять до негативних наслідків, зокрема зниження якості сперми та втрачання можливості отримання нормального приплоду. Слід зазначити, що реалізація процесів сперматогенезу й запліднювальна здатність сперми залежать від андрогенної насиченості організму. Отже, важливим завданням оцінювання ефективності засобу корекції зниження репродуктивної здатності є визначення впливу його на гормональний фон.

З даних таблиці 11 видно, що у кнурів зі зниженими показниками репродуктивної здатності гормональний баланс характеризувався змінами рівней статевих гормонів – так, рівень загального тестостерону до введення НЧ був нижчим на 49,7 % ( $P < 0,001$ ) показників групи контролю, а рівень  $17\beta$ -естрадіолу збільшувався на 47,7 % ( $P < 0,001$ ).

Введення гідрозолу НЧ гадолінію ортованадату сприяло нормалізації гормонального фону кнурів дослідної групи. Так, на 15-ту добу експерименту відмічено збільшення рівня загального тестостерону у сироватці крові самців на 22,6 % ( $P < 0,01$ ), натомість, рівень  $17\beta$ -естрадіолу мав тенденцію до зниження.

Відновлення показників гормонального фону до значень у тварин з повноцінною репродуктивною здатністю майже відбувалося на 30-ту добу експерименту – рівень тестостерону у сироватці крові кнурів збільшувався на 77,4 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з групою до введення НЧ й майже досягав значення групи контролю ( $P < 0,05$ ). Навпаки, достовірним зменшенням характеризувалися показники рівня  $17\beta$ -естрадіолу (на 25,0 %,  $P < 0,01$ ).



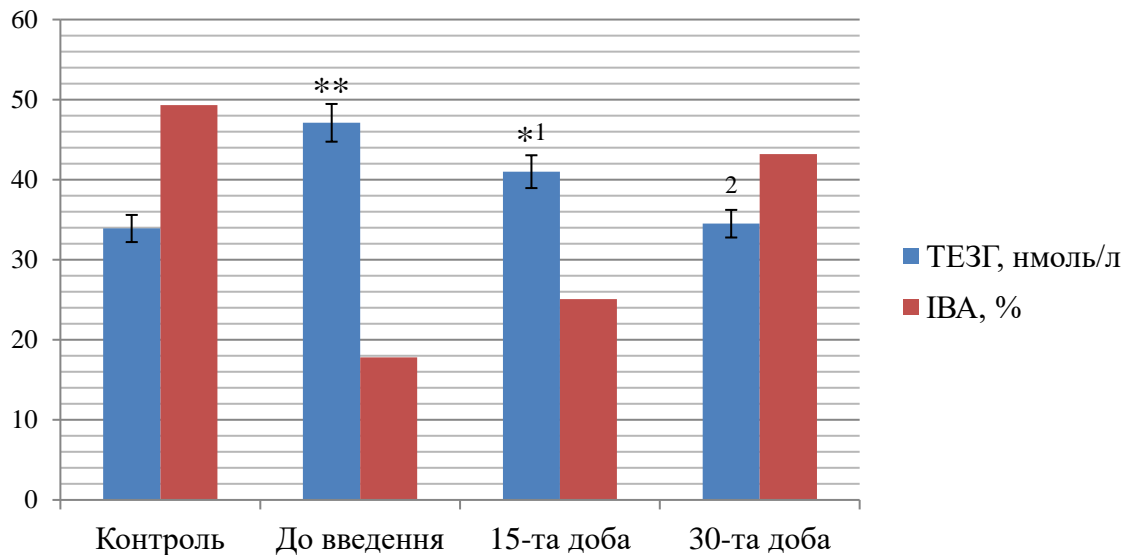
**Динаміка гормонального фону кнурів за введення наночастинок  
гадолінію ортованадату (M±m, n=5)**

Показник	Групи тварин			
	контроль	Дослід		
		до введення	15 доба	30 доба
Рівень загального тестостерону, нмоль/л	16,7±0,52	8,4±0,33***	10,3±0,31*** <sup>1</sup>	14,9±0,44* <sup>2</sup>
Рівень 17β-естрадіолу, нмоль/л	1,3±0,05	1,9±0,08***	1,7±0,07**	1,4±0,06 <sup>1</sup>
Тестостерон-естрадіолове співвідношення, ум.од.	12,9	4,4	6,1	10,6

*Примітки.* \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001 – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю; <sup>1</sup> P<0,01; <sup>2</sup> P<0,001 – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

Динаміка вмісту тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну і індексу вільних андрогенів у кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату наведено на рис. 13.

Так, у кнурів дослідної групи до введення НЧ встановлено підвищення вмісту ТЕЗГ на 38,9 % (47,1±1,48 нмоль/л, P<0,001) порівняно з тваринами контрольної групи (33,9±1,37 нмоль/л). Враховуючи рівень загального тестостерону і кількість ТЕЗГ видно, що індекс вільних андрогенів (ІВА) у даної групи тварин дорівнював 49,3 %.



**Рис. 13. Динаміка вмісту тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну і індексу вільних андрогенів у кнурів**

**за введення наночастинок гадолінію ортованадату**

*Примітки.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю;  
<sup>1</sup>  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup>  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

Після введення гідрозолу НЧ гадолінію ортованадату встановлено зменшення вмісту ТЕЗГ на 13,0 % ( $41,0 \pm 1,84$  нмоль/л,  $P < 0,05$ ), що, в свою чергу, сприяло збільшенню ІВА до 25,1 %. На 30-ту добу експерименту відмічали зменшення вмісту ТЕЗГ на 26,8 % ( $34,5 \pm 1,42$  нмоль/л,  $P < 0,001$ ). З отриманих даних видно, що ІВА у групі кнурів на 30-ту добу експерименту дорівнював 43,2 %, тобто майже досягав нормативних значень.

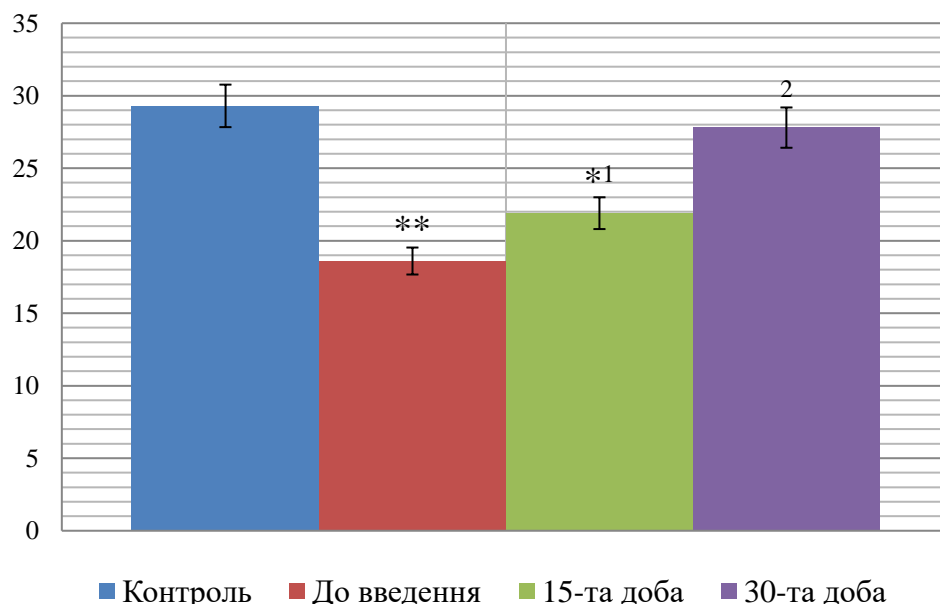
Таким чином, узагальнюючи отримані результати видно, що застосування НЧ в якості корегувального засобу призводить до нормалізації гормонального фону кнурів і посиленню андрогенної насиченості їх організму, через яке відбувається повноцінна реалізація репродуктивної здатності.

### 3.2.5 Вплив корекції наночастинками гадолінію ортованадату на антиоксидантний статус сироватки крові кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу

Антиоксидантний потенціал організму самця має значний вплив на регуляцію репродуктивної функції й повноцінність запліднення самиці. Існує прямий зв'язок між показниками відтворної здатності і станом антиоксидантної захисної системи. Саме тому, встановлення динаміки показників системи АОЗ за корекції НЧ гадолінію ортованадату, яким властивий виражений редокс-ефект, мало важливе значення.

Вплив розробленого способу корекції вивчали за двома напрямками – ензиматичної і неензиматичної (вітамінної) ланки АОЗ. Визначали активність ензимів АОЗ – каталази, СОД, GSH-Px та GSH-Rd і вміст неензимних АО – GSH, ретинолу, токоферолу і аскорбінової кислоти.

Зміни динаміки каталазної активності у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату показано на рис. 14.

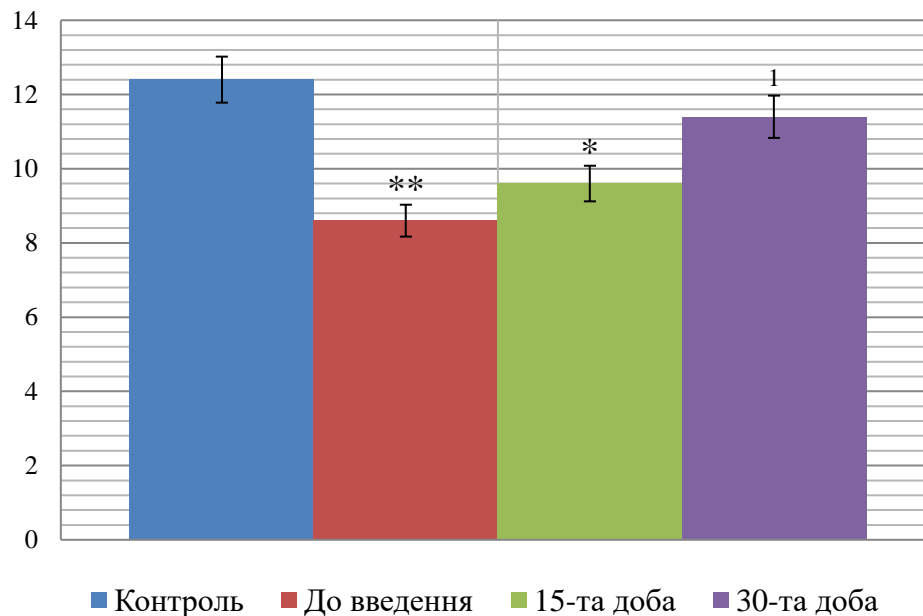


**Рис. 14. Динаміка каталазної активності у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату**

*Примітки:* \*  $P < 0,01$ ; \*\*  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю;  
<sup>1</sup>  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup>  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

У тварин дослідної групи до введення НЧ встановлено зниження активності каталази у сироватці крові кнурів на 36,5 % ( $18,6 \pm 0,64$  мкмоль/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/л-хв,  $P < 0,001$ ) порівняно з показниками контролю ( $29,3 \pm 1,35$  мкмоль/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/л-хв). Після застосування корегувального засобу, на 15-ту добу активність каталази зросла на 17,7 % ( $21,9 \pm 0,75$  мкмоль/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/л-хв,  $P < 0,05$ ). На 30-ту добу дослідження каталазна активність становила  $27,8 \pm 0,93$  мкмоль/Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/л-хв, що було вище на 49,5 % ( $P < 0,001$ ) показнику групи до введення і майже сягало значень групи контролю.

Динаміка активності СОД у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату наведена на рис. 15.



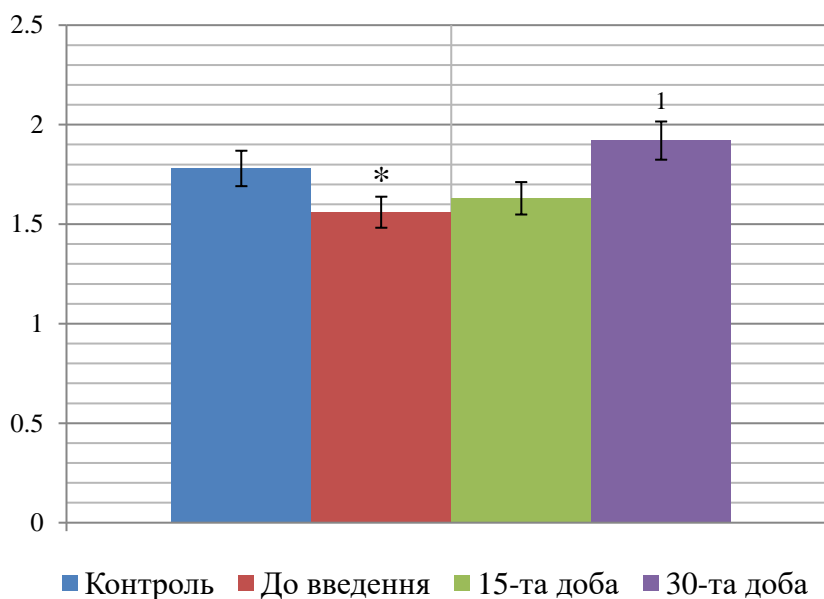
**Рис. 15. Динаміка супероксиддисмутази у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату**

*Примітки:* \*  $P < 0,01$ ; \*\*  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю;  
<sup>1</sup>  $P < 0,01$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

З даних рис. 15 видно, що активність СОД до застосування НЧ була нижчою показників контролю ( $12,4 \pm 0,57$  ум.од./мгНв) на 30,7 % ( $8,6 \pm 0,33$  ум.од./мгНв,  $P < 0,001$ ). Проте, активність СОД зазнавала позитивних змін і мала тенденцію до підвищення на 15-ту добу

експерименту, а на 30-ту добу була більшою показників до введення на 32,6 % ( $11,4 \pm 0,47$  ум.од./мгНв,  $P < 0,01$ ).

Надалі з'ясовували вплив корекції НЧ гадолінію ортованадату на стан тіол-дисульфідної ланки АОЗ організму кнурів. Динаміка вмісту відновленого глутатіону у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату показана на рис. 16.



**Рис. 16. Динаміка вмісту відновленого глутатіону у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату**

*Примітки:* \*  $P < 0,05$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю;

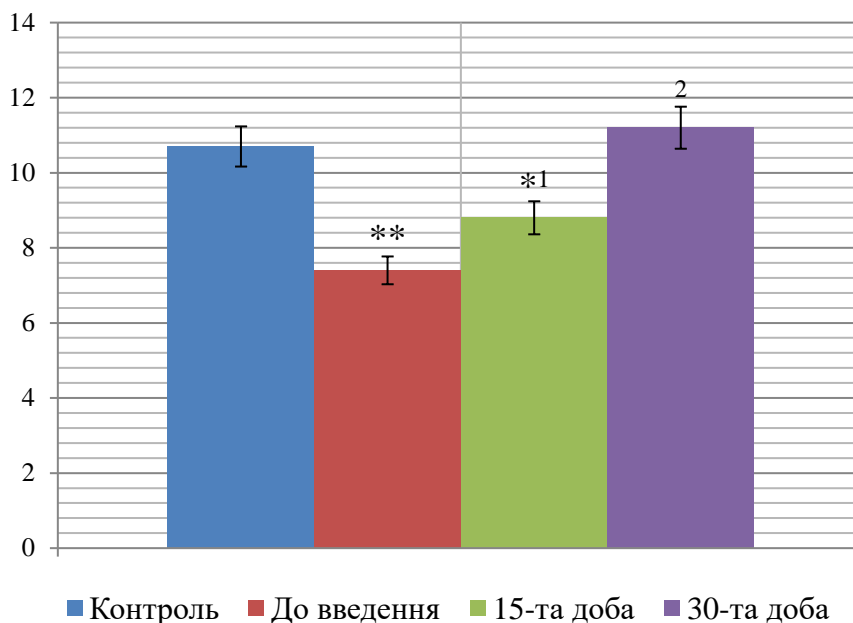
<sup>1</sup>  $P < 0,01$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

На початку дослідження вміст GSH у сироватці крові кнурів був меншим на 12,4 % ( $1,56 \pm 0,06$  мкмоль/л,  $P < 0,05$ ) показників тварин з повноцінною репродуктивною здатністю ( $1,78 \pm 0,06$  мкмоль/л). Вплив корегувального засобу сприяв збільшенню антиоксидатного потенціалу кнурів, про що свідчить наявність тенденції до підвищення вмісту відновленого глутатіону на 15-ту добу дослідження.

Наприкінці експерименту, на 30-ту добу встановлено вірогідне збільшення вмісту GSH на 23,1 % ( $1,92 \pm 0,07$  мкмоль/л,  $P < 0,01$ ), що підтверджує позитивну динаміку змін АОЗ за введення НЧ гадолінію

ортованадату. В цілому, концентрація GSH у кнурів зростала, що повинно було відзначитися на активності ензимів глутатіонової ланки, які відповідають за відновлення окисленої форми глутатіону.

Динаміка активності GSH-Px у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату показана на рис. 17.



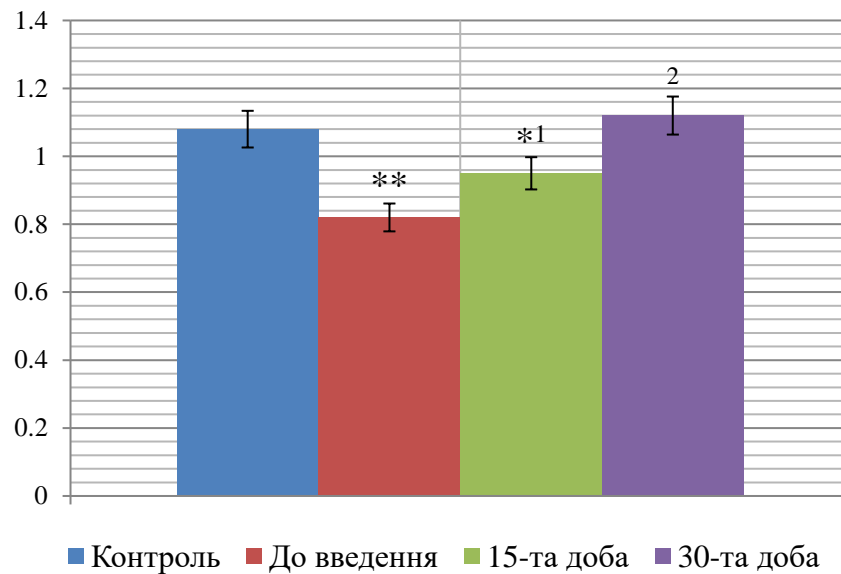
**Рис. 17. Динаміка глутатіонпероксидазної активності у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ).**

*Примітки:* \*  $P < 0,01$ ; \*\*  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю; <sup>1</sup>  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup>  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

Активність GSH-Px у сироватці крові кнурів контролю становила  $10,7 \pm 0,39$  мкмоль/хв × мг прот., тоді як у дослідній групі до введення НЧ вона була нижчою на 30,8 % ( $7,4 \pm 0,24$  мкмоль/хв × мг прот.,  $P < 0,001$ ), що загалом узгоджується з раніше отриманими даними.

Застосування НЧ сприяло посиленню антиоксидантного статусу сироватки крові самців, зокрема активності GSH-Px – на 18,9 % ( $8,8 \pm 0,35$  мкмоль/хв × мг прот.,  $P < 0,05$ ) на 15-ту добу експерименту, тоді як на 30-ту добу вона була вищою на 51,4 % ( $11,2 \pm 0,48$  мкмоль/хв × мг прот.,  $P < 0,001$ ), що навіть перевищило значення групи тварин з повноцінними показниками репродуктивної здатності.

Подібними змінами характеризувалася активність GSH-Rd у сироватці крові кнурів, що наведено на рис. 18.



**Рис. 18. Динаміка глутатіонредуктазної активності у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату**

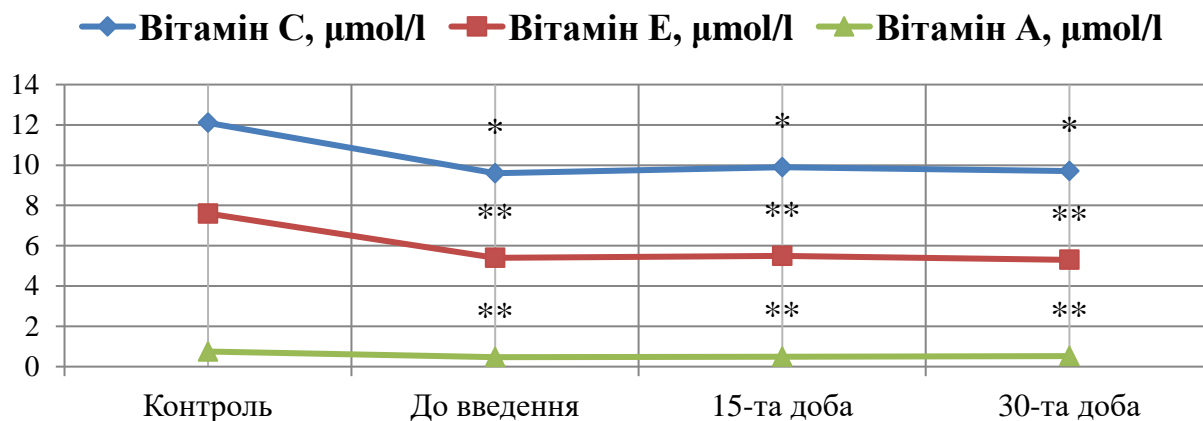
*Примітки:* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю;  
<sup>1</sup>  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup>  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

До введення НЧ у кнурів дослідної групи активність GSH-Rd була меншою на 24,1 % ( $0,82 \pm 0,04$  мкмоль/хв×мг.прот.,  $P < 0,01$ ) порівняно з показниками групи контролю ( $1,08 \pm 0,04$  мкмоль/хв×мг.прот.), що видно з даних рис. 18.

Використання НЧ гадолінію ортованадату як корегувального засобу репродуктивної здатності призводило до зростання активності GSH-Rd на 15-ту добу дослідження на 15,9 % ( $0,95 \pm 0,03$  мкмоль/хв×мг.прот.,  $P < 0,05$ ).

Слід відмітити, що на 30-ту добу експерименту глутатіонредуктазна активність зросла на 36,6 % ( $1,12 \pm 0,04$  мкмоль/хв×мг.прот.,  $P < 0,001$ ) порівняно з даними до введення НЧ, що навіть перевищило значення групи тварин з повноцінними показниками репродуктивної здатності.

Динаміка вітамінної ланки антиоксидантного захисту у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату показано на рис. 19.



**Рис. 19. Динаміка вітамінної ланки антиоксидантного захисту у сироватці крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату.**

*Примітки:* \*  $P<0,01$ ; \*\*  $P<0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю.

У самців контрольної групи вітамінна ланка АОЗ характеризувалася нормативними рівнями показників – вміст вітаміну А становив  $0,75\pm 0,03$  мкмоль/л, вітаміну Е –  $7,6\pm 0,30$  мкмоль/л, а вітаміну С –  $12,1\pm 0,42$  мкмоль/л.

На початку дослідження встановлено негативний баланс вітамінної забезпеченості організму самців – вміст вітаміну А зменшився на 37,3 % ( $0,47\pm 0,02$  мкмоль/л,  $P<0,001$ ), вітаміну Е – на 29,0 % ( $5,4\pm 0,21$  мкмоль/л,  $P<0,001$ ), а вітаміну С – на 20,7 % ( $9,6\pm 0,36$  мкмоль/л,  $P<0,01$ ).

Спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів НЧ гадолінію ортованадату не мав впливу на показники вітамінного обміну – на протязі дослідження вміст вітамінів у сироватці крові не зазнав вірогідних змін порівняно з показниками групи тварин до введення НЧ і на 30-ту добу експерименту залишався меншим показників контролю: кількість вітаміну А – на 30,7 % ( $0,52\pm 0,02$  мкмоль/л,  $P<0,001$ ), вітаміну Е – на 30,3 %



( $5,3 \pm 0,20$  мкмоль/л,  $P < 0,001$ ), а вітаміну С – на 19,8 % ( $9,7 \pm 0,36$  мкмоль/л,  $P < 0,01$ ).

Для встановлення повноцінності відновлення АО потенціалу за застосування НЧ обчислювали співвідношення динаміки змін за певними групами (каталаза/СОД, GSH-Px/GSH-Rd) і індексами АОЗ. Обчислені дані щодо балансу активності ензиматичної системи АОЗ в організмі самців наведено у табл. 12.

Таблиця 12

**Співвідношення активності ензиматичної ланки АОЗ і їх індекси у кнурів за корекції репродуктивної здатності (n=5)**

Показники	Групи тварин			
	контроль	Дослід		
		до введення	15-та доба	30-та доба
Співвідношення активності СОД	1,2	0,9	1,0	1,1
Співвідношення активності каталази	2,9	1,9	2,2	2,8
<i>Індекс СОД/Каталаза, відн. од.</i>	4	3	3	4
Співвідношення активності GSH-Px	1,1	0,7	0,9	1,1
Співвідношення активності GSH-Rd	1,1	0,8	1,0	1,1
<i>Індекс GSH-Px/GSH-Rd, відн. од.</i>	0,7	0,5	0,6	0,7

Отже, отримані результати дозволяють підтвердити наявність антиоксидантних властивостей НЧ гадолінію ортованадату, дія яких має особливий вплив на компоненти тіол-дисульфідної системи, покращує активність каталази і СОД, проте не викликає змін у вітамінному обміні.

### *Висновок до підрозділу 3.2*

Отже, проведеними дослідженнями показано ефективність використання НЧ гадолінію ортованадату для корекції репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу, зокрема, нормалізувалися показники рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті на 95,2 % ( $P < 0,001$ ) та в 1,48 рази ( $P < 0,001$ ) відповідно, тоді як об'єм еякуляту зростав на 15,1 % ( $P < 0,001$ ), концентрація сперміїв на 11,8 % ( $P < 0,01$ ), а вміст сперміїв з морфологічними аномаліями було зменшено на 18,3 % ( $P < 0,01$ ), відмічали покращення гормонального фону – рівень загального тестостерону збільшувався на 77,4 % ( $P < 0,001$ ), тоді як рівень 17 $\beta$ -естрадіолу і вмісту ТЕЗГ навпаки характеризувалися достовірним зменшенням на 25,0 % ( $P < 0,01$ ) і 26,8 % ( $P < 0,001$ ) відповідно, при цьому було встановлено зниження вмісту маркерів ОС – ДК на 9,4 % ( $P < 0,05$ ), ТБК-АП на 48,2 % ( $P < 0,001$ ), а NO<sub>x</sub> на 42,6 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з даними до введення і посилення антиоксидантного потенціалу організму самців – вміст GSH був вищим на 23,1 % ( $P < 0,01$ ), активність GSH-Px була вищою на 51,4 % ( $P < 0,001$ ), а GSH-Rd зростала на 36,6 % ( $P < 0,001$ ), що перевищувало дані контролю, у той же час каталазна й СОД активність були вищими на 49,5 % ( $P < 0,001$ ) і 32,6 % ( $P < 0,01$ ) відповідно, при цьому впливу НЧ на показники вітамінного обміну відзначено не було.

Результати досліджень опубліковані у наукових працях:

Koshevoy V. I. (2020); Koshevoy V. I., Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L. (2021a,b,c,d); Кошевой В. И., Науменко С. В., Клочков В. К., Єфімова С. Л. (2021); Кошевой В.И., Науменко С.В. (2022a,b); Кошевой В.И., Науменко С.В., Клочков В.К., Єфімова С.Л., Склярів П.М. (2022).

### **3.3 Порівняльна оцінка ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом й оцінка економічної ефективності розробленого способу корекції**

Засоби корекції репродуктивної здатності самців представлені широким спектром сполук різноспрямованої дії. З них, поширеними у використанні, є гормональні, монокомпонентні або комплексні вітамінні, мінеральні та антиоксидантні препарати, кормові добавки, тощо. Деякі входять до складу раціонів, інші ж використовуються шляхом випоювання, додавання до концентратів, рідше ін'єкційним введенням. Вони різняться біодоступністю, вартісними й іншими характеристиками.

Високоєфективними є комплексні вітамінно-гормональні препарати, зокрема «Карафанд», діючими речовинами яких є каротиноїди й біологічно активні речовини з кореневища аїру болотного. Застосування даного препарату сприяє нормалізації якісних показників сперми самців, активізації їх гормонального фону.

Отримані результати терапевтичної ефективності способу корекції зниження репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату показали можливість практичного впровадження даного способу у практику ветеринарної репродуктології. Проте, важливим етапом впровадження є оцінка економічної доцільності використання запропонованого корегувального засобу й порівняння його впливу з існуючими подібними препаратами.

Ефективність засобу корекції репродуктивної здатності визначається, перш за все, фармакологічною активністю його складу й механізмами дії на окремі показники фертильності самців. Досліджені параметри дозволяють оцінити вплив засобів різного спрямування дії на гермінативно-ендокринну функцію статевих залоз плідників, зокрема, об'єм еякуляту, рухливість і концентрацію сперміїв, вміст клітин із морфологічними аномаліями та рівень загального тестостерону.

Вплив засобів корекції репродуктивної здатності на об'єм еякуляту у кнурів показано у табл. 13. Видно, що на початку експерименту об'єм еякулятів у тварин дослідних груп був достовірно меншим показників контролю, зокрема, дослідної групи I – на 13,5 % ( $P<0,05$ ), а дослідної II – на 15,3 % ( $P<0,05$ ).

Таблиця 13

**Порівняльна оцінка впливу засобів корекції репродуктивної здатності на об'єм еякуляту у кнурів, см<sup>3</sup>**

Показники	Групи тварин (M±m, n=5)		
	контроль	дослідна I	дослідна II
До введення	209,7±9,8	181,4±6,7*	177,6±3,4*
30-та доба	212,4±9,3	187,6±4,4*	189,8±2,8* <sup>1</sup>
60-та доба	201,3±6,4	194,3±9,1	204,4±6,8 <sup>2</sup>
90-та доба	205,4±3,8	201,2±5,4 <sup>1</sup>	218,6±4,3* <sup>3</sup>

*Примітки.* \*  $P<0,05$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю; <sup>1</sup>  $P<0,05$ ; <sup>2</sup>  $P<0,01$ ; <sup>3</sup>  $P<0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

За введення НЧ кнурам дослідної групи I спостерігали тенденцію до збільшення об'єму еякуляту на 30-ту і 60-ту добу експерименту. На 90-ту добу дослідження він збільшувався на 10,9 % ( $P<0,05$ ) порівняно з показниками до введення і майже досягав значень контрольної групи. В цілому, отримані дані свідчать про незначні коливання об'єму еякуляту у кнурів за впливу НЧ.

Напроти, у дослідній групі II встановлено значне збільшення об'єму еякулятів кнурів. Так, вже на 30-ту добу експерименту він збільшився на 6,9 % ( $P<0,05$ ), на 60-ту добу – на 15,1 % ( $P<0,01$ ). По завершенні дослідження, на 90-ту добу об'єм еякуляту дослідних кнурів перевищив значення контролю на 6,4 % ( $P<0,05$ ), що було більшим показників

до введення препарату на 23,1 % ( $P < 0,001$ ). Отримані дані свідчать про вищу ефективність впливу вітамінно-гормонального препарату «Карафанд» на показник об'єму еякуляту порівняно з НЧ гадолінію ортованадату.

Результативність впливу засобів корекції репродуктивної здатності на рухливість сперміїв в еякуляті кнурів показано у табл. 14.

Таблиця 14

**Порівняльна оцінка впливу засобів корекції репродуктивної здатності на рухливість сперміїв в еякуляті кнурів, бали**

Показники	Групи тварин ( $M \pm m, n=5$ )		
	контроль	дослідна I	дослідна II
До введення	8,2±0,4	6,2±0,4**	6,4±0,4*
30-та доба	8,4±0,4	6,2±0,6*	6,6±0,5*
60-та доба	8,6±0,4	7,2±0,4*	7,4±0,3*
90-та доба	8,4±0,6	8,4±0,3 <sup>2</sup>	8,2±0,4 <sup>1</sup>

*Примітки.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю; <sup>1</sup>  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup>  $P < 0,01$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

До використання корегувальних засобів рухливість сперміїв дослідних кнурів в еякуляті була значно нижчою показників контролю: у дослідній групі I – на 24,4 % ( $P < 0,01$ ), а дослідній II – на 22,0 % ( $P < 0,05$ ).

Введення НЧ гадолінію ортованадату сприяло нормалізації показнику рухливості сперміїв, так у дослідній групі I встановлено тенденцію до збільшення рухливості сперміїв на 60-ту добу до 7,2±0,4 балів, а на 90-ту добу – на 35,5 % ( $P < 0,01$ ), що досягало значень групи тварин з повноцінною репродуктивною здатністю і відповідало чинним нормативам. Дещо нижчу ефективність встановлено при застосуванні препарату «Карафанд» – на 28,1 % ( $P < 0,05$ ) зросла рухливість на 90-ту добу дослідження.

Вплив засобів корекції репродуктивної здатності на концентрацію сперміїв в еякуляті кнурів наведено у табл. 15. З даних таблиці, видно,

що концентрація сперміїв у самців дослідних груп була меншою групи контролю: дослідної I – на 7,8 % ( $P<0,01$ ), а дослідної II – на 10,0 % ( $P<0,01$ ).

Таблиця 15

**Порівняльна оцінка впливу засобів корекції репродуктивної здатності на концентрацію сперміїв в еякуляті кнурів, млн/см<sup>3</sup>**

Показники	Групи тварин ( $M\pm m$ , $n=5$ )		
	контроль	дослідна I	дослідна II
До введення	193,7 $\pm$ 3,4	178,6 $\pm$ 2,3**	174,3 $\pm$ 1,9**
30-та доба	192,3 $\pm$ 2,8	184,3 $\pm$ 1,4*	174,8 $\pm$ 2,4**
60-та доба	197,4 $\pm$ 2,9	191,6 $\pm$ 1,7 <sup>2</sup>	179,6 $\pm$ 1,3** <sup>1</sup>
90-та доба	194,1 $\pm$ 2,4	193,4 $\pm$ 3,1 <sup>2</sup>	182,1 $\pm$ 2,4* <sup>1</sup>

Примітки. \*  $P<0,05$ ; \*\*  $P<0,01$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю;

<sup>1</sup>  $P<0,05$ ; <sup>2</sup>  $P<0,01$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

Застосування корегувальних засобів сприяло тенденції до збільшення концентрації сперміїв на 30-ту добу дослідження у кнурів обох дослідних груп, що, ймовірно, викликано зменшенням оксидативного навантаження за впливу НЧ гадолінію ортованадату у організмі самців дослідної групи I, й підвищенням андрогенної насиченості кнурів дослідної групи II.

Надалі, концентрація сперміїв у тварин дослідної групи I зросла на 7,3 % ( $P<0,01$ ) на 60-ту добу і на 8,3 % ( $P<0,01$ ) на 90-ту добу експерименту. Це підтверджує позитивний вплив введення НЧ на гермінативну функцію гонад у самців, адже порівняння результатів на 90-ту добу дослідження майже досягає відповідних значень групи контролю.

Дещо меншою ефективністю характеризувався вплив вітамінно-гормонального препарату «Карафанд», так, у самців дослідної групи II концентрація статевих клітин була вищою показників до введення на 3,0 % ( $P<0,05$ ) і 4,5 % ( $P<0,05$ ) відповідно. Проте, наприкінці дослідження

показники дослідної групи II на 6,2 % ( $P < 0,05$ ) залишалися меншими аніж контрольної групи.

Отже, НЧ гадолінію ортованадату ефективно нормалізували показник концентрації сперміїв у еякуляті порівняно з препаратом «Карафанд».

Порівняльна оцінка впливу засобів корекції репродуктивної здатності на вміст сперміїв із морфологічними аномаліями наведена у табл. 16.

Таблиця 16

**Порівняльна оцінка впливу засобів корекції репродуктивної здатності на вміст сперміїв із морфологічними аномаліями, %**

Показники	Групи тварин ( $M \pm m$ , $n=5$ )		
	контроль	дослідна I	дослідна II
До введення	14,8±0,6	20,4±0,8***	21,7±0,7***
30-та доба	15,1±0,7	19,8±0,5***	17,4±0,6 <sup>2</sup>
60-та доба	14,7±0,4	17,4±0,6** <sup>1</sup>	11,1±0,4*** <sup>3</sup>
90-та доба	14,3±0,6	15,3±0,3 <sup>3</sup>	13,4±0,4 <sup>3</sup>

*Примітки.* \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю; <sup>1</sup>  $P < 0,05$ ; <sup>2</sup>  $P < 0,01$ ; <sup>3</sup>  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.

На початку дослідження даний показник у групі контролю становив 14,8±0,6 %, що відповідало чинним нормативам, навпроти, у тварин дослідних груп, відмічали значно вищий вміст морфологічно аномальних сперміїв на 37,8 % ( $P < 0,001$ ) у дослідній групі I та на 46,6 % ( $P < 0,001$ ) у дослідній групі II.

У ході експерименту встановлені наступні зміни вмісту статевих клітин із морфологічними аномаліями – на 30-ту добу дослідження у дослідній групі I відмічали тенденцію до зниження даного показнику, тоді як у еякулятах кнурів дослідної групи II цей показник був достовірно меншим показнику до введення на 19,8 % ( $P < 0,01$ ).

На 60-ту добу дослідження відзначено достовірно менший вміст морфологічно аномальних сперміїв: у дослідній групі I на 14,7 % ( $P < 0,05$ ), а у дослідній групі II – на 48,9 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з показниками тварин до введення.

Наприкінці експерименту, на 90-ту добу, вміст сперміїв з морфологічними аномаліями у дослідній групі I було знижено на 38,3 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з показниками до введення, що, крім того, досягало значень контролю. При цьому, у дослідній групі I ефективність була дещо нижчою –  $15,3 \pm 0,3$  %, що було на 25,0 % ( $P < 0,001$ ) менше показнику до введення.

Оцінку впливу засобів корекції репродуктивної здатності на ендокринну функцію гонад кнурів проводили за рівнем загального тестостерону у сироватці крові, що показано у табл. 17.

На початку експерименту гормональний фон кнурів мав негативний баланс – рівень загального тестостерону був меншим показників контролю на 50,6 % ( $P < 0,001$ ) і 51,8 % ( $P < 0,001$ ) у дослідній групі I і II відповідно.

*Таблиця 17*

**Порівняльна оцінка впливу засобів корекції репродуктивної здатності на рівень загального тестостерону, нмоль/л ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Показники	Групи тварин		
	контроль	дослідна I	дослідна II
До введення	$16,4 \pm 0,53$	$8,1 \pm 0,34^{**}$	$7,9 \pm 0,28^{**}$
15-та доба	$16,2 \pm 0,49$	$11,4 \pm 0,42^{**1}$	$12,8 \pm 0,42^{**1}$
30-та доба	$16,2 \pm 0,31$	$15,7 \pm 0,53^1$	$19,3 \pm 0,57^1$
60-та доба	$15,9 \pm 0,37$	$16,1 \pm 0,58^1$	$27,7 \pm 0,68^{**1}$
90-та доба	$17,1 \pm 0,51$	$15,4 \pm 0,69^1$	$21,4 \pm 0,61^{**1}$

*Примітки.* \*  $P < 0,01$ ; \*\*  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи контролю;

<sup>1</sup>  $P < 0,001$  – статистично вірогідні зміни відносно групи тварин до введення.



Рівень загального тестостерону після застосування засобів корекції мав позитивну динаміку змін. У дослідній групі I на 15-ту добу дослідження відмічено збільшення на 40,7 % ( $P < 0,001$ ), на 30-ту добу – на 93,8 % ( $P < 0,001$ ), на 60-ту добу – на 98,8 % ( $P < 0,001$ ). Наприкінці експерименту, на 90-ту добу пролонгованість ефекту підтверджено нормалізацією гормонального фону, зокрема, рівнем тестостерону на 90,1 % ( $P < 0,001$ ) вищим показників до введення.

Значно вищу ефективність корекції встановлено у дослідній групі II, що пояснюється впливом біологічно активних речовин андрогенстимулюючої дії. Так, рівень загального тестостерону був вищим на 62,0 % ( $P < 0,001$ ) показників до введення на 15-ту добу дослідження, у 1,44 рази ( $P < 0,001$ ) – на 30-ту добу, у 2,5 рази ( $P < 0,001$ ) – на 60-ту добу. Введення препарату «Карафанд» сприяло підвищенню гормонсинтезувальної функції сім'яників – на 90-ту добу експерименту рівень тестостерону був у 1,7 рази ( $P < 0,001$ ) вищим аніж до введення препарату, і, при цьому, на 25,2 % ( $P < 0,001$ ) більшим показнику контрольної групи.

Загалом, дія корегуючих засобів була спрямованою на різні показники репродуктивної здатності самців – так, у тварин за застосування НЧ гадолінію ортованадату (дослідної групи I) вираженими були зміни рухливості і концентрації сперміїв, вмісту клітин із морфологічними аномаліями, тоді як вплив на об'єм еякуляту і рівень тестостерону у даній групі був менш значущим. Напроти, за введення вітамінно-гормонального препарату «Карафанд» (дослідна група II) спостерігали значне покращення гормонального фону самців, на тлі помірної нормалізації якісних показників сперми.

З огляду на клініко-біохімічну ефективність способу корекції репродуктивної здатності кнурів НЧ гадолінію ортованадату наступним завданням досліджень було розрахувати його економічну ефективність. Визначали її за показниками додатково отриманих спермодоз від плідників і виходу поросят від свиноматок, що були запліднені ними.

Економічну доцільність способу корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату показано у табл. 18.

Таблиця 18

**Економічна ефективність способу корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату**

№ з/п	Показники	До введення, (n=5)	60-та доба (n=5)	90-та доба (n=5)
1	Досліджено еякулятів	10	10	10
2	Об'єм еякуляту, см <sup>3</sup>	181,4±6,7	194,3±9,1	201,2±5,4
3	Рухливість, бали	6,2±0,4	7,2±0,4	8,4±0,3
4	Концентрація спермійв, млн/см <sup>3</sup>	178,6±2,3	191,6±1,7	193,4±3,1
5	Концентрація спермійв в еякуляті, млрд	32,4	37,2	38,9
6	Кількість рухливих спермійв в еякуляті, млрд	20,1	26,8	32,7
7	Кількість доз сперми із еякуляту, од.	5	6	8
8	Вартість спермодози, грн.	300,0	300,0	300,0
9	Загальна сума, грн	15000,0	18000,0	24000,0

З даних табл. 18 видно, що за введення НЧ спостерігали збільшення об'єму еякуляту, підвищення рухливості і концентрації спермійв, що дозволило отримати більшу кількість спермодоз – від кнурів було додатково отримано від 1 до 3 доз сперми на тварину, що склало 3,0-9,0 тис. грн прибутку. Застосування НЧ підвищувало й запліднюючу здатність сперми, а осіменіння спермою даних кнурів призвело до збільшення приплоду. Від однієї свиноматки додатково отримано 3,4 поросяти, реалізаційна ціна за голову середньою живою масою 10 кг 1500 грн., отже сума прибутку на свиноматку дорівнювала 5100,00 грн.

### *Висновок до підрозділу 3.3*

Порівняльна оцінка ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд» показала, що наявність комплексного позитивного впливу обох засобів на андро-і сперматогенез у кнурів характеризується різноспрямованістю дії – так, введення наночастинок сприяє переважному збільшенню рухливості сперміїв (на 35,5 %,  $P < 0,01$ ) і їх концентрації (на 8,3 %,  $P < 0,01$ ), тоді як використання препарату «Карафанд» покращує об'єм еякуляту (на 23,1 %,  $P < 0,001$ ) і зменшує вміст сперміїв із морфологічними аномаліями (на 48,9 %,  $P < 0,001$ ), при цьому, обидва засоби посилюють стероїдогенез, що визначається зростанням рівня тестостерону у сироватці крові (введення НЧ – на 98,8 %, а «Карафанд» – у 2,5 рази,  $P < 0,001$ ). Варто зазначити, що корекція репродуктивної здатності НЧ гадолінію ортованадату була економічно доцільною – від кнура було додатково отримано від 1 до 3 доз сперми, що склало 3,0-9,0 тис. грн. в грошовому еквіваленті, а від однієї свиноматки додатково отримано 3,4 поросяти, прибуток становив 5100,00 грн.

Результати досліджень опубліковані у наукових працях:

Skliarov P., Fedorenko S., Naumenko S., Koshevoy V., Pelyh K. (2021);  
Кошевой В. І., Науменко С. В., Клочков В. К., Єфімова С. Л., Склярів П.М.  
(2022); Кошевой В.І., Науменко С.В. (2022).

## РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Інтенсифікація свинарства супроводжується підвищенням впливу факторів технологічного і біологічного навантаження, що проявляється розвитком стресових станів тварин. Репродуктивна здатність кнурів та механізми її зниження, якість сперми і її біохімічні особливості є предметом дослідження багатьох вчених (Parrilla et al., 2012; Чернозуб, 2013; Pilane et al., 2016; Dzienkonska et al., 2017).

ОС – це стан, який виникає в результаті порушення балансу між окислювально-відновлювальними процесами, під дією зовнішніх або внутрішніх чинників та призводить до оксидативної модифікації молекул, зокрема, ліпідів, білків та ДНК (Agarwal et al., 2014; Du Plessis et al., 2015). Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) чинить негативний вплив на якість сперми самців (Agarwal et al., 2008; Chornozub, 2013; Pilane et al., 2016). Суперечливі дані існують стосовно ролі циклу оксиду азоту (NO) у розвитку зниження репродуктивної здатності. Відомо, що високі концентрації NO виявляють потужні цитотоксичні властивості, активують ПОЛ у сім'яній плазмі (Doshi et al., 2012).

Результатами дисертаційної роботи обґрунтовано патогенетичні механізми зниження репродуктивної здатності кнурів на основі біохімічних й аналітико-статистичних досліджень, зокрема, показано наявність гормонально-метаболічних змін за зниження показників якості сперми. Досліджено вплив гідрозолу наночастинок гадолінію ортованадату на гермінативно-ендокринну функцію гонад – якісні показники еякулятів і гормональний фон, зміни у балансі прооксидантно-антиоксидантної системи, завдяки чому розроблено новітній спосіб корекції неплідності кнурів та проведено оцінку порівняльно-економічної ефективності запропонованого способу.

Необхідність виконаної роботи обумовлена мінливістю показників якості сперми кнурів в залежності від сезону року – знижені показники (об'єм еякуляту й концентрацію) спостерігають влітку, порівняно з осінньо-зимовим періодом (коли значно зменшуються рухливість і кількість рухливих клітин в еякуляті). При цьому, об'єм еякуляту відновлювався після триденної статевої паузи, а пул сперміїв частково через 5-7 днів і повністю – на 10-11 добу (Smital, 2009; Czubaszek et al., 2020). Сезонні коливання якості сперми, як правило, пов'язані з фотоперіодом і впливом теплового стресу, можливо корелювати за допомогою підвищення стійкості організму кнура до оксидативного стресу (Lopez Rodriguez et al., 2017; Khoi et al., 2021).

Роль АФН і метаболітів циклу системи Нітрогену оксиду доведено на моделі ушкодження сперміїв кнурів пероксинітритом, введення якого викликало нітрозативний стрес і призводило до значного зменшення показників рухливості, проте не впливало на мітохондріальну активність клітин (Serrano et al., 2020). При цьому, суперечливі дані отримані при дослідженні ролі сполук Сульфуру, адже відомо, про негативний вплив активних форм Сульфуру, побідний до дії АФО/АФН, хоча сірководень і його донори сприяють збереженню акросомальної реакції і не викликають змін у рухливості статевих клітин, так спермії кнурів за введення  $\text{Na}_2\text{S}$  у низьких концентраціях підвищували свій антиоксидантний потенціал й мали позитивну динаміку рухливості, тоді як високі кількості проявляли прооксидантні ефекти (Pintus et al., 2020).

Концентровані корми, що використовуються в годівлі кнурів-плідників можуть містити велику кількість ліпополісахаридів, які здатні викликати оксидативний дисбаланс у статевій системі і впливати на виживаність сперміїв за умов зберігання. Механізм впливу ліпополісахаридів доведено у дослідженні на сперміях кнурів – відмічено виникнення опосередкованої активацією окисного фосфорилування ліпополісахарид-індукованої мітохондріальної дисфункції (He et al., 2017).

Відомо, що отримання повноцінного еякуляту чинить вплив на ріст і розвиток приплоду. Проте, встановлена залежність швидкості набору маси кнурцями від якості їх еякулятів і породної належності (Knecht et al., 2017). Повноцінність еякуляту не завжди визначається якісними і морфологічними показниками – відсутність достовірних змін в якості кнурів із різним вмістом сперміїв з морфологічними аномаліями показано у дослідженні Cerovsky et al., 2005. Крім того, ними обґрунтовано додавання кнурам у раціон L-карнітину: впливу на якісні показники сперми не виявлено, проте відзначено підвищення вмісту лізину і виживаності сперміїв (Cerovsky et al., 2009). Також застосування розріджувача з умістом L-карнітину сприяло покращенню показників виживаності і запліднюючої здатності за рахунок збільшення кількості сперміїв, що зв'язуються з блискучою оболонкою ооцита (Yang et al., 2020).

Використання біохімічних маркерів репродуктивної здатності кнурів повинно проводитися поряд з клінічними дослідженнями і якісною оцінкою еякулятів, адже дозволяє з'ясувати етіопатогенетичні особливості виявлених змін. При цьому, використання тільки біохімічного тестування не здатне повною мірою спрогнозувати запліднюючу здатність сперми кнура (Shulze et al., 2021). Отримання сперми з високим антиоксидантним потенціалом залежить від багатьох умов, які зазнають значних змін залежно від їх породної належності, віку, умов годівлі і утримання, режиму використання і чинить вплив на запліднюючу здатність і виживаність сперміїв, крім того антиоксидантний пул значно змінюється у процесі охолодження / заморожування / розморожування (Pezo et al., 2021). Це обґрунтовує необхідність застосування корегуючих засобів навіть за повноцінної годівлі.

Результатами *першої серії дослідів* доведено зміни у балансі прооксидантно-антиоксидантної системи у кнурів зі зниженою репродуктивною здатністю. Слід зазначити, що проведена андрологічна диспансеризація відхилень клінічного стану у самців не виявила. Натомість,

досліджені еякуляти кнурів-плідників відрізнялися отриманими показниками: з 18 тварин (36 еякулятів), що підлягали оцінці, у 56 % встановлено відповідність якості нативної сперми чинним нормативам, тоді як 33 % повністю не відповідали за всіма критеріями оцінки, інші ж зразки відрізнялися підвищеною кількістю сперміїв із морфологічними аномаліями, проте не мали відхилень. За результатами проведених діагностичних досліджень були сформовані групи самців для поглиблених досліджень.

У кнурів дослідної групи встановлено зниження репродуктивної здатності, що характеризувалося достовірним зниженням об'єму еякуляту на 14,4 % ( $P < 0,001$ ), а концентрації сперміїв на 10,5 % ( $P < 0,01$ ). Рухливість була значно зниженою порівняно з показниками самців контрольної групи – на 42,9 % ( $P < 0,001$ ). Це пояснюється негативним впливом генерації АФО внаслідок процесів окисного фосфорилування у мітохондріях, яке є необхідним для синтезу АТФ задля забезпечення рухливості сперміїв в статевих шляхах самки, проте зі збільшенням інтенсивності чинить згубну дію (Zhu et al., 2019).

Зниження кількості рухливих сперміїв у еякуляті на 55,8 % ( $P < 0,001$ ) супроводжувалося зростанням вмісту сперміїв із морфологічними аномаліями було підвищено (на 21 %,  $P < 0,01$ ), що узгоджується з даними Czubaszek et al. (2019).

З даних наших досліджень видно, що у тварин дослідної групи відмічено наявність оксидативного стресу: вміст первинних продуктів пероксидації – ДК було достовірно підвищено на 19,2 % ( $P < 0,001$ ), ТБК-АП на 90,1 % ( $P < 0,001$ ). Важливу роль у гомеостазі сперми кнурів відіграє система циклу Нітрогену оксиду, яка забезпечує повноцінність запліднення ооцита, зокрема при штучному осіменінні (Staicu et al., 2019). У тварин дослідної групи (зі зниженою репродуктивною здатністю) встановлено збільшення вмісту стабільних метаболітів циклу NO на 88,3 % ( $P < 0,001$ ).

Отже, провідною ланкою у зниженні репродуктивної здатності кнурів-плідників є погіршення якості сперми, зокрема показнику рухливості

сперміїв і значне зменшення кількості рухливих сперміїв у еякуляті, що є наслідком підвищеної продукції АФО/АФН, про що свідчить накопичення маркерів оксидативного стресу у сироватці крові самців. Враховуючи отримані дані, надалі досліджено гормональний фон кнурів зі зниженою репродуктивною здатністю за оксидативного стресу.

Відомо, що існує безліч екзо- та ендогенних факторів, що викликають надмірний синтез АФО, внаслідок перевищення кількості яких над антиоксидантним потенціалом клітин, виникає ОС. В свою чергу, ОС негативно впливає на репродуктивну функцію самців і призводить до частково-тимчасового її зниження, прямою чи опосередкованою дією на вісь гіпоталамус-гіпофіз-гонади та/або порушуючи її зв'язок з іншими гормональними осями (Darbandi et al., 2018).

АФО знижують рівень статевих гормонів самців і порушують гормональний баланс, що регулює репродуктивну функцію (Appasamy et al., 2007). ОС, що виникає внаслідок підвищеного синтезу АФО або зниження доступності антиоксидантів, може викликати перекисне окиснення ліпідів у інтерстиціальних ендокриноцитах і статевих клітинах, пошкоджувати ліпопротеїни, агрегацію і фрагментацію протеїнів та інгібувати стероїдогенні ензими. Збільшення оксидативного навантаження у гонадах спричиняє зниження синтезу тестостерону через пошкодження інтерстиціальних ендокриноцитів або ж інших ендокринних структур, таких як передня доля гіпофіза (Turner et al., 2005). Доведено, що тестикулярний естрадіол та інгібін інтенсивно виробляються за впливу ОС, тим самим пригнічуючи вивільнення тестостерону. Це відбувається внаслідок дії АФО на активність ароматаз, що викликають збільшення синтезу естрадіолу (Oh et al., 2015; De Luca et al., 2021).

Дані проведених досліджень узгоджуються з вищезначеною концепцією взаємодії окисного стресу й метаболізму статевих гормонів – у дослідній групі кнурів виявлено вірогідне зменшення рівня тестостерону



загального у сироватці крові на 45 % ( $P < 0,001$ ), тоді як вміст  $17\beta$ -естрадіолу був більшим показників групи контролю на 45,1 % ( $P < 0,001$ ).

Також, відмічено зростання кількості ТЕЗГ у дослідній групі кнурів на 33,1 % ( $P < 0,001$ ). Такі зміни призвели до значного зменшення індексу вільних андрогенів у організмі кнурів зі зниженням репродуктивної здатності – він склав 19,9 %. Отримані дані свідчать, про взаємозв'язок негативного впливу накопичення продуктів пероксидації у організмі самців на гормональну активність ендокринних залоз, та ймовірні шляхи реалізації механізмів гіпофертильності кнурів.

Наступним етапом досліджень було вивчення стану антиоксидантного захисту у кнурів зі зниженням РЗ. Експериментальні дослідження виконано у двох напрямках функціонування АОЗ – встановлено активність АО ензимів й досліджено вміст деяких компонентів неензиматичної ланки.

У самців дослідної групи встановлено вірогідне зниження активності СОД на 30,2 % ( $P < 0,01$ ). При цьому у еритроцитах кнурів-плідників каталазу активність було знижено на 33,9 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з показниками контрольної групи тварин. Зниження активності даних ензимів є характерним для розвитку ОС – це обумовлено високим рівнем процесів пероксидації в організмі кнурів-плідників.

Зниження активності Кат обумовлено високою чутливістю до NO, вміст якого при ОС значно зростає (El-Baky & Hafez, 2017). При цьому, відомо, що СОД забезпечує каталазу субстратом – пероксидом водню, однак активність обох ензимів була достовірно зниженою. Взаємодіючи з NO утворюється пригнічена форма каталази – ферікаталаза-NO (Kim&Han, 2000).

За дисбалансу прооксидантно-антиоксидантної системи відзначають зниження активності ензимів глутатионової системи, так, у кнурів дослідної групи встановлено виражене зниження глутатіонпероксидазної активності на 28,4 % ( $P < 0,05$ ), тоді як активність глутатіонредуктази була достовірно зниженою на 20,2 % ( $P < 0,05$ ) порівняно з показниками контрольної групи.

Зниження активності ензиматичної системи АОЗ має вірогідні відмінності від групи контролю, що свідчить про відсутність компенсації ПОЛ. Отримані дані узгоджуються з даними інших дослідників. Так, зниження активності антиоксидантних ензимів відбувається за дії теплового стресу (Ali, 2016), в організмі кнурів це відзначається зниженням активності каталази й СОД (Shostya et al., 2020).

Антипероксидному та антирадикальному захисту клітин сприяє комплексна глутатіонова система, що включає ензими GSH-Px і GSH-Rd, а також відновлений глутатіон, які нерозривно пов'язані між собою і чинять комплексу інгібуючу дію на вільнорадикальне окислення (Honchar&Mankovska, 2007; Bachhawat&Yadav, 2018). За результатами досліджень відмічено зниження активності ензимів глутатіонового редокс-циклу, що також підтверджує стан оксидативного стресу. В результаті обчислення співвідношень ензимів у групах тварин відмічено декомпенсаційний характер ліпопероксидації. Оцінюючи індекси СОД/каталаза і GSH-Px/GSH-Rd було доведено збереження балансу у антиоксидантній системі на тлі її загального зниження.

За зниження репродуктивної здатності відмічається погіршення якості сперми, зокрема рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті, як наслідок токсичного впливу продуктів пероксидації і підвищення вмісту стабільних метаболітів циклу Нітрогену оксиду (Koshevoy & Naumenko, 2020). При цьому, відсутність фізіологічної активності антиоксидантних ензимів буде чинити негативний вплив на запліднюючу здатність сперми, адже нестача компонентів ензиматичної системи АОЗ впливає на активність ензимів у спермі, що отримують від плідників. Отже, отримані дані констатують неможливість адекватної відповіді організму самців на дію токсичних продуктів ПОЛ і потребу у корегуванні даного стану.

Проведені дослідження активності ензимів системи АОЗ організму кнурів-плідників зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу свідчать про наявність значних зрушень у антиоксидантному захисті,

що підтверджує розвиток ОС. У організмі самців встановлено зниження активності антиоксидантних ензимів, які протидіють радикальному ушкодженню клітин на першому етапі АОЗ.

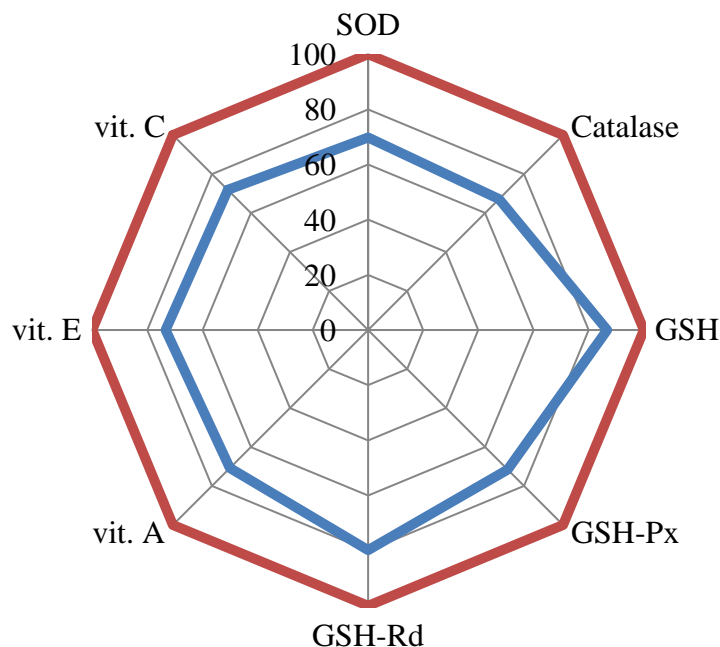
При тривалому впливі негативних чинників зовнішнього середовища баланс у прооксидантно-антиоксидантній системі порушується у бік накопичення токсичних продуктів пероксидації, що негативно впливає на репродуктивну здатність самців і викликає розвиток так званого ОС. За розвитку ОС у кнурів-плідників спостерігається зниження рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті, внаслідок цитотоксичної дії високих концентрацій продуктів ПОЛ.

Всі етапи ПОЛ контролюються антиоксидантним захистом (АОЗ), який включає в себе ензимну та неензимну системи. Неензимна система АОЗ представлена рядом жиро- і водорозчинних сполук – вітаміни А, Е і С, відновлений глутатіон, тощо. Надалі було встановлено кількість останніх у сироватці крові кнурів зі зниженою РЗ.

У самців дослідної групи виявлено вірогідне зниження показників неензимної системи антиоксидантного захисту, так – вміст вітаміну А був достовірно нижчим показників контрольної групи на 29,2 % ( $P < 0,001$ ), вітаміну Е – на 27,6 % ( $P < 0,001$ ), вітаміну С – на 28,1 % ( $P < 0,001$ ), що свідчить про негативну динаміку вітамінного обміну у організмі.

Значну роль глутатіонового пулу показано в дослідженні додавання цистеїну в рідину для розбавлення сперми кнурів, внаслідок чого, спостерігали біосинтез відновленого глутатіону з цистеїну *in vitro* за збереження рухливості і підвищення виживаності сперміїв на тлі зниження вмісту АФО і продуктів ПОЛ (Zhu et al., 2022). Концентрація відновленого глутатіону в еритроцитах кнурів-плідників дослідної групи була зниженою порівняно з тваринами контрольної групи на 13,3 % ( $P < 0,001$ ), це пов'язано зі зниженням активності ензиматичної системи АОЗ внаслідок ОС. Отримані дані свідчать про відсутність адекватної відповіді АОЗ організму за ОС й необхідність застосування корегуючих засобів.

В цілому ж, антиоксидантний статус сироватки крові кнурів зі зниженою РЗ за оксидативного стресу характеризувався зниженими показниками вмісту/активності його компонентів, що відображено на рис. 20.



**Рис. 20. Антиоксидантний статус сироватки крові кнурів зі зниженою репродуктивною здатністю.**

*Примітка.* Дані групи контролю прийняті за 100 %.

З даних рис. 20 видно, що збіднення пулу ензимних й неензимних АО у організмі кнурів вочевидь є наслідком високої інтенсивності процесів ВРО та нагромадження токсичних радикалів.

Отримані у першій серії дослідів результати дозволили сформулювати концепцію патогенезу неплідності самців свійських тварин (рис. 21). Враховуючи регуляторну роль АФО/АФН у реалізації репродуктивного потенціалу самця було обґрунтовано значення інтенсифікації ВРО, що призводить до зростання ПОЛ і зниження АОЗ у організмі самця у розвитку неплідності, клінічним проявом якої є гормональний дисбаланс та зниження якісних показників еякулятів. Тривалість таких змін визначає повноцінність прояву гермінативно-ендокринної функції гонад, можливість

до відновлення/адаптації до дії негативного чинника чи їх сукупності. Такі результати дозволяють стверджувати про наявність стану передпатології статевої системи, які за своєчасної корекції здатні унеможливити подальший



її розвиток й перехід у клінічну форму та навіть хронізацію.

**Рис. 21. Концепція патогенезу неплідності самців свійських тварин (за даними власних досліджень і аналізу літературних джерел)**

Важливим етапом оцінки ефективності засобу корекції є не тільки порівняння отриманих даних з групою контролю чи нормативними показниками якості сперми самця, а й визначення впливу використаного

засобу на запліднюючу здатність еякулятів (Broekhuijse et al., 2011). Особливе значення підтримка окисного гомеостазу сперми і збереження високого антиоксидантного потенціалу в еякуляті набуває в умовах підвищення біобезпеки відтворення в свинарстві шляхом повної асептизації сперми кнурів (Ciornei et al., 2021).

З метою встановлення ефективності використання НЧ оксидів рідкісноземельних елементів як безпечного фармакологічного засобу для корекції зниження репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу з вираженою редоксактивністю і спермомодулюючою дією було проведено хронічний експеримент (*друга серія дослідів*).

Ефективність застосування НЧ гадолінію ортованадату, їх антиоксидантні властивості і вплив на репродуктивну функцію самців кролів за оксидативного стресу є унікальними. Індукований tВНР ОС викликав зниження основних характеристик еякуляту, що, на нашу думку, викликано значним оксидативним навантаженням на статеву систему й фізіологічно низьким антиоксидантним потенціалом сперміїв, що доведено у дослідженнях Palani (2018).

Застосування НЧ гадолінію ортованадату покращувало показники якості сперми самців кролів і їх гормональний баланс. Нормалізацію кількості морфологічно аномальних сперміїв можна пояснити зменшенням кількості апоптичних сперміїв внаслідок антиоксидантної активності використаних НЧ, адже зменшення їх кількості призводить до покращення статевої функції кролів, що показано у дослідженні Vasicek et al. (2014).

Подібні зміни якості сперми кролів Okanlawon et al. (2020) спостерігали за застосування рослинної сировини (куркуми), яке крім того, викликало збільшення їх маси й було економічно доцільним. Attia et al. (2017) експериментально доведено покращення якісних показників сперми кролів розторопші плямистої та розмарину, а Yousef (2005) у своїх дослідженнях довів можливість використання листя акації і їх позитивний вплив на деякі показники якості сперми за відсутності позитивних змін у гормональному

балансі. Отримані результати показують унікальність встановлених властивостей НЧ гадолінію ортованадату, адже, більшість сполук металів у наноформі чинять негативний вплив на фізіологію й метаболізм сперміїв, наприклад, НЧ срібла, окислювальну й запальну дію яких на спермії кролів неможливо елімінувати навіть протизапальними засобами й вітаміном Е (Giulia et al., 2020).

Ефективність використання антиоксидантів-мішеней для мітохондрій у підтриманні антиоксидантного потенціалу сперміїв кнурів показано у роботі Zhu et al. (2019). Подібний вплив на спермії кнурів в умовах *in vitro* чинить застосування аміногуанідину, що є селективним інгібітором індукцибельної синтази Нітрогену оксиду і здатний поглинати АФО. Так, при інкубації зразків сперми відмічали зниження інтенсивності процесів ПОЛ за підвищення показників рухливості, збереження цілісності плазматичної мембрани і акросомальної реакції (Pintus et al., 2018).

Поєднання високої фармакологічної активності засобу корекції з відсутністю токсичного впливу на статеві клітини кнурів отримано при застосуванні ферментованого розчину рослинної сировини різних концентрацій, при цьому, виживаність сперміїв зростала, а показники рухливості зберігали свої значення за умов оксидативного стресу (Ros-Santaella et al., 2020).

ОС чинить негативний вплив на баланс статевих гормонів і зменшує кількість андрогенів в організмі самців внаслідок порушення синтезувальної функції інтерстиціальних ендокриноцитів і шляхів регуляції репродуктивної функції, зокрема вісі НРГ та, опосередковано, вісі НРА (Appasamy et al., 2007; Darbandi et al., 2018). Негативну динаміку гормонального балансу показано в дослідженні Mohammed et al. (2016) – застосування в якості кормової добавки Boldenone undecylenate сприяє підвищенню показників росту тварин, проте викликає зниження їх фертильності.

З іншого боку, Asadi et al. (2017) довели зміни балансу статевих гормонів за застосування наночастинок Молибдену та їх вплив на динаміку

активності ензимів у печінці. Біологічно активними речовинами, що сприяють підвищенню резистентності кролів на вирощуванні є, наприклад, рослини родини Амарант (Molina et al., 2018). Ghoms et al. (2017) вказують на подібні зміни біохімічних показників за додавання в раціон кролів *Moringa Oleifera*, якій властива антиоксидантно-подібна дія, що покращує ліпідний профіль і імунний статус тварин (Salem et al., 2020).

ОС характеризується як стан організму за якого відмічають інтенсифікацію процесів пероксидації, накопичення активних форм Оксигену, Нітрогену, Сульфуру та/або зменшення антиоксидантного потенціалу (Otasevic et al., 2020). Подібні зміни в сироватці крові самців кролів показані Yousef et al. (2004) за застосування ізофлавонолів, хоча застосування їх може призводити до негативних змін в якості сперми і концентрації тестостерону, як повідомляють Abo-Elsooud et al. (2019).

Слід відмітити, що подібні використаним у дослідженні НЧ ефекти дослідниками було отримано при застосуванні фолієвої кислоти для корекції неплідності самців викликаної хромом-VI (Yousef et al., 2006). Scarlata & O'Flaherty (2020) повідомляють про провідну роль ензимів антиоксидантної захисної системи в підтриманні повноцінної репродуктивної здатності і кореляційний зв'язок з вмістом антиоксидантів та якісними показниками еякулятів.

Nikitchenko et al. (2021b) доведено реалізацію ефектів НЧ гадолінію ортованадату шляхом активації GSH-залежної антиоксидантної системи у самців щурів. Varati et al. (2020) також стверджують про ефективність антиоксидантної терапії як патогенетичного засобу за чоловічого безпліддя, та звернули увагу, на вплив корекції ОС на рухливість і виживаність спермій в еякуляті.

Загалом, комплексний дія НЧ гадолінію ортованадату як коректорів репродуктивної здатності схожа з дією НЧ цинку оксиду, які в поєднанні з олією тим'яну у дослідженні Abdel-Wareth et al. (2020) покращують якість сперми, концентрацію тестостерону і засвоюваність поживних речовин у



самців кролів. При цьому, подібні використаним НЧ гадолінію ортованадату високу антиоксидантну активність доведено у нанострижней золота в експерименті Mehanna et al. (2022). Таким чином, зацікавленість дослідників викликає з'ясування впливу НЧ гадолінію ортованадату в різних формах і дозах на організм самців кролів і морфологію їх статевих залоз.

*Третьою серією дослідів* було передбачено визначення ефективності застосування НЧ гадолінію ортованадату для корекції РЗ кнурів. Аналізуючи результати біохімічних досліджень, встановлено наявність стану ОС у самців дослідної групи – вміст первинних продуктів ЛПО – дієнових кон'югатів (ДК) був достовірно вищим показників контролю на 19,3 % ( $P < 0,01$ ). За рахунок визначення вмісту маркерів ОС у біологічних рідинах – крові, її сироватці або плазмі, спермі або спермальній плазмі дозволяє отримати об'єктивну інформацію щодо інтенсивності процесів біологічного окислення в організмі самця. Дня нас було важливим враховуючи сезонність прояву цих процесів і можливу відсутність адекватної відповіді на них антиоксидантної захисної системи, дослідити вплив застосування НЧ гадолінію ортованадату на динаміку процесів пероксидації.

Також виявлено підвищення концентрації ТБК-АП у сироватці крові в 1,07 рази ( $P < 0,001$ ), який є кінцевим продуктом ЛПО. Значно збільшеною була й кількість стабільних метаболітів циклу оксиду Нітрогену ( $\text{NO}_x$ ) – на 83,6 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з групою контролю. Вірогідне підвищення вмісту даних показників свідчить про збільшення інтенсивності процесів пероксидації і наявність нітрозивного ушкодження організму кнурів, що є провідною причиною зниження репродуктивної здатності й узгоджується з раніше отриманими даними (Koshevoy & Naumenko, 2020).

Так, за корекції НЧ гадолінію ортованадату активованих європейцем спостерігали зниження інтенсивності процесів пероксидації у сироватці крові кнурів. При цьому, досліджувані показники мали позитивну динаміку змін вже на 15-ту добу дослідження: кількість ДК мала тенденцію до зниження й була на 5,4 % менше показників до введення, а концентрація ТБК-АП була

достовірно меншою на 24,7 % ( $P < 0,05$ ). Зменшувалася й кількість  $\text{NO}_x$  на 25,2 % ( $P < 0,001$ ). Це свідчить, що введення НЧ чинить позитивний вплив на динаміку пероксидації.

На 30-ту добу дослідження у сироватці крові спостерігали відновлення прооксидантного балансу, який майже сягав показників контрольної групи. Вміст ДК було достовірно зменшено на 9,4 % ( $P < 0,05$ ), концентрація ТБК-АП була нижчою показників групи до введення на 48,2 % ( $P < 0,001$ ). Це свідчить про зниження інтенсивності процесів ЛПО й наявність пролонгованого ефекту введення гідрозолу НЧ. Подібні зміни відзначені у циклі оксиду Нітрогену – його кількість була меншою на 42,6 % ( $P < 0,001$ ). Отримані дані підтверджують ефективність використання НЧ гадолінію ортованадату для корекції ОС у організмі кнурів.

Зниження репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу визначається погіршенням показників якості сперми, при оцінці яких було встановлено, що у самців дослідної групи були значно зниженими показники рухливості сперміїв (на 51,2 %,  $P < 0,001$ ) і кількості рухливих сперміїв у еякуляті (на 63,2%,  $P < 0,001$ ), також відмічено зменшення об'єму еякуляту на 17,2 % ( $P < 0,001$ ) і концентрації сперміїв на 10,5 % ( $P < 0,01$ ), тоді як вміст сперміїв із морфологічними аномаліями був достовірно вищим на 24,0 % ( $P < 0,001$ ) показників контрольної групи.

Наявність кореляції між інтенсивністю ЛПО і показниками якості сперми самців доведено багатьма авторами, зокрема, проведеними дослідженнями підтверджено значне зниження показників рухливості і кількості рухливих сперміїв у еякулятах кнурів. Аналізуючи отримані дані, можна зробити висновок, що вплив накопичення АФО і АФН у організмі кнурів, тобто ОС, призводять до погіршення показників спермограми і потребує корекції – це співпадає з думкою більшості авторів наведених літературних джерел. Отримані результати показали ефективність НЧ гадолінію ортованадату як корегуючих засобів спермопродуктивності кнурів, що нормалізували якісні характеристики еякулятів.

На 60-ту добу дослідження спостерігали нормалізацію показників якості сперми дослідних кнурів. Рухливість сперміїв достовірно зростала на 42,9 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з контрольними величинами. Кількість рухливих сперміїв у еякуляті збільшувалася на 57,1 % ( $P < 0,01$ ). В цілому якість отриманої сперми була вищою ніж до введення НЧ – об'єм еякуляту на 5,8 % ( $P < 0,05$ ), концентрація сперміїв на 5,9 % ( $P < 0,05$ ), а вміст сперміїв із морфологічними аномаліями мав тенденцію до зниження. Ймовірно, це забезпечить економічну ефективність застосування даного способу корекції.

Оцінюючи ефективність корекції ОС НЧ гадолінію ортованадату відзначено, що на 90-ту добу дослідження показники якості еякулятів майже досягали значень контрольної групи самців. Особливо чутливі до дії ОС показники рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті достовірно підвищувалися на 95,2 % ( $P < 0,001$ ) та в 1,48 рази ( $P < 0,001$ ) відповідно до показників групи тварин до введення. Позитивний вплив наночастинок відмічено на динаміку об'єму еякуляту, який на 90-ту добу дослідження був вищим на 15,1 % ( $P < 0,001$ ), концентрації сперміїв, що була вищою на 11,8 % ( $P < 0,01$ ). Вміст сперміїв з морфологічними аномаліями зменшувався на 18,3 % ( $P < 0,01$ ).

Ефективність введення НЧ гадолінію ортованадату можна пояснити підвищенням активності згаданих сполук при переході у наноформу, адже у вигляді промислових фармацевтичних композицій, які відомі на сьогодні, таких властивостей вони не виявляють. Результати дослідження спермограми кнурів після корекції ОС доводять наявність спермомодельючої дії НЧ на основі оксидів рідкісноземельних елементів, дозволяє рекомендувати його до практичного впровадження й розробки способів корекції гіпофертильності різного генезу у самців різних видів.

АФО у статевій системі самців, порушують баланс між оксидантами і антиоксидантами. Після генерації АФО вісь гіпоталамус-гіпофіз-наднирники активізується і вивільнює кортикостерон у відповідь на стрес. У відповідь на дію кортикостерону між осями НРГ і НРА виникає взаємодія, що негативно

впливає на секрецію лютеїнізуючого гормону (ЛГ) передньою долею гіпофізу. Знижений рівень ЛГ не здатний стимулювати інтерстиціальні ендокриноцити виробляти достатню кількість тестостерону. Натомість, зниження фолікулостимулюючого гормону зменшує вивільнення андроген-зв'язуючого протеїну з клітин Сертолі, і, таким чином, викликає зниження рівня тестостерону в організмі самця (Darbandi et al., 2018; Goma et al., 2020).

Крім того, ОС призводить до зниження секреції інсуліну у підшлунковій залозі, що, в свою чергу, чинить негативний вплив на вивільнення ТЗ з щитоподібної залози, і загалом, на біосинтез тестостерону. Синтез АФО, викликаний ожирінням, впливає на адипоцити, викликаючи надмірний синтез лептину, який разом з інсуліном знижує вивільнення ТЗ і, як наслідок, пригнічує функціонування гонад самців. Лептин, що продукується адипоцитами, також інгібує вивільнення гонадоліберину з гіпоталамусу (Amjad et al., 2019; Khodamoradi et al., 2020; Turan & Öztekin, 2020).

Відомо, що тестикулярний естрадіол та інгібін інтенсивно виробляються за впливу ОС, тим самим пригнічуючи вивільнення тестостерону. Це відбувається внаслідок дії АФО на активність ароматаз, що викликають збільшення синтезу естрадіолу. Знижений рівень тестостерону не може регулювати сперматогенез для вироблення повноцінних сперміїв. Також такий рівень є не здатним до підтримки повноцінного функціонування додаткових статевих залоз, які відіграють важливу роль у дозріванні сперміїв. Як головний регулятор прояву статевих рефлексів дефіцит тестостерону призводить до їх сповільнення. Таким чином, порушення ендокринних репродуктивних функцій внаслідок ОС призводить до зниження репродуктивної здатності самців (Makary et al., 2018; Sharma et al., 2021).

Суперечливі дані стосовно ефективності антиоксидантної терапії of male infertility наночастинками різноманітного хімічного складу і їх впливу на рівні статевих гормонів і морфологічний стан гонад спонукають

дослідників до пошуку ефективних і безпечних засобів. Так, за введення НЧ на основі золота, срібла й молібдену, які широко використовуються в медичній практиці спостерігають ініціацію ОС гонад й патологічний вплив на їх структурну організацію, натомість, НЧ оксиду цинку викликали підвищення показників якості сперми, вмісту статевих гормонів і нормалізацію антиоксидантного потенціалу (Asadi et al., 2017; Barati et al., 2020; Goma et al., 2020; Liu et al., 2020; Olugbodi et al., 2020).

Гормональний фон кнурів дослідної групи – зі зниженими показниками репродуктивної здатності, характеризувався достовірним зниженням вмісту статевих гормонів – так, рівень загального тестостерону до введення НЧ був нижчим на 49,7 % ( $P < 0,001$ ) показників групи контролю, а рівень  $17\beta$ -естрадіолу – на 47,7 % ( $P < 0,001$ ). У кнурів дослідної групи до введення НЧ встановлено підвищення вмісту ТЕЗГ на 38,9 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з тваринами контрольної групи. Враховуючи рівень загального тестостерону і кількість ТЕЗГ видно, що індекс вільних андрогенів у даної групи тварин дорівнював 49,3 %.

Введення гідрозолу НЧ гадолінію ортованадату сприяло нормалізації гормонального фону кнурів дослідної групи. Так, на 15-ту добу експерименту відмічено збільшення рівня загального тестостерону у сироватці крові самців на 22,6 % ( $P < 0,01$ ), натомість, рівень  $17\beta$ -естрадіолу мав тенденцію до зниження. При цьому, встановлено зменшення вмісту ТЕЗГ на 13,0 % ( $P < 0,05$ ), що, в свою чергу, сприяло збільшенню ІВА до 25,1 %.

Відновлення показників гормонального фону до значень у тварин з повноцінною репродуктивною здатністю майже відбувалося на 30-ту добу експерименту – рівень тестостерону у сироватці крові кнурів збільшувався на 77,4 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з групою до введення НЧ й майже досягав значення групи контролю ( $P < 0,05$ ). Навпаки, достовірним зменшенням характеризувалися показники рівня  $17\beta$ -естрадіолу (на 25,0 %,  $P < 0,01$ ) і вмісту ТЕЗГ (на 26,8 %,  $P < 0,001$ ). З отриманих даних видно, що ІВА у групі

кнурів на 30-ту добу експерименту дорівнював 43,2 %, тобто майже досягав нормативних значень.

Отримані зміни, у тварин дослідної групи до введення НЧ пояснюються впливом OS, що спричиняє зниження синтезу тестостерону через пошкодження інтерстиціальних ендокриноцитів та інших ендокринних структур, таких як передня доля гіпофіза (Turner et al., 2005; Wang et al., 2017). Він може бути пов'язаний зі збільшенням кількості незрілих форм сперміїв через вплив на продукцію чоловічих статевих гормонів, що корелюють зі сперматогенезом.

Системні гормони (тестостерон, естрадіол) здатні регулювати антиоксидантну здатність клітин сім'яників. Вочевидь, деяким гормонам, таким як тестостерон, властива антиоксидантна дія, що захищає спермії та клітини гонад від ушкоджень, викликаних АФО. Доведеним є негативний зв'язок між рівнями тестостерону, естрадіолу, вільного тироксину у сироватці крові і пошкодженнями ДНК у сперміях (Makary et al., 2018).

Так, встановлено, що введення НЧ сприяло зниженню оксидативного навантаження організму і відновленню показників якості сперми (Koshevoy et al., 2021). Отримані результати досліджень свідчать, що введення НЧ гадолінію ортованадату викликає відновлення гормональної активності сім'яників і інших ендокринних залоз. Це пояснюється їх високою редокс-активністю й антиоксидантними властивостями, показаними на Wistar rats (Nikitchenko et al., 2021a, 2021b). Подібні результати відмічають дослідники за застосування альтернативних методів антиоксидантної терапії неплідності свамців, наприклад, НЧ оксиду цинку, мелатотіну або коензиму Q<sub>10</sub> (Banihani, 2018; Obembe, 2019; Goma et al., 2020; Zhao et al., 2021).

Антиоксидантний потенціал організму самця має значний вплив на регуляцію репродуктивної функції й повноцінність запліднення самиці. Існує прямий зв'язок між показниками відтворної здатності і станом антиоксидантної захисної системи. Так, за зниження показників якості

сперми і пригнічення гормональної активності залоз внутрішньої секреції відмічають низький рівень антиоксидантного захисту.

У тварин дослідної групи до введення НЧ встановлено зниження показників антиоксидантного захисту, як ензиматичної, так і неензиматичної ланок. Так, відмічено зниження активності каталази у сироватці крові кнурів на 36,5 % ( $P < 0,001$ ) і СОД – на 30,7 % ( $P < 0,001$ ). При цьому, глутатіонова ланка зазнала менш значущих змін – вміст GSH був меншим на 12,4 % ( $P < 0,05$ ), а GSH-Px активність знизилася на 30,8 % ( $P < 0,001$ ), тоді як GSH-Rd – на 24,1 % ( $P < 0,01$ ) порівняно з показниками тварин групи контролю. Установлено негативний баланс вітамінної забезпеченості організму самців – вміст вітаміну А зменшився на 37,3 % ( $P < 0,001$ ), вітаміну Е – на 29,0 % ( $P < 0,001$ ), а вітаміну С – на 20,7 % ( $P < 0,01$ ).

За корекції репродуктивної здатності кнурів за оксидативного стресу НЧ гадолінію ортованадату встановлено позитивну динаміку змін показників якості сперми і гормонального фону на тлі зниження оксидативного навантаження. Подібні позитивні зміни відзначено у динаміці антиоксидантного статусу сироватки крові самців. Так, на 15-ту добу експерименту у тварин дослідної групи встановлено посилення антиоксидантного потенціалу – каталазна активність зросла на 17,7 % ( $P < 0,05$ ), GSH-Px – на 18,9 % ( $P < 0,05$ ), а GSH-Rd – на 15,9 % ( $P < 0,05$ ). При цьому, тенденцію до підвищення зазнали активність СОД і вміст GSH. За введення НЧ гадолінію ортованадату не мала вірогідних змін динаміка показників вітамінної забезпеченості організму кнурів.

Подібні зміни отримані при дослідженні впливу антиоксидантної добавки кнурам за впливу теплового стресу, – так, встановлено зменшення ушкоджень цілісності ДНК, підвищення об'єму еякуляту, проте не спостерігали змін концентрації і рухливості сперміїв (Pena et al., 2019). На 30-ту добу експерименту антиоксидантний потенціал зазнав значних змін порівняно з показниками тварин до введення НЧ. Активність каталази і СОД

у сироватці крові зросли на 49,5 % ( $P < 0,001$ ) і на 32,6 % ( $P < 0,01$ ) відповідно й майже досягли значень групи контролю.

Подібні зміни якості сперми за підвищення антиоксидантного потенціалу сироватки крові кнурів спостерігали за введення вітаміну Е, так, наприкінці дослідження у дослідній групі відмічали зменшення вмісту спермійв із морфологічними аномаліями, підвищення показнику рухливості спермійв, що відбувалося на тлі посилення антиоксидантного захисту за зменшення вмісту ТБК-АП (Liu et al., 2017).

Значно збільшився пул тіол-дисульфідної системи – вміст GSH збільшився на 23,1 % ( $P < 0,01$ ), а активність GSH-Px і GSH-Rd підвищилися на 51,4 % ( $P < 0,001$ ) і 36,6 % ( $P < 0,001$ ) відповідно, що навіть перевищило значення групи тварин з повноцінними показниками репродуктивної здатності. Покращення показників якості сперми за рахунок активації тіол-дисульфідної системи показано й при застосуванні проліну, що ефективно захищає сперму кнурів від ОС. У цьому випадку така дія пояснюється метаболізмом проліндегідрогенази та, амінною структурою пірролідину, загалом. Одночасно із вмістом GSH відмічали підвищення активності каталази і СОД, покращення морфологічних параметрів сперми (Feng et al., 2020).

Багато дослідників розробляють засоби підвищення фертильності кнурів з використанням наночастинок різноманітного хімічного складу, найперспективнішими з яких є редокс-активні (Feugang et al., 2019).

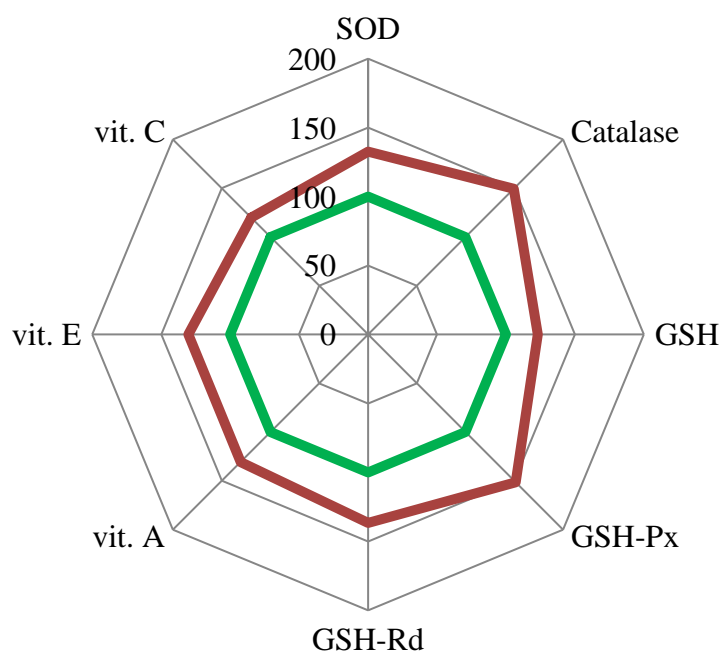
Nikitchenko et al. (2021) виявлено *in vitro* глутатіонпероксидазоподібну активність НЧ гадолінію ортованадату – показано, що завдяки активації деяких ланок ланцюга GSH-залежної антиоксидантної системи, підвищується надійність прооксидантно-антиоксидантного балансу в тканинах і особливо в мітохондріях печінки старих тварин.

Дослідженнями Vernekar et al. (2014), експериментально доведено здатність до функціональної імітації антиоксидантного ензиму GSH-Px за допомогою клітинного GSH у наноструктурованого оксиду ванадію, що



виявляє стійку ферментоподібну активність, поглинаючи активні види кисню при боротьбі з внутрішнім і зовнішнім окислювальним стресом.

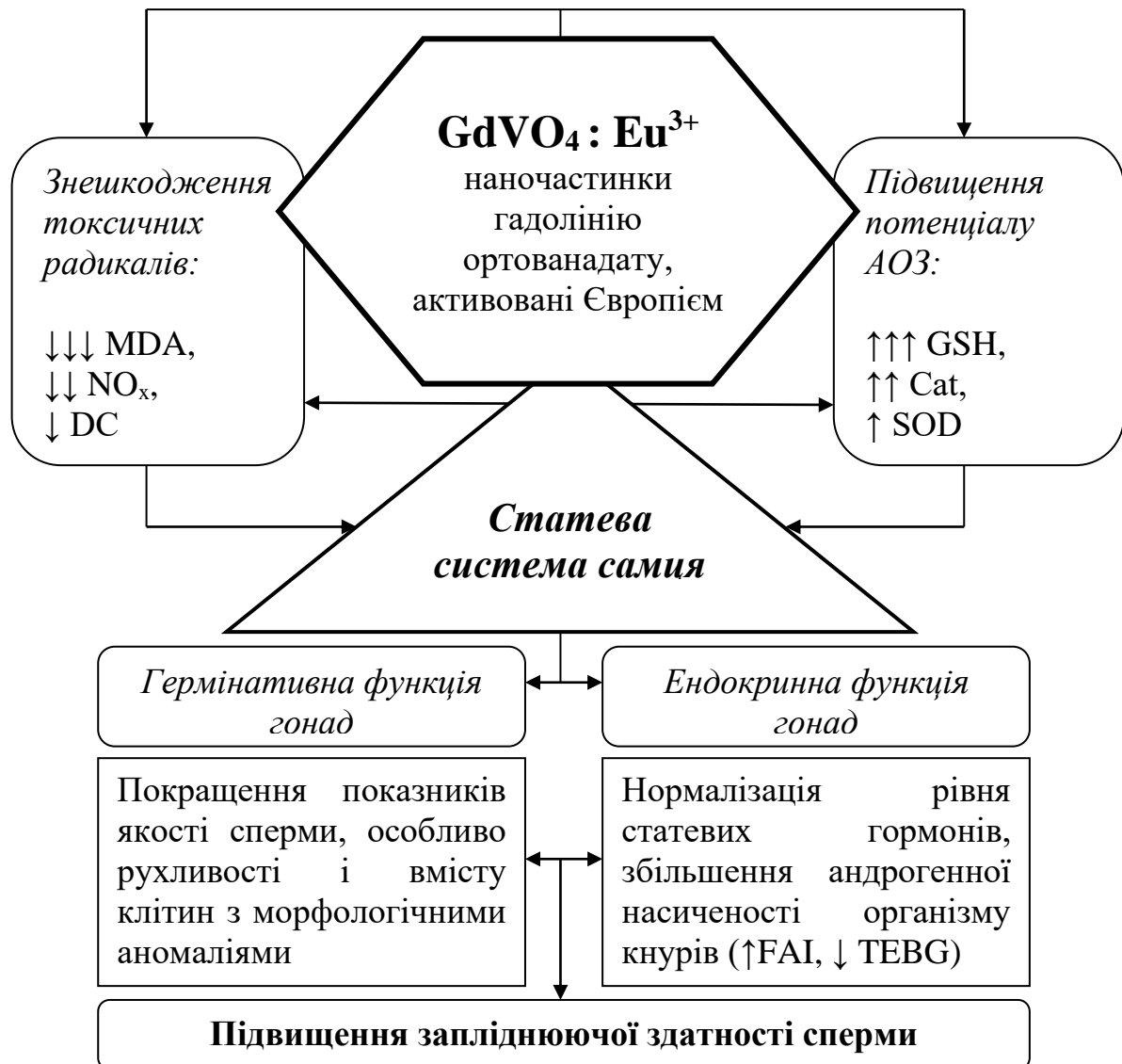
Спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів НЧ гадолінію ортованадату не мав впливу на показники вітамінного обміну – на 30-ту добу дослідження вміст вітамінів у сироватці крові не зазнав вірогідних змін порівняно з показниками групи тварин до введення НЧ і залишався меншим показників контролю. В цілому ж наявність потужних антиоксидантних властивостей НЧ гадолінію ортованадату характеризується вираженим впливом на компоненти тіол-дисульфідної системи, покращує активність каталази і СОД, проте не викликає змін у вітамінному обміні (рис. 22).



**Рис. 22. Особливості змін антиоксидантного статусу сироватки крові кнурів за введення наночастинок гадолінію ортованадату.**

*Примітка.* Дані групи зі зниженими показниками репродуктивної здатності прийняті за 100 %.

Узагальнюючи результати впливу НЧ гадолінію ортованадату підсумуємо наявність комплексного впливу на статеву функцію самців і їх прооксидантно-антиоксидантну систему у схемі (рис. 23), що відображає клініко-біохімічні ефекти розробленого способу корекції.



**Рис. 23. Механізми впливу наночастинок гадолінію ортованадату як засобу корекції репродуктивної здатності кнурів (за даними власних досліджень і аналізу літературних джерел).**

Порівняльною оцінкою ефективності застосування НЧ гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд» (четверта серія дослідів) показано наявність комплексного позитивного впливу обох засобів на андро- і сперматогенез у кнурів. Проте, досліджені засоби мали різний вплив на показники прояву статевої функції самців, що відображено на рис. 24. Більш виражені зміни рухливості сперміїв і їх концентрації спостерігали за застосування НЧ гадолінію ортованадату, що крім того покращував рівень загального тестостерону.



Рис. 24. Порівняльна ефективність засобів корекції неплідності кнурів

Примітка. На рис. стрілками позначено переважання ефекту засобу на показник.

Проведені дослідження дали можливість здійснити наукове й експериментальне обґрунтування сучасної концепції патогенезу неплідності кнурів і розробити інноваційний спосіб її корекції з використанням наночастинок гадолінію ортованадату, активованих Європієм.

Аналіз результатів дослідження, їх узагальнення й порівняння з подібними результатами з літературних джерел дають нам право дійти наступних висновків.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на основі біохімічних й аналітико-статистичних досліджень проаналізовано механізми зниження репродуктивної здатності самців за оксидативного стресу та експериментально обґрунтовано спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату, показано ефективність його впливу на якість сперми, гормональний фон і стан прооксидантно-антиоксидантної системи й проведено порівняльну оцінку розробленого способу з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд».

1. Зниження репродуктивної здатності кнурів супроводжувалося збільшенням інтенсивності процесів ліпопероксидації – за зменшення об'єму еякуляту на 14,4 % ( $P < 0,001$ ), концентрації сперміїв на 10,5 % ( $P < 0,01$ ), рухливості на 42,9 % ( $P < 0,001$ ) та за підвищення вмісту сперміїв із морфологічними аномаліями на 21 % ( $P < 0,01$ ) встановлено зростання вмісту маркерів ОС: ТБК-АП на 90,1 % ( $P < 0,001$ ), ДК – на 19,2 % ( $P < 0,001$ ) і  $\text{NO}_x$  – на 88,3 % ( $P < 0,001$ ) порівняно з самцями з повноцінними еякулятами.

2. Стан антиоксидантної захисної системи у кнурів зі зниженням репродуктивної здатності характеризувався негативними змінами, особливо ензиматичної ланки – активність СОД була меншою на 30,2 % ( $P < 0,01$ ), каталазна активність – на 33,9 % ( $P < 0,001$ ), GSH-Px – на 28,4 % ( $P < 0,05$ ), GSH-Rd – на 20,2 % ( $P < 0,05$ ). При цьому, вміст GSH зменшився на 13,3 % ( $P < 0,001$ ), а вітамінів А, Е і С – на 29,2 % ( $P < 0,001$ ), 27,6 % ( $P < 0,001$ ) і 28,1 % ( $P < 0,001$ ) відповідно.

3. За оксидативного стресу у кнурів відмічено дисбаланс гормонального фону – відбувалося зменшення рівня загального тестостерону на 45 % ( $P < 0,001$ ) за збільшення рівня  $17\beta$ -естрадіолу на 45,1 % ( $P < 0,001$ ) і кількості тестостерон-естрадіолзв'язуючого глобуліну на 33,1 % ( $P < 0,001$ ), що призвело до значного зменшення андрогенної насиченості організму самців – індекс вільних андрогенів дорівнював 19,9 %.

4. Встановлено позитивний вплив НЧ гадолінію ортованадату активованих європієм на репродуктивну функцію кролів за tВНР-індукованого ОС – збільшення об'єму еякуляту на 34,0 % ( $P < 0,001$ ), кількості живих і рухливих сперміїв на 18,8 % і 13,2 % відповідно ( $P < 0,001$ ), концентрації статевих клітин на 4,7 % ( $P < 0,001$ ) за зменшення вмісту морфологічно аномальних сперміїв на 25,6 % ( $P < 0,05$ ), при цьому відмічали нормалізацію балансу у прооксидантно-антиоксидантній системі (зменшення кількості дієнових конюгатів і тіобарбітурат-активних продуктів на 33,0 % і 27,9 % відповідно,  $P < 0,001$ , тоді як глутатіонпероксидазна і глутатіонредуктазна активності зросли на 56,8 % і 32,6 % відповідно,  $P < 0,001$ , а вміст відновленого глутатіону був вищим на 66,7 %,  $P < 0,001$ ).

5. За застосування НЧ гадолінію ортованадату спостерігали зниження оксидативного навантаження організму кнурів – на 15-ту добу дослідження мала тенденцію до зниження кількості ДК, а концентрація ТБК-АП була достовірно меншою на 24,7 % ( $P < 0,05$ ), тоді як вміст  $\text{NO}_x$  був меншим на 25,2 % ( $P < 0,001$ ); на 30-ту добу експерименту встановлено відновлення прооксидантного балансу: концентрацію ДК була зменшено на 9,4 % ( $P < 0,05$ ), а вміст ТБК-АП на 48,2 % ( $P < 0,001$ ), кількість  $\text{NO}_x$  була меншою на 42,6 % ( $P < 0,001$ ) показників до введення, що свідчить про наявність пролонгованого ефекту введення НЧ.

6. Оцінюючи ефективність розробленого способу корекції відзначено, що на 90-ту добу дослідження показники якості еякулятів майже досягали значень самців групи контролю: показники рухливості сперміїв і кількості рухливих сперміїв у еякуляті, що особливо уразливі до дії ОС, достовірно підвищувалися на 95,2 % ( $P < 0,001$ ) та в 1,48 рази ( $P < 0,001$ ) відповідно, тоді як об'єм еякуляту зростав на 15,1 % ( $P < 0,001$ ), а концентрація сперміїв була вищою на 11,8 % ( $P < 0,01$ ), при цьому вміст сперміїв з морфологічними аномаліями було зменшено на 18,3 % ( $P < 0,01$ ).

7. Введення гідрозолу НЧ гадолінію ортованадату сприяло нормалізації гормонального фону кнурів дослідної групи – на 30-ту добу

експерименту рівень загального тестостерону збільшувався на 77,4 % ( $P < 0,001$ ), тоді як рівень  $17\beta$ -естрадіолу і вмісту ТЕЗГ навпаки характеризувалися достовірним зменшенням на 25,0 % ( $P < 0,01$ ) і 26,8 % ( $P < 0,001$ ) відповідно, при цьому ІВА дорівнював 43,2 % що доводило відновлення гормонального балансу до значень тварин з повноцінною репродуктивною здатністю.

8. Позитивну динаміку змін за впливу корегувального засобу відмічено у стані антиоксидантної захисної системи, особливо тіол-дисульфідної ланки, так, вміст GSH на 30-ту добу експерименту був вищим на 23,1 % ( $P < 0,01$ ), активність GSH-Px була вищою на 51,4 % ( $P < 0,001$ ), а GSH-Rd зростала на 36,6 % ( $P < 0,001$ ), що перевищувало дані контролю, у той же час каталазна й СОД активність були вищими на 49,5 % ( $P < 0,001$ ) і 32,6 % ( $P < 0,01$ ) відповідно, при цьому впливу НЧ на показники вітамінного обміну відзначено не було.

9. Порівняльною оцінкою ефективності застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд» показано наявність комплексного позитивного впливу обох засобів на андрогенез і сперматогенез у кнурів, що характеризувався різноспрямованістю дії – так, введення наночастинок сприяє переважному збільшенню рухливості сперміїв (на 35,5 %,  $P < 0,01$ ) і їх концентрації (на 8,3 %,  $P < 0,01$ ), тоді як використання препарату «Карафанд» покращує об'єм еякуляту (на 23,1 %,  $P < 0,001$ ) і зменшує вміст сперміїв із морфологічними аномаліями (на 48,9 %,  $P < 0,001$ ), варто зазначити, що застосування НЧ було економічно доцільним – від кнура було додатково отримано від 1 до 3 доз сперми, що склало 3,0-9,0 тис. грн. прибутку, а від однієї свиноматки додатково отримано 3,4 поросяти.

## ПРАКТИЧНІ ПРОПОЗИЦІЇ

1. Пропонуємо використовувати розроблений спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів, що дозволить ефективно нормалізувати якісні показники еякулятів й гормональний фон на тлі зменшення оксидативного навантаження та збільшення андрогенної насиченості організму, за введення гідрозолу наночастинок гадолінію ортованадату зерноподібної форми розміром  $8 \times 25$  нм у дозі  $0,0125$  мг на кг живої маси упродовж 14 діб, згідно науково-методичних рекомендацій «Спосіб корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату» (затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету, протокол № 2 від 05 вересня 2022 р. та Вченою радою Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, протокол № 5 від 21 червня 2022 р.).

2. Рекомендуємо застосування препарату «Карафанд» (ТУ У 24.4-1452420732-005:2010), що являє собою олійний розчин каротиноїдів ( $10,0 \pm 0,75$  мг) і біологічно активних речовин з кореневища айру болотного ( $1,0 \pm 0,05$  мг) (*Acorus calamus*) упродовж 14 діб у дозі  $20 \text{ см}^3$  на самця для збільшення об'єму еякуляту у кнурів, активізації їх гормонального фону, згідно вищенаведених науково-методичних рекомендацій.

3. Результати клініко-експериментальних досліджень можуть бути використані у навчальному процесі для студентів спеціальностей 211 – Ветеринарна медицина, 212 – Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза, а також науково-дослідній роботі для написання підручників, навчальних посібників, монографій і наукових статей.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

Abdel-Wareth, A. A., Al-Kahtani, M. A., Alsyaad, K. M., Shalaby, F. M., Saadeldin, I. M., Alshammari, F. A. Mobashar, M., Suleiman, M., Ali, A., & Taqi, M. O. (2020). Combined supplementation of Nano-Zinc oxide and thyme oil improves the nutrient digestibility and reproductive fertility in the male Californian rabbits. *Animals*, 10(12), article number 2234. <https://www.doi.org/10.3390/ani10122234>

Abo-Elsoud, M. A., Hashem, N. M., Nour El-Din, A., Kamel, K. I., & Hassan, G. A. (2019). Soybean isoflavone effects in rabbits: Effects on metabolism, antioxidant capacity, hormonal balance and reproductive performance. *Animal Reproduction Science*, 203, 52–60. <https://www.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.02.007>

Adeel, A. L., Jahan, S., Subhan, F., Alam, W., & Bibi, R. (2011). Total antioxidant status: a biochemical predictor of human male fertility. *Andrologia*, 44, 20–25. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2010.01131.x>

Adeoye, O., Olawumi, J., Opeyemi, A., & Christiania, O. (2018). Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. *JBRA Assisted Reproduction*, 22(1), 61–66. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180003>

Adewoyin, M., Ibrahim, M., Roszaman, R., Isa, M., Alewi, N., Rafa, A., & Anuar, M. (2017). Male Infertility: The Effect of Natural Antioxidants and Phytocompounds on Seminal Oxidative Stress. *Diseases*, 5(1), article number 9. <https://doi.org/10.3390/diseases5010009>

Agarwal, A., & Bui, A. D. (2017). Oxidation-reduction potential as a new marker for oxidative stress: Correlation to male infertility. *Investigative and Clinical Urology*, 58(6), article number 385. <https://doi.org/10.4111/icu.2017.58.6.385>

Agarwal, A., Makker, K. & Sharma, R. (2008). Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *American Journal*



*Reproductive Immunology*, 59 (1), 2–11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00559.x>

Agarwal, A., Mulgund, A., Sharma, R. & Sabanegh, E. (2014). Mechanisms of oligozoospermia: an oxidative stress perspective. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 60(4), 206–216. <https://doi.org/10.3109/19396368.2014.918675>

Agarwal, A., Prabakaran, S., & Allamaneni, S. S. (2006). Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility: a meta-analysis. *Reproductive Biomedicine Online*, 12(5), 630–633. [https://doi.org/10.1016/s1472-6483\(10\)611-90-x](https://doi.org/10.1016/s1472-6483(10)611-90-x)

Agarwal, A., Rana, M., Oiu, E., AlBunni, H., Bui, A. D. & Henkel, R. (2018). Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility. *Andrologia*, 50(11), article number e13126. <https://doi.org/10.1111/and.13126>

Agarwal, A., Sharma, R., Nallella, K., Thomasjr, A., Alvarez, J., & Sikka, S. (2006). Reactive oxygen species as an independent marker of male factor infertility. *Fertility and Sterility*, 86(4), 878–885. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.02.111>

Agarwal, A., Tvrda, E., & Sharma, R. (2014). Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1), article number 45. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-45>

Aitken, R. J., & Roman, S. D. (2008). Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1(1), 15–24. <https://doi.org/10.4161/oxim.1.1.6843>

Aitken, R. J., Jones, K. T., & Robertson, S. A. (2012). Reactive oxygen species and sperm function – in sickness and in health. *Journal of Andrology*, 33(6), 1096–1106. <https://doi.org/10.2164/jandrol.112.016535>

Aitken, R. J., Nixon, B., Lin, M., Koppers, A. J., Lee, Y. H., & Baker, M. A. (2007). Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal

maturation. *Asian Journal of Andrology*, 9(4), 554–564.  
<https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2007.00280.x>

Aitken, R., Smith, T., Jobling, M., Baker, M., & De Iuliis, G. (2014). Oxidative stress and male reproductive health. *Asian Journal of Andrology*, 16(1), 31–38. <https://doi.org/10.4103/1008-682x.122203>

Aitken, R.J. (2016) Oxidative stress and the etiology of male infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 33, 1691–1692. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0791-4>

Akmal, M., Qadri, J. Q., Al-Waili, N. S., Thangal, S., Haq, A., & Saloom, K. Y. (2006). Improvement in human semen quality after oral supplementation of vitamin C. *Journal of Medicinal Food*, 9(3), 440–442. <https://doi.org/10.1089/jmf.2006.9.440>

Aktan, G., Doğru-Abbasoğlu, S., Küçükgergin, C., Kadioğlu, A., Özdemirler-Erata, G., & Koçak-Toker, N. (2013). Mystery of idiopathic male infertility: is oxidative stress an actual risk? *Fertility and Sterility*, 99(5), 1211–1215. <https://doi.org/10.1016/j.fertstert.2012.11.045>

Ali, M. K. (2016). Antioxidant defense system and oxidative damages in Rice seedlings under heat stress. *Pure and Applied Biology*, 5(4) article number 50136. <https://doi.org/10.19045/bspab.2016.50136>

Alonso, V., Linares, V., Belles, M., Albina, M. L., Sirvent, J. J., Domingo, J. L., & Sanchez, D. J. (2009). Sulfasalazine induced oxidative stress: A possible mechanism of male infertility. *Reproductive Toxicology*, 27(1), 35–40. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2008.10.007>

Amaral, A., & Ramalho-Santos, J. (2009). Assessment of mitochondrial potential: implications for the correct monitoring of human sperm function. *International Journal of Andrology*, 33(1), 180–186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.00987.x>

Amjad, S., Baig, M., Zahid, N., Tariq, S. & Rehman, R. (2019). Association between leptin, obesity, hormonal interplay and male infertility. *Andrologia*, 51(1), article number e13147. <https://doi.org/10.1111/and.13147>

Appasamy, M., Muttukrishna, S., Pizzey, A. R., Ozturk, O., Groome, N. P., Serhal, P., & Jauniaux, E. (2007). Relationship between male reproductive hormones, sperm DNA damage and markers of oxidative stress in infertility. *Reproductive Biomedicine Online*, *14*(2), 159–165. [https://www.doi.org/10.1016/s1472-6483\(10\)60783-3](https://www.doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60783-3)

Arafa, M., Agarwal, A., Majzoub, A., Panner Selvam, M. K., Baskaran, S., Henkel, R., & Elbardisi, H. (2020). Efficacy of antioxidant supplementation on conventional and advances sperm function tests in patients with idiopathic male infertility. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, *9*(3), article number 219. <https://doi.org/10.3390/antiox9030219>

Asadi, F., Mohseni, M., Dadashi Noshahr, K., Soleymani, F. H., Jalilvand, A., & Heidari, A. (2017). Effect of Molybdenum nanoparticles on blood cells, liver enzymes and sexual hormones in male rats. *Biological trace element research*, *175*(1), 50–56. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0765-5>

Atig, F., Raffa, M., Habib, B. A., Kerkeni, A., Saad, A., & Ajina, M. (2012). Impact of seminal trace element and glutathione levels on semen quality of Tunisian infertile men. *BMC Urology*, *12*, article number 6. <https://doi.org/10.1186/1471-2490-12-6>

Attia, Y.A., Hamed, R.S., Bovera, F., Abd El-Hamid, A., Al-Harhi, M.A., & Shahba, H.A. (2017). Semen quality, antioxidant status and reproductive performance of rabbits bucks fed milk thistle seeds and rosemary leaves. *Animal Reproduction Science*, *184*, 178–186. <https://www.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.07.014>

Aydemir, B., Kiziler, A. R., Onaran, I., Alici, B., Ozkara, H., & Akyolcu, M. C. (2006). Impact of Cu and Fe concentrations on oxidative damage in male infertility. *Biological Trace Element Research*, *112*(3), 193–204. <https://doi.org/10.1385/bter:112:3:193>

Bachhawat, A.K. & Yadav, S. (2018). The glutathione cycle: glutathione metabolism beyond the  $\gamma$ -glutamyl cycle. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, *70*(7), 585-592. <https://doi.org/10.1002/iub.1756>

Balercia, G., Mancini, A., Paggi, F., Tiano, L., Pontecorvi, A., Boscaro, M., Lenzi, A., & Littarru, G. P. (2009). Coenzyme Q10 and male infertility. *Journal of Endocrinological Investigation*, 32(7), 626–632.

<https://doi.org/10.1007/BF03346521>

Banihani, S. A. (2018). Effect of Coenzyme Q<sub>10</sub> supplementation on testosterone. *Biomolecules*, 8(4), article number 172.

<https://doi.org/10.3390/biom8040172>

Barati, E., Nikzad, H., & Karimian, M. (2020). Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management. *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 77(1), 93–113.

<https://doi.org/10.1007/s00018-019-03253-8>

Barbato, V. (2015). Oxidative stress and male infertility: role of antioxidants and their possible applications in assisted reproduction. *Current Trends in Clinical Embriology*, 3(2), article number 92. <https://doi.org/10.11138/cce/2015.2.3.092>

Barik, G., Chaturvedula, L. & Bobby, Z. (2019). Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility: An interventional study. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 12(3), article number 204.

[https://doi.org/10.4103/jhrs.jhrs\\_135\\_18](https://doi.org/10.4103/jhrs.jhrs_135_18)

Bathgate, R. (2011). Antioxidant mechanisms and their benefit on post-thaw boar sperm quality. *Reproduction in Domestic Animals*, 46, 23–25.

<https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01826.x>

Bautista, C. J., Rodriguez-Gonzales, G. L., Morales, A., Lomas-Soria, C., Cruz-Perez, F., Reyes-Castro, L. A., & Zambrano, E. (2017). Maternal obesity in the rat impairs male offspring aging of the testicular antioxidant defence system. *Reproduction, Fertility and Development*, 29(10), article number 1950.

<https://doi.org/10.1071/rd16277>

Beigi Harchegani, A., Rahmani, H., Tahmasbpour, E., & Shahriary, A. (2019). Hyperviscous Semen Quality and Male Infertility through Induction of Oxidative Stress. *Current Urology*, 13(1), 1–6. <https://doi.org/10.1159/000499302>

Belkina, I. O., Smolenko, N. P., Klochkov, V. K., Malukin, Yu. V., Chistyakova, E. E., Karpenko, N. A., & Karachentsev, Yu. I. (2017). The assessment of gadolinium orthovanadate nanoparticles value for neonatally-induced reproductive disease in male rats. *International Journal of Physiology and Pathophysiology*, 8(4), 299–307. <https://doi.org/10.1615/IntJPhysPathophys.v8.i4.20>

Ben Abdallah, F., Fetoui, H., Zribi, N., Fakfakh, F., & Ammar-Keskes, L. (2011). Antioxidant supplementations in vitro improve rat sperm parameters and enhance antioxidant enzyme activities against dimethoate-induced sperm damages. *Andrologia*, 44, 272–279. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01177.x>

Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M. & Dada, R. (2017). Oxidative stress and male infertility. *Nature Reviews Urology*, 14(8), 470–485. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.69>

Bolle, P., Evandri, M. G., & Saso, L. (2002). The controversial efficacy of vitamin E for human male infertility. *Contraception*, 65(4), 313–315. [https://doi.org/10.1016/s0010-7824\(02\)00277-9](https://doi.org/10.1016/s0010-7824(02)00277-9)

Braga, D. P., Halpern, G., Figueira, R., Setti, A. S., Iaconelli, A., Jr, & Borges, E., Jr (2012). Food intake and social habits in male patients and its relationship to intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Fertility and Sterility*, 97(1), 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.10.011>

Breining, E., Descalzo, A., Rossetti, L., Abramovich, D. & Beconi, M. T. (2011). Boar sperm functionality is related to  $\alpha$ -tocopherol content after freezing-thawing. *Andrologia*, 43(6), 409–415. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2010.01094.x>

Broekhuijse, M. L., Feitsma, H., & Gadella, B. M. (2011). Field data analysis of boar semen quality. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 46(2), 59–63. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01861.x>

Bykova, M., Titova, N., Sharma R., & Agarwal, A. (2007a). Malondialdehyde and diene conjugate levels in sperm and seminal plasma of

infertile and normozoospermic men. *Fertility and Sterility*, 88, 303–304. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.07.1020>

Bykova, M., Titova, N., Sharma R., & Agarwal, A. (2007b). Glutathione and glutathione-dependent enzymes in sperm and seminal plasma from infertile men. *Fertility and Sterility*, 88, 366–367. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.07.1220>

Carlberg, I. & Mannervik, B. (1985) Glutathione reductase. *Methods in Enzymology*, 113, 484–490. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(85\)13062-4](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(85)13062-4)

Cerovsky, J., Frydrychova, S., Lustykova, A., & Rozkot, M. (2005). Changes in boar semen with high and low level of morphologically abnormal spermatozoa. *Czech Journal of Animal Science*, 50(7), 289–299.

Cerovsky, J., Frydrychova, S., Lustykova, A., Lipensky, J., & Rozkot, M. (2009). Semen characteristics of boars receiving control diet and control diet supplemented with L-carnitine. *Czech Journal of Animal Science*, 54(9), 417–425.

Chambers, T., & Anderson, R. (2015). The impact of obesity on male fertility. *HORMONES: International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 14(4), 563–568. <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1621>

Ciftci, H., Verit, A., Savas, M., Yeni, E., & Erel, O. (2009). Effects of N-acetylcysteine on semen parameters and oxidative/antioxidant status. *Urology*, 74(1), 73–76. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2009.02.034>

Ciornei, S., Drugociu, D., Ciornei, L. M., Mares, M., & Roska, P. (2021). Total asepsitization of boar semen to increase the biosecurity of reproduction in swine. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(20), article number 6183. <https://doi.org/10.3390/molecules26206183>

Colagar, A. H., Marzony, E. T., & Chaichi, M. J. (2009). Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. *Nutrition Research*, 29(2), 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2008.11.007>

Collodel, G., Mattioli, S., Moretti, E., Cerretani, D., Micheli, L., Fiaschi, A. I., Menchetti, L., Brecchia, G., & Castellini, C. (2020). Oxidative and/or inflammatory trust induced by Silver nanoparticles in rabbits: effect on vitamin E

or NSAID administration on semen parameters. *Mediators of Inflammation*, article number 6664062. <https://www.doi.org/10.1155/2020/6664062>

Czubaszek, M., Andraszek, K., & Banaszewska, D. (2020). Influence of the age of the individual on the stability of boar sperm genetic material. *Theriogenology*, 147, 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.018>

Czubaszek, M., Andraszek, K., Banaszewska, D., & Walczak-Jędrzejowska, R. (2019). The effect of the staining technique on morphological and morphometric parameters of boar sperm. *PloS one*, 14(3), article number e0214243. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214243>

Darbandi, M., Darbandi, S., Agarwal, A., Sengupta, P., Durairajanayagam, D., Henkel, R., & Sadeghi, M. R. (2018). Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 16(1), article number 87. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0406-2>

De Lamirande, E., & O'Flaherty, C. (2008). Sperm activation: Role of reactive oxygen species and kinesis. *Biochimika and Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 1784(1), 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2007.08.024>

Desai, N., Sharma, R., Makker, K., Sabanegh, E. & Agarwal, A. (2009). Physiologic and pathologic levels of reactive oxygen species in neat semen of infertile men. *Fertility and Sterility*, 92(5), 1626–1631. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.08.109>

Dimakopoulou, A., & Jayasena, C. N. (2018). Seminal reactive oxygen species, a novel biochemical assay for testing male fertility? *The Biochemist*, 40(3), 12–13. <https://doi.org/10.1042/bio04003012>

Domoslawska, A., Zdunczyk, S., Franczyk, M., Kankofer, M., & Janowski, T. (2018). Selenium and vitamin E supplementation enhances the antioxidant status of spermatozoa and improves semen quality in male dogs with lowered fertility. *Andrologia*, 50(6), article number e13023. <https://doi.org/10.1111/and.13023>

Doshi, S. B., Khullar, K., Sharma, R. K. & Agarwal, A. (2012) Role of reactive nitrogen species in male infertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10, 109–120. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-109>

Du Plessis, S.S., Agarwal, A., Halabi, J. & Tvrda, E. (2015). Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(4), 509–520. <https://doi.org/10.1007/s10815-014-0425-7>

Dubinina, E. E, Babenko, G. A., Shcherbak, I. G. & Turkin, V. B. (1990). Characteristics of superoxide dismutase of human blood plasma. *Free Radical Biology and Medicine*, 9, 130. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(90\)-90637-x](https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)-90637-x)

Dziekonska, A., Swiader, K., Koziorov, M. et al. (2017) Effect of boar ejaculate fraction, extender type and time of storage on quality of spermatozoa. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 20(1), 77–84. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0011>

El-Baky, A. E. A., & Hafez, M. M (2017). NOS expression in oxidative stress, neurodegeneration and male infertility induced by the abuse of Tramadol. *Biochemistry & Pharmacology: Open Access*, 6(01), article number 1000223. <https://doi.org/10.4172/2167-0501.1000223>

Fatemi, N., Sanati, M. H., Shamsara, M., Moayer, F., Zavarehei, M.J., Pouya, A., Sayyehpour, F., Ayat, H., & Gourabi, H. (2014). TBHP-induced oxidative stress alters microRNAs expression in mouse testis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 31(10), 1287–1293. <https://www.doi.org/10.1007/s10815-014-0302-4>

Feng, C., Zhu, Z., Bai, W., Li, R., Zheng, Y., Tian, X., Wu, D., Lu, H., Wang, Y., & Zeng, W. (2020). Proline protects boar sperm against oxidative stress through proline dehydrogenase-mediated metabolism and the amine structure of pyrrolidine. *Animals*, 10(9), article number 1549. <https://doi.org/10.3390/ani10091549>



Ferlin, A., & Foresta, C. (2014). New genetic markers for male fertility. *Current opinion in obstetrics & gynecology*, 26(3), 193–198. <https://doi.org/10.1097/GCO.0000000000000061>

Feugang, J. M., Rhoads, C. E., Mustapha, P. A., Tardif, S., Parrish, J. J., Willard, S. T., & Ryan, P. L. (2019). Treatment of boar sperm with nanoparticles for improved fertility. *Theriogenology*, 137, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.040>

Ford, P. C., & Miranda, K. M. (2020). The solution chemistry of nitric oxide and other reactive nitrogen species. *Nitric Oxide*, 103, 31–46. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2020.07.004>

Ford, W. C. L. (2004). Regulation of sperm function by reactive oxygen species. *Human Reproduction Update*, 10(5), 387–399. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmh034>

Gadella, B.M. (2017). Reproductive tract modifications of the boar sperm surface. *Molecular Reproduction and Development*, 84(9), 822–831. <https://doi.org/10.1002/mrd.22821>

Gharagozloo, P., & Aitken, R. J. (2011). The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Human Reproduction*, 26(7), 1628–1640. <https://doi.org/10.1093/humrep/der132>

Ghareeb, D.A. & Sarhan, E.M.E. (2014) Role of oxidative stress in male fertility and idiopathic infertility: causes and treatment. *Journal of Diagnostic Techniques and Biomedical Analysis*, 3(1), article number 1000110. <https://doi.org/10.4172/2469-5653.1000107>

Ghoms, M.O., Enow, J.T., Etchu, A.K., Tientcheu, B.L., Enamou, G., Choungoung, T.M., Mongo, B.G., & Bayemi, P.H. (2017). Effect of Moringa oleifera leaf meal on the growth, carcass, hematology and biochemical parameters of rabbits. *SOJ Veterinary Sciences*, 3(3), 1–5. <https://www.doi.org/10.15226/2381-2907/3/3/00133>

Gil-Guzman, E., Ollero, M., Lopez, M .C., Sharma, R. K., Alvarez, J. G., Thomas, A. J., Jr, & Agarwal, A. (2001). Differential production of reactive

oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Human Reproduction*, 16(9), 1922–1930. <https://doi.org/10.1093/humrep/16.9.1922>

Girault, M. S., Dupuis, S., Ialy-Radio, C., Stouvenel, L., Violett, C., Pierre, R., Favier, M., Ziyayat, A., & Barbaux, S. (2021). Deletion of the *Spata3* gene induces sperm alterations and in vitro hypofertility in mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), article number 1959. <https://doi.org/10.3390/ijms22041959>

Goma, A. A., Tohamy, H. G., El-Kazaz, S. E., Soliman, M. M., Shukry, M., Elgazzar, A. M., & Rashed, R. R. (2020). Insight study on comparison between zinc oxide nanoparticles and its bulk impact on reproductive performance, antioxidant levels, gene expression, and histopathology of testes in male rats. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(1), article number 41. <https://doi.org/10.3390/antiox10010041>

Griveau, J.F., & Le Lannou, D. (1997). Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology. *International Journal of Andrology*, 20(2), 61–69. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2605.1997.00044.x>

Gvozdjakova, A., Kucharska, J., Lipkova, J., Bartolcicova, B., Dubravicky, J., Vorakova, M., Cernakova, I., & Singh, R. B. (2013). Importance of the assessment of coenzyme Q10, alpha-tocopherol and oxidative stress for the diagnosis and therapy of infertility in men. *Bratislavske Lekarske Listy*, 114(11), 607–609. [https://doi.org/10.4149/bll\\_2013\\_129](https://doi.org/10.4149/bll_2013_129)

Hamada, A., Esteves, S. C., & Agarwal A. (2012). Insight into oxidative stress in varicocele-associated male infertility: part 2. *Nature Reviews Urology*, 10(1), 26–37. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2012.198>

Hammadeh, M. E., Radwan, M., Al-Hasani, S., Micu, R., Rosenbaum, P., Lorenz, M., et al. (2006). Comparison of reactive oxygen species concentration in seminal plasma and semen parameters in partners of pregnant and non-pregnant patients after IVF/ICSI. *Reproductive Biomedicine Online*, 13(5), 696–706. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)60661-X](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60661-X)

He, B., Guo, H., Gong, Y., & Zhao, R. (2017). Lypopolysaccharide-induced mitochondrial dysfunction in boar sperm is mediated by activation of oxidative phosphorylation. *Theriogenology*, 87, 1–8.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.07.030>

Hogarth, C. A., & Griswold, M. D. (2010). The key role of vitamin A in spermatogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(4), 956–962.

<https://doi.org/10.1172/JCI41303>

Huang, I., & Khorram, O. (2002). Seminal plasma nitric oxide (NO) and its correlation with sperm quality. *Fertility and Sterility*, 78, 206–207.

[https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(02\)04122-5](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(02)04122-5)

Ihsan, A. U., Khan, F. U., Khongorzul, P., Ahmad, K. A., Naveed, M., Yasmeen, S., Zhou, X. (2018). Role of oxidative stress in pathology of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and male infertility and antioxidants function in ameliorating oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 106, 714–723.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.06.139>

Jandou, I., Mhanna, T., Chennoufi, M., Aynaou, M., El Houmaidi, A., & Barki, A. (2020). Hypofertility in a persistence of mullerian duct syndrome: case report. *International Journal of Surgery Case Reports*, 77, 778–781.

<https://doi.org/10.j.ijscr.2020.11.011>

Jankowiak, D., Pilarczyk, R., Drozd, R., Pilarczyk, B., Tomza-Marciniak, A., Wysocka, G., Kuba, J. (2015). Activity of antioxidant enzymes in the liver of wild boars (*Sus scrofa*) from a selenium-deficient area depending on sex, age, and season of the year. *Turkish Journal of Biology*, 39, 129–138.

<https://doi.org/10.3906/biy-1405-52>

Jezek, M., Stripek, K., Kusta, T., Cervený, J. & Vicha, J. (2011). Reproductive and morphometric characteristics of wild boar (*Sus scrofa*) in the Czech Republic. *Journal of Forest Science*, 57(7), 285–292.

<https://doi.org/10.17221/102/2010-jfs>

Khodamoradi, K., Parmar, M., Khosravizadeh, Z., Kuchakulla, M., Manoharan, M., & Arora, H. (2020). The role of leptin and obesity on male

infertility. *Current opinion in urology*, 30(3), 334–339.  
<https://doi.org/10.1097/MOU.0000000000000762>

Khoi, H. X., Shimizu, K., Yoneda, Y., Minagawa, I., Abe, Y., Kuwabara, Y., Sasanami, T., & Kohsaka, T. (2021). Monitoring the reactive oxygen species in spermatozoa during liquid storage of boar semen and its correlation with sperm motility, free thiol content and seasonality. *Andrologia*, 53(11), article number e14237. <https://doi.org/10.1111/and.14237>

Kim, A. D., Zhang, R., Kang, K. A., You, H. J., Kang, K. G., & Hyun, J. W. (2011). Jeju ground water containing vanadium enhances antioxidant systems in human liver cells. *Biological Trace Element Research*, 147(1-3), 16–24. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9277-5>

Kim, Y.S. & Han, S. (2000). Superoxide reactivates nitric oxide-inhibited catalase. *Biological Chemistry*, 381(12), 1269–1271. <https://doi.org/10.1515/bc.2000.156>

Kirakoya, B., Barnabe, Z., Karim, P. A., Aristide, K. F., Clotaire, Y., & Amelie, N. (2015). Epidemiological and clinical profile of male hypofertility in consultation at the urology-andrology of Yalgado Quedraogo teaching hospital (Burkina Faso). *Advances in Sexual Medicine*, 5(1), 1–6. <https://doi.org/10.4236/asm.2015.51001>

Klochkov, V.K., Grigorova, A.V., Sedyh, O.O., & Malyukin, Y.V. (2012). Characteristics of  $n\text{LnVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  (Ln = La, Gd, Y, Sm) sols with nanoparticles of different shapes and sizes. *Journal of Applied Spectroscopy*, 79(5), 726–730. <https://www.doi.org/10.1007/s10812-012-9662-7>

Knecht, D., Jankowska-Makosa, A. & Duzinski, K. (2017). The dependence of the growth rate and meat content of young boars on semen parameters and conception rate. *Animal*, 11(5), 802–810. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001993>

Ko, E. Y., Sabanegh, E. S., & Agarwal, A. (2014). Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertility and Sterility*, 102(6), 1518–1527. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.10.020>

Koksal, I. T., Erdogru, T., Gulkesen, H., Sezer, C., Usta, M., Ciftcioglu, A., & Baykara, M. (2004). The potential role of inducible nitric oxide synthase (iNOS) activity in the testicular dysfunction associated with varicocele: An experimental study. *International Urology and Nephrology*, 36(1), 67–72. <https://doi.org/10.1023/b:urol.0000032687.58462.4f>

Koshevoy, V. I. Dynamics of the content of oxidative stress markers in boars during correction of reproductive ability reduction using gadolinium orthovanadate nanoparticles. Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини: XIX Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Яновича В. Г. (м. Львів, 3–4 грудня 2020 р.). *Біологія тварин*, 2020, 22(4), С. 70.

Koshevoy, V. I. The state of nonenzymatic system of antioxidant protection in boar-inseminators with decreased reproductive capacity under the influence of oxidative stress. Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин: щорічна наук.-практ. конф. мол. вчених (м. Київ, 9 лип. 2020 р.). Київ, 2020. С. 16.

Koshevoy, V. I., & Naumenko, S. V. (2020a). The impact of oxidative stress in reducing the reproductive capacity of the boar-inseminators. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 5, 246–249. <https://doi.org/10.31890/vttp.2020.05.43>

Koshevoy, V. I., & Naumenko, S. V. (2020b). The activity of antioxidant protection enzymatic system of boars with a decrease in their reproductive capacity under oxidative stress. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(3), 194–197. <https://doi.org/10.32819/2020.83027>

Koshevoy, V. I., & Naumenko, S. V. Oxidative stress and male infertility: the activity of the antioxidant protection enzymatic system. Today`s problems in medicine, pharmacy and dentistry: abstracts of international scientific and practical conference (Arad, Romania, December 17–18, 2020). pp. 90–94.

Koshevoy, V. I., & Naumenko, S. V. The assessment of hormonal background in boars with decreased reproductive ability under oxidative stress. Modern methods of diagnostic, treatment and prevention in veterinary medicine: II conference dedicated to the 140<sup>th</sup> anniversary of the opening of the educational institution “Kaiser-Royal Veterinary School of Horseshoeing together with an Inpatient Clinic for animals in Lviv” (Lviv, November 18–19, 2021). p. 186–187.

Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., & Skliarov, P. M. The activity of the glutathione link of antioxidant protection of boars with a decrease in reproductive capacity under oxidative stress. Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин: матеріали щорічної науково-практичної конференції молодих вчених (м. Київ, 30 червня 2021 р.). С. 16.

Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., Klochkov, V. K., & Yefimova, S. L. The use of nanoparticles based on rare-earth elements oxides for the correction of reproductive ability in boars. Modern medicine and pharmacology: innovations and prospects of development after the beginning of the RF war with Ukraine: collective monograph. Bratislava, Slovakia, 2022. p. 26–46. ISBN 978-80-974150-9-9

Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., Klochkov, V. K., & Yefimova, S. L. (2021). Antioxidant status of blood serum in boars under correction of reproductive ability by gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Colloquium Journal*, 35(122), 5–9. <https://doi.org/10.24412/2520-6990-2021-35122-5-9>

Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., Klochkov, V. K., & Yefimova, S. L. (2021). The use of gadolinium orthovanadate nanoparticles for the correction of reproductive ability in boars under oxidative stress. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 12(2), 74–82. <https://doi.org/10.31548/ujvs.2021.02.008>

Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., Klochkov, V. K., & Yefimova, S. L. (2021). The peculiarities of hormonal background in boars under correction of reproductive capacity by gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and*

*Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(104), 66–70.  
<https://doi.org/10.32718/nvlvet10411>

Koshevoy, V., Naumenko, S., Skliarov, P., Fedorenko, S., & Kostyshyn, L. (2021). Male infertility: Pathogenetic significance of oxidative stress and antioxidant defence (review). *Scientific Horizons*, 24(6), 107–116.  
[https://doi.org/10.48077/scihor.24\(6\).2021.107-116](https://doi.org/10.48077/scihor.24(6).2021.107-116)

Koshevoy, V., Naumenko, S., Skliarov, P., Syniahovska, K., Vikulina, G., Klochkov, V., & Yefimova, S. (2022). Effect of gadolinium orthovanadate nanoparticles on male rabbits' reproductive performance under oxidative stress. *World's Veterinary Journal*, 12(3), 296–303.  
<https://doi.org/10.54203/scil.2022.wvj37>

Koziorowska-Gilun, M., Koziorowski, M., Strzezek, J. & Fraser, L. (2011). Seasonal changes in antioxidant defense systems in seminal plasma and fluids of the boar reproductive tract. *Reproductive biology*, 11(1), 37–47.  
[https://doi.org/10.1016/s1642-431x\(12\)60062-x](https://doi.org/10.1016/s1642-431x(12)60062-x)

Kullisaar, T., Turk, S., Punab, M., & Mandar, R. (2011). Oxidative stress – cause or consequence of male genital tract disorders? *The Prostate*, 72(9), 977–983. <https://doi.org/10.1002/pros.21502>

Lanzafame, F. M., La Vignera, S., Vicari, E., & Calogero, A. E. (2009). Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. *Reproductive Biomedicine Online*, 19(5), 638–659. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2009.09.014>

Lee, N. P. Y., & Cheng, C. Y. (2009). Nitric Oxide and Cyclic Nucleotides: Their Roles in Junction Dynamics and Spermatogenesis. In: Cheng, C.Y. (eds) *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis. Advances in Experimental Medicine and Biology*, 636, 172–185. Springer, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-09597-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-0-387-09597-4_10)

Lewis, C., & Ford, A. T. (2012). Infertility in male aquatic invertebrates: a review. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 120-121, 79–89.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.05.002>

Lewis, S. E., Aitken, R. J., Conner, S. J., Iuliis, G. D., Evenson, D. P., Henkel, R., Giwercman, A., & Gharagozloo, P. (2013). The impact of sperm DNA damage in assisted conception and beyond: recent advances in diagnosis and treatment. *Reproductive Biomedicine Online*, 27(4), 325–337. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.06.014>

Liman, N., & Alan, E. (2016). Region-specific localization of NOS isoforms and NADPH-diaphorase activity in the testicular and excurrent duct systems of adult domestic cats (*Felis catus*). *Microscopy Research and Technique*, 79(3), 192–208. <https://doi.org/10.1002/jemt.22619>

Littarru, G. P., & Tiano, L. (2010). Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 26(3), 250–254. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.08.008>

Liu, Q., Zhou, Y., Duan, R., Wei, H., Jiang, S., & Peng, J. (2017). Lower dietary n-6:n-3 ratio and high-dose vitamin E supplementation improve sperm morphology and oxidative stress in boars. *Reproduction, Fertility and Development*, 29(5), 940–949. <https://doi.org/10.1071/RD15424>

Liu, Y., Li, X., Xiao, S., Liu, X., Chen, X., Xia, Q., Lei, S., Li, H., Zhong, Z., & Xiao, K. (2020). The effects of gold nanoparticles on Leydig cells and male reproductive function in mice. *International Journal of Nanomedicine*, 15, 9499–9514. <https://doi.org/10.2147/IJN.S276606>

Lopez Rodriguez, A., Van Soom, A., Arsenakis, I., & Maes, D. (2017). Boar management and sperm handling factors affect the quality of boar extended semen. *Porcine Health Management*, 3, article number 15. <https://doi.org/10.1186/s40813-017-0062-5>

MacLeod, J. (1943). The role of oxygen in the metabolism and motility of human spermatozoa. *American Journal of Physiology*, 138(3), 512–518. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1943.138.3.512>

Makary, S., Abdo, M., & Fekry, E. (2018). Oxidative stress burden inhibits spermatogenesis in adult male rats: testosterone protective effect. *Canadian*



*journal of physiology and pharmacology*, 96(4), 372–381.  
<https://doi.org/10.1139/cjpp-2017-0459>

Maksimchuk, P.O., Hubenko, K.O., Seminko, V.V., Karbivskii, V.L., Tkachenko, A.S., Onishchenko, A.I., Prokopyuk, V.Y., & Yefimova, S.L. (2021). High antioxidant activity of gadolinium-yttrium orthovanadate nanoparticles in cell-free and biological milieu. *Nanotechnology*, 33(5), article number 055701.  
<https://www.doi.org/10.1088/1361-6528/ac31e5>

Marzony, E. T., Ghanei, M., & Panahi, Y. (2016). Relationship of oxidative stress with male infertility in sulfur mustard-exposed injuries. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.apjr.2015.12.001>

Matsugo, S., Sugiyama, H., Nishimoto, Y., Misu, H., Takamura, T., & Kaneko, S. (2014). Cytotoxicity and enhancement of the insulin signaling pathway induced by peroxidovanadium(V) complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 420, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2014.01.035>

Maulood, I. M., Ahmed, A. H., & Othman, H. K. (2016). Hemodynamic and oxidative stress effects of gamma-radiation in both male and female rats. *Journal of Zankoy Sulaimani – Part A*, 18(3), 9–18. <https://doi.org/10.17656/jzs.10530>

Mayorga-Torres, B. J. M., Camargo, M., Cadavid, A. P., du Plessis, S. S., & Cardona Maya, W.D. (2016). Are oxidative stress markers associated with unexplained male infertility? *Andrologia*, 49(5), article number e12659. <https://doi.org/10.1111/and.12659>

Mehanna, E. T., Kamel, B., Abo-Elmatty, D. M., Elnabtity, S. M., Manmoud, M. B., Abdelhafeez, M. M., & Abdoon, A. S. (2022). Effect of gold nanoparticles shape and dose on immunological, haematological, inflammatory, and antioxidants parameters in male rabbit. *Veterinary World*, 15(1), 65–75. <https://www.doi.org/10.14202/vetworld.2022.65-75>

Menon, A. G., Thundathil, J. C., Wilde, R., Kastelic, J. P., & Barkema H. W. (2011). Validating the assessment of bull sperm morphology by veterinary practitioners. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 52(4), 407–408. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21731095>

Mironchuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Advances in medical sciences*, 63(1), 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>

Mohammed, H. H., Badawi, M. E., El-Tarabany, M. S., & Rania, M. (2016). Effects of boldenone undecylenate on growth performance, maintenance behavior, reproductive hormones and carcass traits of growing rabbits. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(2), 245–251. <https://www.doi.org/10.1515/pjvs-2016-0031>

Molina, E., González-Redondo, P., Moreno-Rojas, R., Montero-Quintero, K., Chirinos-Quintero, N., & Sánchez-Urdaneta, A. (2018). Evaluation of haematological, serum biochemical and histopathological parameters of growing rabbits fed *Amaranthus dubius*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(2), 525–533. <https://doi.org/10.1111/jpn.12791>

Moore, D. M., Zimmerman, K., & Smith, S.A. (2015). Hematological assessment in pet rabbits: blood sample collection and blood cell identification. *The veterinary clinics of North America: Exotic animal practice*, 18(1), 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.003>

Mruk, D. D., Silvestrini, B., Mo, M., & Cheng, C. Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase – a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception*, 65(4), 305–311. [https://doi.org/10.1016/s0010-7824\(01\)00320-1](https://doi.org/10.1016/s0010-7824(01)00320-1)

Mukherjee, S., More, K., Badade, Z., Narshetty, J., Joshi, D., Deepak, A. & Badade, V. (2014). Lipid peroxidation, sperm DNA fragmentation, total antioxidant capacity and semen quality in male infertility. *MGM Journal of Medical Sciences*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10036-1001>

Nikitchenko, Y. V., Klochkov, V. K., Kavok, N. S., Averchenko, K. A., Karpenko, N. A., Nikitchenko, I. V., Yefimova, S. L., & Bozhkov, A. I. (2021a). Anti-aging effects of antioxidant rare-earth orthovanadate nanoparticles in Wistar rats. *Biological trace element research*, 199(11), 4183–4192. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02531-y>

Nikitchenko, Y. V., Klochkov, V. K., Kavok, N. S., Karpenko, N. A., Yefimova, S. L., Nikitchenko, I. V., & Bozhkov, A. I. (2021b). Age-related effects of orthovanadate nanoparticles involve activation of GSH-dependent antioxidant system in liver mitochondria. *Biological trace element research*, *199*(5), 649–659. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02196-7>

Nikitchenko, Y. V., Klochkov, V. K., Kavok, N. S., Karpenko, N. A., Nikitchenko, I. V., Yefimova, S. L., & Bozhkov, A. I. (2022). Comparative Studies of Orthovanadate Nanoparticles and Metformin on Life Quality and Survival of Senile Wistar Rats. *Biological trace element research*, *200*(3), 1237–1247. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02734-x>

Obembe, O. O. (2019). Sex hormones and oxidative stress biomarkers of male Wistar rats treated with *Moringa oleifera* seed fractions. *JBRA assisted reproduction*, *23*(4), 408–413. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190047>

Okanlawon, E. O., Bello, K. O., Akinola, O. S., Oluwatosin, O. O., Irekhore, O. T., & Ademolue, R. O. (2020). Evaluation of growth, reproductive performance and economic benefits of rabbits fed diet supplemented with turmeric (*Curcuma longa*) powder. *Egyptian Poultry Science*, *40*(3), 701–714. <https://doi.org/10.21608/EPSJ.2020.115968>

Olugbodi, J. O., David, O., Oketa, E. N., Lawal, B., Okoli, B. J., & Mtunzi, F. (2020). Silver nanoparticles stimulates spermatogenesis impairments and hematological alterations in testis and epididymis of male rats. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *25*(5), article number 1063. <https://doi.org/10.3390/molecules25051063>

Olukole, S. G., Ola-Davies, E. O., Lanipekun, D. O., & Oke, B. O. (2020). Chronic exposure of adult male Wistar rats to bisphenol A causes testicular oxidative stress: role of gallic acid. *Endocrine regulations*, *54*(1), 14–21. <https://doi.org/10.2478/enr-2020-0003>

Otasevic, V., Stancic, A., Korac, A., Jankovic, A., & Korac, B. (2020). Reactive oxygen, nitrogen, and sulfur species in human male fertility: A crossroad

of cellular signaling and pathology. *BioFactors*, 46(2), 206–219. <https://doi.org/10.1002/biof.1535>

Owoade, A.O., Adetutu, A. & Olorunnisola, O.S. (2019). The supportive role of dietary antioxidants in antioxidant defense system. *Advanced in Life Science and Technology*, 73, 53–59. <https://doi.org/10.7176/alst/73-06>

Oyeyipo, I. P., Raji, Y., & Bolarinwa, A. F. (2015). Nitric oxide synthase inhibition ameliorates nicotine-induced sperm function decline in male rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 4(3), 212–216. <https://doi.org/10.1016/j.apjr.2015.06.004>

Pahune, P. P., Choudhari, A. R., & Muley, P. A. (2013). The total antioxidant power of semen and its correlation with the fertility potential of human male subjects. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(6), 991–995. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/4974.3040>

Palani, A. F. (2018). Effect of serum antioxidant levels on sperm function in infertile male. *Middle East Fertility Society Journal*, 23(1), 19–22. <https://doi.org/10.1016/j.mefs.2017.07.006>

Palani, A., & Asdallh, N. (2019). Effects of low seminal plasma antioxidant potential on semen quality and male fertility. *Passer Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(1), 4–8. <https://doi.org/10.24271/psr.02>

Parrilla, I., del Olmo, D., Sijes, L. (2012). Differences in the ability of spermatozoa from individual boar ejaculates to withstand different semen-processing techniques. *Animal Reproduction Science*, 132(1–2), 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.04.003>

Pena, S. T., Jr, Gummow, B., Parker, A. J., & Paris, D. (2019). Antioxidant supplementation mitigates DNA damage in boar (*Sus scrofa domesticus*) spermatozoa induced by tropical summer. *PloS One*, 14(4), article number e0216143. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216143>

Pessoa, J. C., Etcheverry, S., & Gambino, D. (2015). Vanadium compounds in medicine. *Coordination chemistry reviews*, 301, 24–48. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.12.002>

Pezo, F., Yeste, M., Zambrano, F., Uribe, P., Risopatron, J., & Sanchez, R. (2021). Antioxidants and their effect on the oxidative/nitrosative stress of frozen-thawed boar sperm. *Cryobiology*, 98, 5–11. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2020.11.007>

Pilane, C., Audrey Bopape, M., Helen Mapeka, M. & Richard Netshirovha, T. (2016) Assesment of the Susceptibility of boar semen to Oxidative Stress. *Open Journal of Animal Sciences*, 6, 123–130. <https://doi.org/10.4236/ojas.2016.62015>

Pintus, E., Jovicic, M., Kadlec, M., & Ros-Santaella, J. L. (2020). Divergent effect of fast- and slow-releasing H<sub>2</sub>S donors on boar spermatozoa under oxidative stress. *Scientific Reports*, 10(1), article number 6508. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63489-4>

Pintus, E., Kadlec, M., Jovicic, M., Sedmikova, M., & Ros-Santaella, J. L. (2018). Aminoguanidine protects boar spermatozoa against the deleterious effects of oxidative stress. *Pharmaceutics*, 10(4), article number 212. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10040212>

Potts, J. M., & Pasqualotto, F. F. (2003). Seminal oxidative stress in patients with chronic prostatitis. *Andrologia*, 35(5), 304-308.

Raijmakers, M. T., Roelofs, H. M., Steegers, E. A., Steegers-Theunissen, R. R. e., Mulder, T. P., Knapen, M. F., Wong, W. Y., & Peters, W. H. (2003). Glutathione and glutathione S-transferases A1-1 and P1-1 in seminal plasma may play a role in protecting against oxidative damage to spermatozoa. *Fertility and sterility*, 79(1), 169–172. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(02\)04404-7](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(02)04404-7)

Ramgir, S. & Abilash, V. G. (2019). Impact of smoking and alcohol consumption on oxidative status in male infertility and sperm quality. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(5), 933–945. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.588>

Rehder D. (2016). Perspectives for vanadium in health issues. *Future medicinal chemistry*, 8(3), 325–338. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.187>

Rehman, R., Amjad, S., Tariq, H., Zahid, N., Akhter, M., & Ashraf, M. (2020). Oxidative stress and male infertility: a cross sectional study. *JPMA. The*

*Journal of the Pakistan Medical Association*, 70(3), 461–466.  
<https://doi.org/10.5455/JPMA.12992>

Ren, F., Feng, T., Dai, G., Wang, Y., Zhu, H., & Hu, J. (2018). Lycopene and alpha-lipoic acid improve semen antioxidant enzymes activity and cashmere goat sperm function after cryopreservation. *Cryobiology*, 84, 27–32.  
<https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.08.006>

Ribas-Maynou, J., & Yesre, M. (2020). Oxidative Stress in Male Infertility: Causes, Effects in Assisted Reproductive Techniques, and Protective Support of Antioxidants. *Biology*, 9(4), article number 77.  
<https://doi.org/10.3390/biology9040077>

Ritchie, C., & Ko, E. Y. (2020). Oxidative stress in the pathophysiology of male infertility. *Andrologia*, 53(1), article number e13581.  
<https://doi.org/10.1111/and.13581>

Ross, C., Morriss, A., Khairy, M., Khalaf, Y., Braude, P., Coomarasamy, A., & El-Toukhy, T. (2010). A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reproductive Biomedicine Online*, 20(6), 711–723.  
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.03.008>

Ros-Santaella, J. L., Kadlec, M., & Pintus, E. (2020). Pharmacological activity of Honeybush (*Cyclopia intermedia*) in boar spermatozoa during semen storage and under oxidative stress. *Animals*, 10(3), article number 463.  
<https://doi.org/10.3390/ani10030463>

Rouchoudhury, S., Sharma, R., Sikka, S. & Agarwal, A. (2016). Diagnostic application of total antioxidant capacity in seminal plasma to assess oxidative stress in male factor infertility. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 33(5), 627–635. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0677-5>

Sabeti, P., Pourmasumi, S., Rahiminia, T., Akyash, F., & Talebi, A. R. (2016). Etiologies of sperm oxidative stress. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 14(4), 231–240. <https://doi.org/10.29252/ijrm.14.4.231>

Safarinejad, M. R., & Safarinejad, S. (2009). Efficacy of selenium and/or N-acetylcysteine for improving semen parameters in infertile men: a double-blind,

placebo controlled, randomized study. *The Journal of Urology*, 181(2), 741–751. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.10.015>

Salem, M. I., El-Sebai, A., Elnagar, S.A., & El-Hady, A. M. (2020). Evaluation of lipid profile, antioxidant and immunity statuses of rabbits fed *Moringa oleifera* leaves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20, article number 499. <https://www.doi.org/10.5713/ajas.20.0499>

Scarлата, E., & O’Flaherty, C. (2020). Antioxidant enzymes and male fertility: lessons from knockout models. *Antioxidants & Redox Signaling*, 32(8), 569–580. <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7985>

Serrano, R., Garrido, N., Cespedes, J. A., Gonzales-Fernandez, L., Garcia-Marin, L. J., & Bragado, M. J. (2020). Molecular mechanisms involved in the impairment of boar sperm motility by peroxy-nitrite-induced nitrosative stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), article number 1208. <https://doi.org/10.3390/ijms21041208>

Sharma, A., Minhas, S., Dhillon, W. S., & Jayasena, C. N. (2021). Male infertility due to testicular disorders. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 106(2), 442–459. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa781>

Sharma, R.K., Pasqualotto, F.F., Nelson, D.R., Thomas, A.J. & Agarwal, A. (1999). The reactive oxygen species – total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Human Reproduction*, 14(11), 2801–2807. <https://doi.org/10.1093/humrep/14.11.2801>

Shekarriz, M., Thomas, Jr A.J. & Agarwal, A. (1995). Incidence and level of seminal reactive oxygen species in normal men. *Urology*, 45(1), 103–107. [https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(95\)97088-6](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(95)97088-6)

Shete, S., Hulke, S., & Thakare, A. (2012). Correlation of sperm function test with antioxidant levels in seminal plasma. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 2(2), 159–166. <https://doi.org/10.5455/njppp.2012.2.159-166>

Showell, M. G., Mackenzie-Proctor, R., Brown, J., Yazdani, A., Stankiewicz, M. T., & Hart, R. J. (2014). Antioxidants for male subfertility. *The*

*Cochrane Database of Systematic Reviews*, 12, article number CD007411.  
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD007411.pub3>

Shulze, M., Mohammadpour, F., Schroter, F., Jakob, U., Honicke, H., Hasenfuss, T., Henne, H., Schon, J., & Muller, K. (2021). Suitability of semen stress tests for predicting fertilizing capacity of boar ejaculates. *Theriogenology*, 176, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.09.024>

Skliarov P., Fedorenko S., Naumenko S., Koshevoy V., & Pelyh K. (2021). The development of phyto- and tissue origin medicines for veterinary reproductive issues. *Scientific Horizons*, 24(8), 15–25. [https://doi.org/10.48077/scihor.24\(8\).2021.15-25](https://doi.org/10.48077/scihor.24(8).2021.15-25)

Skliarov, P. M., Fedorenko, S. Y., Naumenko, S. V., Onischenko, O. V., & Holda, K. O. (2020). Retinol deficiency in animals: etiopathogenesis and consequences. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 11(2), 162–169. <https://doi.org/10.15421/022024>

Smital, J. (2009). Effects influencing boar semen. *Animal Reproduction Science*, 110(3-4), 335–346. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.01.024>

Smith, M. J., Neri, Q. V., Kanninen, T. T., Rosenwaks, Z., & Palermo, G. D. (2013). Dynamic assessment of antioxidant capacity of male gametes. *Fertility and Sterility*, 100(3), article number S424. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.07.577>

Smith, R., D'Hauwers, K., IntHout, J., Braat, D., & Fleischer, K. (2020). Impact of a nutritional supplement (Impryl) on male fertility: study protocol of a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial (supplement male fertility, summer trial). *BMJ open*, 10(7), article number e035069. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-035069>

Staicu, F. D., Lopez-Ubeda, R., Romero-Aguirregomez-corta, J., Martinez-Soto, J. C., & Matas Parra, C. (2019). Regulation of boar sperm functionality by the nitric oxide synthase/nitric oxide system. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 36(8), 1721–1736. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01526-6>



Subramanian, V., Ravichandran, A., Thiagarajan, N., Govindarajan, M., Dhandayuthapani, S. & Suresh, S. (2018). Seminal reactive oxygen species and total antioxidant capacity: correlations with sperm parameters and impact of male infertility. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 45(2), 88–93. <https://doi.org/10.5653/cerm.2018.45.2.88>

Sugiyama, H., Matsugo, S., Konishi, T., Takamura, T., Kaneko, S., & Kubo, Y. (2012). Synthesis, structure, and physiological effects of peroxovanadium(V) complexes containing amino acid derivatives as ancillary ligands. *Chemistry Letters*, 41(4), 377–379. <https://doi.org/10.1246/cl.2012.377>

Tang, W., Wu, J., Jin, S., He, L., Lin, Q., Luo, F., & Yin, Y. (2019). Glutamate and aspartate alleviate testicular/epididymal oxidative stress by supporting antioxidant enzymes and immune defence systems in boars. *Science China Life Sciences*, 63(1), 116–124. <https://doi.org/10.1007/s11427-018-9492-8>

Tavilani, H., Doosti, M., & Saeidi, H. (2005). Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of astenozoospermic and its relationship with semen parameters. *Clinica Chimica Acta*, 356(1-2), 199–203. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2005.01.017>

Torabi, F., & Miller, D. (2016). Investigation of the relationship between HA binding and sperm function tests including sperm DNA damage and chromatin maturity. *Reproduction Abstracts*, 3, article number p012. <https://doi.org/10.1530/repabs.3.p012>

Tripathi, D., Mani, V., & Pal, R. P. (2018). Vanadium in Biosphere and Its Role in Biological Processes. *Biological trace element research*, 186(1), 52–67. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1289-y>

Turan, E., & Öztekin, U. (2020). Relationship between visceral adiposity index and male infertility. *Andrologia*, 52(4), article number e13548. <https://doi.org/10.1111/and.13548>

Turner, T. T., Bang, H. J., & Lysiak, J. J. (2005). Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma

testosterone concentrations. *Urology*, 65(2), 390–394.

<https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.09.033>

Tvrda, E., Mackovich, A., Greifova, H., Hashim, F., & Lukac, N. (2017). Antioxidant effects of lycopene on bovine sperm survival and oxidative profile following cryopreservation. *Veterinarni Medicina*, 62(8), 429–436.

<https://doi.org/10.17221/86/2017-vetmed>

Varghese, A. C, Gutgutia, R., Bhattacharyya, A. K., Suresh, S. Bhattacharyya, J., & Dasgupta, P. (2009). Antioxidant system in seminal plasma and its relationship to semen parameters in infertile men. *Fertility and Sterility*, 92(3), article number S208. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.07.1472>

Vasicek, J., Pivko, J., & Chrenek, P. (2014). Reproductive performance of New Zealand White rabbits after depletion of apoptotic spermatozoa. *Folia Biologica*, 62(2), 109–117. [https://www.doi.org/10.3409/fb62\\_2.109](https://www.doi.org/10.3409/fb62_2.109)

Vernekar, A. A., Sinha, D., Srivastava, S., Paramasivam, P. U., D'Silva, P., & Mugesh, G. (2014). An antioxidant nanozyme that uncovers the cytoprotective potential of vanadia nanowires. *Nature communications*, 5, article number 5301. <https://doi.org/10.1038/ncomms6301>

Vernet, P, Aitken, R. J., & Drevet, J. R. (2004). Antioxidant strategies in the epididymis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 216(1-2), 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2003.10.069>

Wang, Y., Chen, F., Ye, L., Zirkin, B., & Chen, H. (2017). Steroidogenesis in Leydig cells: effects of aging and environmental factors. *Reproduction (Cambridge, England)*, 154(4), 111–122. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0064>

Willsky, G. R., Chi, L. H., Godzala, M., Kostyniak, P. J., Smee, J. J., & Trujillo, A. M. (2011). Anti-diabetic effects of a series of vanadium dipicolinate complexes in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Coordination Chemistry Reviews*, 255(19-20), 2258–2269. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.06.015>

Wright, C., Milne, S., & Leeson, H. (2014). Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male

infertility. *Reproductive Biomedicine Online*, 28(6), 684–703.  
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.02.004>

Yan, H. H. N., & Cheng, C. Y. (2005). Blood-testis barrier dynamics are regulated by an engagement/disengagement mechanisms between tight and adherens junctions via peripheral adaptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(33), 11722–11727. <https://doi.org/10.1073/pnas.0503855102>

Yan, H. H. N., Mruk, D. D., Lee, W. M., & Yan Cheng, C. (2008). Blood-testis barrier dynamics are regulated by testosterone and cytokines via their differential effects on the kinetics of protein endocytosis and recycling in Sertoli cells. *The Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 22(6), 1945–1959. <https://doi.org/10.1096/fj.06-070342>

Yang, K., Wang, N., Guo, H. T., Wang, J. R., Sun, H. H., Sun, L. Z., Yue, S. L., & Zhou, J. B. (2020). Effect of L-carnitine on sperm quality during liquid storage of boar semen. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 33(11), 1763–1769. <https://doi.org/10.5713/aaja.19.0455>

Yefimova, S. L., Maksimchuk, P. O., Seminko, V. V., Kavok, N. S., Klochkov, V. K., Hubenko, K. A., Sorokin, A. V., Kurilchenko, I. Yu., & Malyukin, Yu. V. (2019). Janus-Faced Redox Activity of LnVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> (Ln = Gd, Y, and La) Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry C*, 123(24), 15323–15329. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b03040>

Yousef, M. I. (2005). Reproductive performance, blood testosterone, lipid peroxidation and seminal plasma biochemistry of rabbits as affected by feeding *Acacia saligna* under subtropical conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 43(2), 333–339. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.10.006>

Yousef, M. I., El-Demerdash, F. M., Kamil, K. I., & Elaswad, F. A. (2006). Ameliorating effect of folic acid on chromium (VI)-induced changes in reproductive performance and seminal plasma biochemistry in male rabbits. *Reproductive Toxicology*, 21(3), 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2005.09.005>

Yousef, M. I., Esmail, A. M., & Baghdadi, H. H. (2004). Effect of isoflavones on reproductive performance, testosterone levels, lipid peroxidation, and seminal plasma biochemistry of male rabbits. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 39(5-6), 819–833. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/LESB-200030880>

Zalata, A. A., Ahmed, A. H., Allamaneni, S. S., Comhaire, F. H., & Agarwal, A. (2004). Relationship between acrosin activity of human spermatozoa and oxidative stress. *Asian Journal of Andrology*, 6(4), 313–318.

Zareba, P., Colaci, D. S., Afeiche, M., Gaskins, A. J., Jorgensen, N., Mendiola, J. Swan, S. H., & Chavarro, J. E. (2013). Semen quality in relation to antioxidant intake in a healthy male population. *Fertility and sterility*, 100(6), 1572–1579. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.08.032>

Zarqami, A., Ganjkhanelou, M., Zali, A., Rezayazdi, K., & Jolazadeh, A.R. (2018). Effects of vanadium supplementation on performance, some plasma metabolites and glucose metabolism in Mahabadi goat kids. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(2), 972–977. <https://doi.org/10.1111/jpn.12833>

Zarubina, I. V., Lukk, M. V., & Shabanov, P. D. (2012). Antihypoxic and antioxidant effects of exogenous succinic acid and aminothiolsuccinate-containing antihypoxants. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 153(3), 336–339. <https://doi.org/10.1007/s10517-012-1709-5>

Zhao, F., Whiting, S., Lambourne, S., Aitken, R. J., & Sun, Y. P. (2021). Melatonin alleviates heat stress-induced oxidative stress and apoptosis in human spermatozoa. *Free radical biology&medicine*, 164, 410–416. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.01.014>

Zhu, Z., Kawai, T., Umehara, T., Hoque, S., Zeng, W., & Shimada, M. (2019). Negative effects of ROS generated during linear sperm motility on gene expression and ATP generation in boar sperm mitochondria. *Free Radical Biology & Medicine*, 141, 159–171. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.06.018>

Zhu, Z., Zeng, Y., & Zeng, W. (2022). Cysteine improves boar sperm quality via glutathione biosynthesis during the liquid storage. *Animal Bioscience*, 35(2), 166–176. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0151>

Zini, A., & Al-Hathal, N. (2011). Antioxidant therapy in male infertility: fact or fiction? *Asian Journal of Andrology*, 13(3), 374–381. <https://doi.org/10.1038/aja.2010.182>

Влізло, В.В. (ред.) (2012). Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Довідник. Львів: Сполом, 2012. 764 с.

Гаврилов, В. Б., Гаврилова, А. Р., & Хмара, Н. Ф. (1988). Измерение диеновых конъюгатов в крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов. *Лабораторное дело*, 2, 60–63.

Голиков, П. П., & Николаева, И. Ю. (2004). Метод определения нитрита/нитрата (NO<sub>x</sub>) в сыворотке крови. *Биомедицинская химия*, 50(1), 79–85.

Гончар, О.О. & Mankovska, I.M. (2007). Адаптація глутатіонової системи серця щурів до дії гострого стресу під впливом різних режимів гіпоксичних тренувань. *Український біохімічний журнал*, 79(3), 79–85.

Карпенко, Н. О., Korenieva, Ye. M., Chystiakova, E. Ye., Smolienko, N. P., Bielkina, I. O., Kustova, S. P., Boiko, M. O., Kavok, N. S., Medvedovska, N. V., & Klochkov, V. K. (2020). Doslidzhennia prostatoprotektoinoi ta spermomodeliuiuchoi dii nanochastynok na osnovi oksydiv ridkisnozemelnykh elementiv. *Problemy Endokrynnoi Patolohii*, 73(3), 109–118 (in Ukrainian). <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2020.3.14>

Карповський, В. І., Усенко, С. О., & Шостя, А. М. (2020). Вплив прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу на функціональну активність сперміїв кнурів за корекції мінерального живлення. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування. Серія: Тваринництво*, 6(88), 15. <https://doi.org/10.31548/dopovidi2020.06.015>

Коренева, Є. М., Карпенко, Н. О., Смоленко, Н. П., Белкіна, І. О., Чистякова, Е. Є., Селюкова, Н. Ю., Караченцев, Ю. І., Клочков, В. К., Єфімова, С. Л., & Кавок, Н. С. (2016). Вплив наночастинок ортованадату гадолінію та діоксиду церію на спермограму дорослих самців щурів із неонатально індукованими розладами репродуктивної функції. *Проблеми ендокринної патології*, 55(1), 48–55. <https://www.doi.org/10.21856/j-PEP.2016.1.07>

Коренева, Є. М., Філімонова, Н. І., Бречка, Н. М., Чистякова, Е. Є., Смоленко, Н. П., Белкіна, І. О., Карпенко Н. О. (2019). Моделювання хронічного простатиту. Абактерійний простатит в аспекті відтворення експериментальної гіпофертильності (огляд літератури). *Проблеми ендокринної патології*, 67(1), 104–115. <https://doi.org/10.21856/j-PEP.2019.1.13>

Королюк, М. А., Иванова, Л. К., Майорова, И. Г., Токарева, В. А. (1988). Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*, 1, 16–18.

Кошевой В. І., & Науменко С. В. (2020). Патогенетичне значення оксидативного стресу у зниженні репродуктивної здатності кнурів-плідників. Topical aspects of modern science and practice: abstracts of I International Scientific and Practical Conference (Frankfurt am Main, Germany, September 21-24, 2020). pp. 399–402.

Кошевой В. І., & Науменко С. В. (2022). Динаміка гормонального фону за корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату. A change of the paradigm of modern science after the military invasion of the Russia on the territory of independent Ukraine: international scientific-practical conference (Bratislava, Slovakia, June 22-23, 2022). pp.127–130.

Кошевой В. І., & Науменко С. В. (2022). Порівняльна ефективність засобів корекції неплідності кнурів. XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, члена-кореспондента НААН, Заслуженого діяча

науки і техніки України, професора Макара І. А. (м. Львів, 19 травня 2022 р.). *Біологія тварин*, 24(2), С. 43.

Кошевой В. І., Науменко С. В., Клочков В. К., & Єфімова С. Л. (2022). Вплив наночастинок гадолінію ортованадату на гермінативну функцію сім'яників кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу. Актуальні проблеми незаразної патології тварин: матеріали Всеукраїнської науково-практичної Інтернет-конференції (м. Полтава, 22 квітня 2021 р.). с. 39–42.

Кошевой В. П., Науменко С. В., Кошевой В. І., Малюкін Ю. В., Клочков В. К., Кавок Н. С. (2015). Комп'ютерний моніторинг показників структурно-функціонального стану органів репродуктивної системи у самців при дефіциті каротину (вітаміну А) та Цинку. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*, 31(2), 62–70.

Кошевой В. І., & Науменко С. В. (2022). Динаміка антиоксидантного захисту в організмі кнурів за корекції їх репродуктивної здатності наночастинками ванадатів рідкісноземельних елементів. *Ветеринарна медицина: сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та продовольчої безпеки: Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція* (м. Житомир, 9-10 черв. 2022 р.). Житомир, 2022. с. 137–140.

Кошевой В. І., Науменко С. В., Клочков В. К., Єфімова С. Л., & Склярів П. М. (2022). Спосіб корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату (науково-методичні рекомендації, затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету, протокол № 2 від 05 вересня 2022 р. та Вченою радою Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, протокол № 5 від 21 червня 2022 р.). 32 с.

Моин. В. М. (1986). Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Лабораторное дело*, 12, 724–727.

Петровська, І., Салига, Ю., & Вудмаска, І. (2022). Статистичні методи в біологічних дослідженнях: навчально-методичний посібник. Аграрна наука. 172 с.

Рокотянська, В. О. (2018). Вплив наноаквахелатів на біологічну повноцінність сперміїв. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*, 3(99), 56–60. [https://doi.org/10.31521/2313-092X/2018-3\(99\)-9](https://doi.org/10.31521/2313-092X/2018-3(99)-9)

Семінько, В. В. (2020). Дефектна структура, механізми релаксації електронних збуджень та антиоксидантна активність нанокристалів  $\text{CeO}_{2-x}$ . Автореферат дисертації д-ра фіз.-мат. наук. Харків: Інститут монокристалів НАН України. 34 с.

Стальная, Н. О., & Гарнишвили, Т. Г. (1977). *Современные методы в биохимии* (под ред. Орехович В.Н.). Справочник. Москва, 1977. с. 66–68.

Стояновський, В. Г., Усенко, С. О., Шостя, А. М., Березницький, В. І., Усенко, О. О., & Слинько, Є. В. (2020а). Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у спермі кнурів-плідників з різними типами вищої нервової діяльності. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (3), 196–204. <https://doi.org/10.31210/visnyk2020.03.22>

Стояновський, В. Г., Усенко, С. О., Шостя, А. М., Соколенко, В. М., Юдіна, К. Є., & Бірта, Г. О. (2020б). Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у кнурів-плідників залежно від типів вищої нервової діяльності. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького. Серія: Сільськогосподарські науки*, 22(93), 3–9. <https://doi.org/10.32718/nlvet-a9301>

Федорова, Т. Н., Коршунова, Т. С. & Ларский, И. Г. (1983). Реакции с тиобарбитуровой кислотой для определения малонового диальдегида крови методом флюориметрии. *Лабораторное дело*, 3, 25–28.

Храмкова, О. М., & Повод, М. Г. (2019). Оцінка кнурів-плідників за показниками їхньої спермопродуктивності. *Вісник Сумського національного аграрного університету, серія: Тваринництво*, 3(38), 91–95.



Чевари, С., Чаба, И., & Секей, Й. (1985). Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. *Лабораторное дело*, 11, 678–680.

Чорнозуб, Т.В. (2013). Vplyv stanu antyoksydantnoi systemy na yakist spermy knuriv-plidnykiv ta yoho korektsiia, avtoreferat. *Sumskyi natsionalnyi ahrarnyi universytet*, 18 p. [in Ukrainian].

Шостя, А. М., Сарнавська, І. В., Тендітник, В. С., Кузьменко, Л. М., Слинько, В. Г., & Шаферівський, Б. С. (2020). Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у кнурів-плідників залежно від умов утримання. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (3), 166–173. <https://doi.org/10.31210/visnyk2020.03.18>

Шостя, А. М., Сябро, А. С., Ковальчук, І. І., Краснощок, О. О., Чухліб, Є. Б., & Березницький, В. І. (2021). Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у спермі кнурів-плідників під час вживання різних кормових добавок. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (2), 181–187. <https://doi.org/10.31210/visnyk2021.02.22>

Шостя, А.М., Павлова, І.В., Чухліб, Є.В., Березницький, В.І., Кузьменко, І.М., Шаферівський, Б.С., & Кодак, Т.С. (2020). Вплив гуматів на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз у кнурів-плідників під час теплового стресу. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*, (1), 114–120. <https://doi.org/10.31210/visnyk2020.01.13>

Щербак, О. В., Ковтун, С. І., Метлицька, О. І., Троцький, П. А., Люта, І. М., & Лизогуб, О. Ю. (2020). Оцінка життєздатності сперматозоїдів кнурів за різних режимів розморожування. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 27, 287–292. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v27.1341>

Яблонський, В. А. (2005). Біотехнологія відтворення тварин. Київ: Аграрна наука. 520 с.

## ДОДАТКИ

Додаток А. Список опублікованих праць за темою дисертації

Додаток Б. Відомості про апробацію матеріалів дисертації

Додаток В. Розділ колективної монографії і методичні рекомендації

Додаток Г. Акти впровадження результатів дисертаційної роботи в навчальний процес і науково-дослідну роботу

Додаток Д. Акт впровадження результатів дисертації в господарстві

Додаток Е. Висновок біоетичної експертизи

## Додаток А. Список опублікованих праць за темою дисертації

### *Наукові праці, які відображають основні наукові результати дисертації*

#### Статті у наукових виданнях,

#### включених до наукометричної бази даних Scopus:

1. **Koshevoy V.**, Naumenko S., Skliarov P., Fedorenko S., Kostyshyn L. (2021). Male infertility: Pathogenetic significance of oxidative stress and antioxidant defence (review). *Scientific Horizons*, 24(6), 107–116. [https://doi.org/10.48077/scihor.24\(6\).2021.107-116](https://doi.org/10.48077/scihor.24(6).2021.107-116)
2. Skliarov P., Fedorenko S., Naumenko S., **Koshevoy V.**, Pelyh K. (2021). The development of phyto- and tissue origin medicines for veterinary reproductive issues. *Scientific Horizons*, 24(8), 15–25. [https://doi.org/10.48077/scihor.24\(8\).2021.15-25](https://doi.org/10.48077/scihor.24(8).2021.15-25)
3. **Koshevoy V.**, Naumenko S., Skliarov P., Syniahovska K., Vikulina G., Klochkov V., Yefimova S. (2022). Effect of gadolinium orthovanadate nanoparticles on male rabbits' reproductive performance under oxidative stress. *World's Veterinary Journal*, 12(3), 296–303. <https://doi.org/10.54203/scil.2022.wvj37>

#### Статті у наукових фахових виданнях України,

#### включених до міжнародних наукометричних баз даних:

4. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V. (2020). The impact of oxidative stress in reducing the reproductive capacity of the boar-inseminators. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 5, 246–249. <https://doi.org/10.31890/vttp.2020.05.43>
5. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V. (2020). The activity of the antioxidant protection enzymatic system of boars with a decrease in their reproductive capacity under oxidative stress. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 8(3), 194–197. <https://doi.org/10.32819/2020.8302>

6. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L. (2021). The use of gadolinium orthovanadate nanoparticles for the correction of reproductive ability in boars under oxidative stress. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 12(2), 74–82. <https://doi.org/10.31548/ujvs.2021.02.008>
7. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L. (2021). The peculiarities of hormonal background in boars under correction of reproductive capacity by gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*, 23(104), 66–70. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10411>

**Наукові праці у виданнях держав Європейського союзу:**

**Стаття у періодичному науковому виданні (Польща):**

8. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L. (2021). Antioxidant status of blood serum in boars under correction of reproductive ability by gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Colloquium Journal*, 35(122), 5–9. <https://doi.org/10.24412/2520-6990-2021-35122-5-9>

**Розділ колективної монографії (Словаччина):**

9. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L. The use of nanoparticles based on rare-earth elements oxides for the correction of reproductive ability in boars. *Modern medicine and pharmacology: innovations and prospects of development after the beginning of the RF war with Ukraine: collective monograph*. Bratislava, Slovakia, 2022. p. 26–46. ISBN 978-80-974150-9-9.

### Науково-методичні рекомендації:

10. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В., Клочков В.К., Єфімова С.Л., Склярів П.М. (2022). Спосіб корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату (науково-методичні рекомендації, затверджені Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету, протокол № 2 від 05 вересня 2022 р. та Вченою радою Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, протокол № 5 від 21 червня 2022 р.). 32 с.

### *Наукові праці, які відображають апробацію результатів дисертації*

11. Koshevoy V. I. The state of nonenzymatic system of antioxidant protection in boar-inseminators with decreased reproductive capacity under the influence of oxidative stress. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин: щорічна наук.-практ. конф. мол. вчених* (м. Київ, 9 лип. 2020 р.). Київ, 2020. С. 16.

12. **Кошевой В. І.**, Науменко С. В. Патогенетичне значення оксидативного стресу у зниженні репродуктивної здатності кнурів-плідників. *Topical aspects of modern science and practice: abstracts of I International Scientific and Practical Conference* (Frankfurt am Main, Germany, September 21-24, 2020). P. 399–402.

13. Koshevoy V. I. Dynamics of the content of oxidative stress markers in boars during correction of reproductive ability reduction using gadolinium orthovanadate nanoparticles. *Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини: ХІХ Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція молодих вчених, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Яновича В. Г.* (м. Львів, 3–4 грудня 2020 р.). *Біологія тварин*, 2020, 22(4), С. 70.

14. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V. Oxidative stress and male infertility: the activity of the antioxidant protection enzymatic system. *Today`s problems in medicine, pharmacy and dentistry: abstracts of international scientific and practical conference* (Arad, Romania, December 17–18, 2020). P. 90–94.

15. **Кошевой В. І.**, Науменко С. В., Клочков В. К., Єфімова С. Л. Вплив наночастинок гадолінію ортованадату на гермінативну функцію сім'яників кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу. *Актуальні проблеми незаразної патології тварин*: матеріали Всеукраїнської науково-практичної Інтернет-конференції (м. Полтава, 22 квітня 2021 р.). С. 39–42.
16. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V., Skliarov P. M. The activity of the glutathione link of antioxidant protection of boars with a decrease in reproductive capacity under oxidative stress. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин*: матеріали щорічної науково-практичної конференції молодих вчених (м. Київ, 30 червня 2021 р.). С. 16.
17. **Koshevoy V. I.**, Naumenko S. V. The assessment of hormonal background in boars with decreased reproductive ability under oxidative stress. *Modern methods of diagnostic, treatment and prevention in veterinary medicine: II conference dedicated to the 140<sup>th</sup> anniversary of the opening of the educational institution “Kaiser-Royal Veterinary School of Horseshoeing together with an Inpatient Clinic for animals in Lviv”* (Lviv, November 18–19, 2021). P. 186–187.
18. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В. Порівняльна ефективність засобів корекції неплідності кнурів. *XX Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених*, присвячена 90-річчю від дня народження доктора біологічних наук, члена-кореспондента НААН, Заслуженого діяча науки і техніки України, професора Макара І. А. (м. Львів, 19 травня 2022 р.). *Біологія тварин*, 2022, 24(2), С. 43.
19. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В. Динаміка антиоксидантного захисту в організмі кнурів за корекції їх репродуктивної здатності наночастинками ванадатів рідкісноземельних елементів. *Ветеринарна медицина: сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та продовольчої безпеки*: Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція (м. Житомир, 9-10 черв. 2022 р.). Житомир, 2022. С. 137–140.

20. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В. Динаміка гормонального фону за корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату. *A change of the paradigm of modern science after the military invasion of the Russia on the territory of independent Ukraine: international scientific-practical conference* (Bratislava, Slovakia, June 22-23, 2022). С.127–130.
21. **Кошевой В.І.**, Науменко С.В., Клочков В.К., Єфімова С.Л. Обґрунтування механізмів дії наночастинок ванадатів рідкісноземельних елементів як коректорів репродуктивної здатності самців. *Єдине здоров'я – 2022: матеріали Міжнародної наукової конференції, присвяченої 100-річчю кафедр факультету ветеринарної медицини НУБіП України (м. Київ, 22–24 вересня 2022 р.)*. Київ, 2022. С. 132–133.

## Додаток Б. Відомості про апробацію матеріалів дисертації

Основні результати досліджень дисертації доповідались і схвалені на звітних науково-практичних конференціях за підсумками науково-дослідної роботи науковців, науково-педагогічних працівників, аспірантів та студентів Харківської державної зооветеринарної академії (м. Харків, 2020 р., 2021 р.), а також на:

1. I міжнародній науково-практичній конференції «Topical aspects of modern science and practice» (Frankfurt am Main, Germany, 2020 р.);
2. XIX всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції молодих вчених «Молоді вчені у розв'язанні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини», присвяченій 90-річчю від дня народження професора В. Г. Яновича (м. Львів, 2020 р.);
3. Міжнародній науково-практичній конференції «Today`s problems in medicine, pharmacy and dentistry» (Arad, Romania, 2020 р.);
4. Щорічних науково-практичних конференціях молодих учених «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (м. Київ, 2020 р., 2021 р.);
5. Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Актуальні проблеми незаразної патології тварин» (м. Полтава, 2021 р.);
6. Державній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми внутрішньої патології тварин», присвяченій пам'яті академіка НААН В. І. Левченка (м. Біла Церква, 2021 р.);
7. II конференції «Сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині», присвяченій 140-річчю відкриття навчального закладу «Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові» (м. Львів, 2021 р.);



8. XX всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції молодих вчених, присвяченій 90-річчю від дня народження професора І. А. Макара (м. Львів, 2022 р.);

9. Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Ветеринарна медицина: сучасні виклики і актуальні проблеми науки, освіти та продовольчої безпеки» (м. Житомир, 2022 р.);

10. Міжнародній науково-практичній конференції «A change of the paradigm of modern science after the military invasion of the Russia on the territory of independent Ukraine» (Bratislava, Slovakia, 2022 р.);

11. Міжнародній науковій конференції «Єдине здоров'я – 2022», присвяченій 100-річчю кафедр факультету ветеринарної медицини НУБіП України (м. Київ, 2022 р.).

Додаток Б-1.



Додаток Б-2.

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН  
РАДА МОЛОДИХ УЧЕНИХ



## ПРОГРАМА

XIX Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції молодих учених

**«МОЛОДІ ВЧЕНІ У РОЗВ'ЯЗАННІ  
АКТУАЛЬНИХ ПРОБЛЕМ БІОЛОГІЇ, ТВАРИННИЦТВА  
ТА ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ»**



Конференція присвячена 90-річчю від дня народження  
доктора біологічних наук, професора

**Яновича Вадима Георгійовича**

3–4 грудня 2020 року  
Львів

## Продовження додатку Б-2.

**87. Шульженко Н., Белозор М.**

Діагностичні критерії та ефективність комплексної терапії за гепатиту у собак.

*Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро*

---

**88. Юзик Д.**

Сучасний стан та охорона глушця в НПП «Черемоський».

*Національний природний парк "Черемоський", смт. Путила, Путильський район, Чернівецька область*

---

**89. Яцина С., Супрович Т.**

Біохімічні показники крові у кішок при хронічній нирковій недостатності.

*Подільський державний аграрно-технічний університет, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька область*

---

**90. Doroshenko M., Konoval O., Sydorenko O., Korol P., Chepiha A., Kostenko S., Lu L., Bu X., Li L., Huang X.**

Prolactin gene polymorphism and its association with ducks egg productivity.

*National University of Life and Environmental Science of Ukraine, Kyiv*

---

**91. Havryliak V., Mykhaliuk V.**

The comparative analysis of the methods for keratin extraction from wool and human hair.

*Lviv Polytechnic National University, Lviv; Institute of Animal Biology, Lviv*

---

**92. Khalak V.**

Signs of reproductive qualities of sows large white breed of different levels of adaptation and economic efficiency of their use.

*SI Institute of Grain Crops NAAS, Dnipro*

---

**93. Kladnytska L., Mazurkevych A., Velychko S., Kharkevych Y., Bokotko R., Savchuk T., Velychko V.**

Cellularity and weight index of the thymus of mice C57BL/6 under the influence of bone marrow allogeneic mesenchymal stem cells.

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv*

---

**94. Koshevoy V.**

Dynamics of the content of oxidative stress markers in boars during correction of reproductive ability reduction using gadolinium orthovanadate nanoparticles.

*Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv*

---

**95. Mylostyvyi R., Izhboldina O.**

Influence of the country of origin and linear affiliation on the lifetime milk production of Holstein cows in resource-saving technology.

*Dnipro State University of Agriculture and Economics, Dnipro*

---

**96. Tokarchuk T.**

Motorial activity of piglets.

*Podilskyi State Agrarian Technical University, Kamianets-Podilskyi*

---

## Додаток Б-3.



## Додаток Б-4.



Продовження додатку Б-4.



Додаток Б-5.



## Додаток Б-6.



## Додаток Б-7.



## Додаток Б-8.



## Додаток Б-9.





## Додаток Б-10.



## Додаток Б-11.



## Додаток В. Розділ колективної монографії і методичні рекомендації

1. Розділ колективної монографії *Modern medicine and pharmacology: innovations and prospects of development after the beginning of the RF war with Ukraine: monograph* / The use of nanoparticles based on rare-earth elements oxides for the correction of reproductive ability in boars. Bratislava, Slovakia, 2022. p.26–46. ISBN 978-80-974150-9-9

2. Науково-методичні рекомендації *Спосіб корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату*. Харків, 32 с. (затверджені Методичною комісією факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету, протокол № 2 від 05 вересня 2022 р. і Вченою радою Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, протокол № 5 від 21 червня 2022 р.).

Додаток В-1.

**MODERN MEDICINE  
AND PHARMACOLOGY:  
INNOVATIONS AND PROSPECTS  
OF DEVELOPMENT  
AFTER THE BEGINNING  
OF THE RF WAR WITH UKRAINE**

*Collective monograph*



## Продовження додатку В-1.

ISBN 978-80-974150-9-9  
EAN 9788097415099

**Reviewers:**

Asociat. prof. Molnar Shandor, Cs. (Slovakia)  
Conf. univ. dr. Berlingher Daniel (Romania)  
Prof. JUDr. Dmytry Byelov, DrSc. (Ukraine)

**Modern medicine and pharmacology: innovations and prospects of development after the beginning of the RF war with Ukraine:**  
Collective monograph. Institute of professional development.  
Bratislava, Slovakia, 2022.

On February 24, 2022, Russian troops invaded the territory of Ukraine with the aim of capturing it and destroying the Ukrainian nation. The military and the territorial defense heroically repulsed all attacks, but the war continues to this day. The war in Ukraine after the invasion of Russian troops significantly changed the paradigm of world and national security. All this influenced the paradigm of the development of medicine and pharmacology. That is why this monograph is devoted to the current state and prospects of medicine and pharmacology in Ukraine after the beginning of the RF war with Ukraine.

## CONTENTS

**EXPERIENCE OF IMPLEMENTATION OF THE FUNCTIONAL ORGANIZATIONAL MODEL OF MANAGED PREVENTION OF NON-INFECTIOUS DISEASES IN THE ADULT POPULATION OF THE POPULATION**

ДОСВІД ВПРОВАДЖЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНО-ОРГАНІЗАЦІЙНОЇ МОДЕЛІ КЕРОВАНОЇ ПРОФИЛАКТИКИ НЕІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ У ДОРΟΣЛОГО НАСЕЛЕННЯ НА РІВНІ БАГАТОПРОФІЛЬНОГО ЗАКЛАДУ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

*Дичук Д.Л., Лурія І.А., Зюсков О.Л., Гандзюк В.А., Кондратюк Н.Ю.* ..... 4

**THE USE OF NANOPARTICLES BASED ON RARE-EARTH ELEMENTS OXIDES FOR THE CORRECTION OF REPRODUCTIVE ABILITY IN BOARS**

*Vsevolod I. Koshevoy, Svitlana V. Naumenko,*

*Volodymyr K. Klochkov, Svitlana L. Yefimova* ..... 26

**THE SIGNIFICANCE OF A COMPLETE MORPHOLOGICAL RESPONSE WHEN USING ADJUVANT AND NEOADJUVANT TREATMENT OF RESECTABLE NON-SMALL CELL LUNG CANCER (NSCLC) STAGE III A**

*Kateryna Mallarchuk, Andrey Ganul, Bogdan Borisyuk,*

*Leonid Bororov, Anatoly Shevchenko, Vladimir Sovenko* ..... 47

**DIRECTIONS, FORMS AND STRUCTURE OF PSYCHOLOGICAL ASSISTANCE TO THE POPULATION IN THE CONDITIONS OF WAR**

НАПРЯМИ, ФОРМИ ТА СТРУКТУРА ПСИХОЛОГІЧНОЇ ДОПОМОГИ НАСЕЛЕННЮ В УМОВАХ ВІЙНИ

*Пилипенко Н.Г., Бурко В.Я.* ..... 56

## Додаток В-2.

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ СЦИНТИЛЯЦІЙНИХ МАТЕРІАЛІВ**

**СПОСІБ КОРЕКЦІЇ НЕПЛІДНОСТІ КНУРІВ  
НАНОЧАСТИНКАМИ ГАДОЛІНІЮ ОРТОВАНАДАТУ**

**Науково-методичні рекомендації**

**Харків – 2022**

## Продовження додатку В-2.

УДК 636.4:612.176:612.616:615.25:661.866.2–022.513.2

Кошевой В.І. Спосіб корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату (науково-методичні рекомендації) / В. І. Кошевой, С. В. Науменко, В. К. Клочков, С. Л. Сфімова, П. М. Скларов. – Харків, 2022. – 32 с.

Науково-методичні рекомендації «Спосіб корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату» розглянуто і схвалено Вченою радою факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету МОН України (протокол № 2 від 05 вересня 2022 р.) та Вченою радою Інституту сцинтиляційних матеріалів НАНУ (протокол № 5 від 21 червня 2022 р.).

**Автори:**

- Кошевой В. І., аспірант кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України;
- Науменко С. В., доктор ветеринарних наук, доцент, професор кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України;
- Клочков В. К., кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАНУ;
- Сфімова С. Л., доктор фізико-математичних наук, професор, член-кореспондент НАНУ, завідувач відділу наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАНУ;
- Скларов П. М., доктор ветеринарних наук, професор, професор кафедри хірургії та акушерства сільськогосподарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету МОН України.

**Рецензенти:**

- Жукова І. О., доктор ветеринарних наук, професор, професор кафедри фізіології та біохімії тварин факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету МОН України;
- Орбаченко О. Л., доктор ветеринарних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії токсикологічного моніторингу ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» НААН.

У науково-методичних рекомендаціях представлено результати розроблення і впровадження способу корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату ( $GdVO_4 : Eu^{3+}$ ). Рекомендації розраховані на магістрантів факультету ветеринарної медицини, технологічного, слухачів ППО (інститутів післядипломної освіти), а також на практичних лікарів ветеринарної медицини, технологів виробництва і переробки продуктів тваринництва, техніків штучного осіменіння тварин.

2

**ЗМІСТ**

ВСТУП.....	4
1. Обґрунтування застосування наночастинок гадолінію ортованадату для корекції неплідності кнурів.....	5
2. Методика синтезу й основні фізико-хімічні властивості наночастинок гадолінію ортованадату.....	8
3. Особливості способу корекції неплідності кнурів: дозування, терміни використання, параметри оцінки ефективності.....	10
4. Експериментальне визначення результативності розробленого способу корекції.....	11
4.1 Вплив застосування наночастинок гадолінію ортованадату на інтенсивність процесів перекисної.....	11
4.2 Вплив корекції наночастинками гадолінію ортованадату на показники якості сперми кнурів.....	13
4.3 Вплив способу корекції на гормональний фон й андрогену насиченість організму кнурів.....	15
4.4 Динаміка антиоксидантного статусу сироватки крові кнурів за корекції наночастинками гадолінію ортованадату.....	17
5. Порівняльна ефективність застосування наночастинок гадолінію ортованадату з вітамінно-гормональним препаратом «Карафанд».....	20
Додаток А (довідковий). Механізми впливу наночастинок гадолінію ортованадату як засобу корекції репродуктивної здатності кнурів (за даними власних досліджень і аналізу літературних джерел).....	27
Додаток Б (довідковий). Економічна ефективність застосування наночастинок гадолінію ортованадату (розрахунки).....	28
Додаток В (довідковий). Наукові праці та методичні матеріали, використані при складанні рекомендацій.....	29

3

## **Додаток Г. Акти впровадження результатів дисертаційної роботи в навчальний процес і науково-дослідну роботу**

Основні положення дисертації використовуються у навчальному процесі та/або науково-дослідній роботі на кафедрах вищих навчальних закладів і наукових установ України:

1. Національний університет біоресурсів і природокористування, кафедра акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин.
2. Дніпровський державний аграрно-економічний університет, кафедра хірургії та акушерства сільськогосподарських тварин.
3. Сумський національний аграрний університет, кафедра акушерства і хірургії.
4. Державний біотехнологічний університет, кафедра ветеринарної хірургії та репродуктології.
5. Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, відділ наноструктурних матеріалів імені Ю.В. Малюкіна.

## Додаток Г-1.

Погоджено  
Проректор з науково-педагогічної роботи  
та розвитку, д. екон. н., професор,  
академік НААН України

  
Сергій КВАША  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 р.

Затверджую  
Проректор з науково-педагогічної  
роботи, д. філол. н., професор

  
Василь ШИНКАРУК  
«\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 р.



## АКТ

про впровадження/використання результатів  
дисертаційної роботи в освітній процес


Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: **«ЗНИЖЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ ЗДАТНОСТІ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ ЗА ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ТА МЕТОДИ ЇЇ КОРЕКЦІЇ»**, що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 – Ветеринарна медицина, виконаної Кошевим Всеволодом Ігоровичем, впроваджено у робочу програму при викладанні дисципліни: «Акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології».

Результати клініко-біохімічних досліджень щодо значення оксидативного стресу у патогенезі зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників і розроблений спосіб корекції із використанням наночастинок гадолінію ортованадату, з особливостями його впливу на гермінативно-ендокринну функцію гонад й прооксидантно-антиоксидантну систему враховуються при читанні лекцій та веденні лабораторних занять на кафедрі акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України, у підготовці здобувачів вищої освіти ОС «Магістр» (галузь знань 21 – Ветеринарна медицина, спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).

Декан факультету ветеринарної медицини,  
д. б. н., професор, академік НААН України

  
Микола ЦВІШКОВСЬКИЙ


Завідувач кафедри акушерства,  
гінекології та біотехнології  
відтворення тварин,  
к. вет. н., доцент

  
Олександр ВАЛЬЧУК



## Додаток Г-2.

ПОГОДЖЕНО  
Проректор з наукової та  
інноваційної діяльності,  
професор

 Ю. І. Грицан  
« \_\_\_\_\_ » 2022 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор – проректор  
з наукової роботи,  
професор



Д. М. Онопрієнко  
« \_\_\_\_\_ » 2022 р.

## А К Т

**про впровадження / використання результатів дисертаційної  
роботи у навчальний процес і науково-дослідну роботу**

Даним актом стверджується, що матеріали дисертаційної роботи Кошевого Всеволода Ігоровича *«Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції»*, представленої на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 «Ветеринарна медицина», використовуються у навчальному процесі та науково-дослідній роботі кафедри хірургії і акушерства сільськогосподарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Розглянуто та схвалено на засіданні кафедри хірургії і акушерства сільськогосподарських тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету (протокол № 6 від «24» листопада 2022 р.).

Декан факультету ветеринарної  
медицини, доцент



І. А. Бібен

Завідувач кафедри хірургії і акушерства  
сільськогосподарських тварин, доцент

С. М. Масліков

## Додаток Г-3.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної та  
навчальної роботик. е. н. Професор  В.М. Жмайлов

\_\_\_\_\_ 2022 р.



А К Т

**про впровадження/використання результатів дисертаційної роботи  
у навчальний процес і науково-дослідну роботу**

Даним актом стверджується, що матеріали дисертаційної роботи аспіранта кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету **Кошевого Всеволода Ігоровича** на тему: **«Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції»**, що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина, впроваджено у навчальну програму при викладанні дисципліни «Акушерство та гінекологія» та науково-дослідну роботу на кафедрі акушерства та хірургії факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету (розглянуто і схвалено на засіданні кафедри акушерства та хірургії, протокол № 12 від 25 квітня 2022 р.).

Декан факультету ветеринарної медицини,  
доктор ветеринарних наук, професор



О.Л. Нечипоренко

Завідувач кафедри акушерства та хірургії,  
доктор ветеринарних наук, професор




О.І. Шкромада

## Додаток Г-4.

УЗГОДЖЕНО  
Проректор з науково-педагогічної роботи  
Державного біотехнологічного університету  
  
Максим СЕРІК  
«  » \_\_\_\_\_ 2022 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ  
В.о. ректора  
Державного біотехнологічного університету  
  
Андрій КУДРЯШОВ  
«  » \_\_\_\_\_ 2022 р.

УЗГОДЖЕНО  
Проректор з наукової роботи  
Державного біотехнологічного університету

  
Валерій МИХАЙЛОВ  
«  » \_\_\_\_\_ 2022 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ  
результатів дисертаційної роботи у навчальний процес  
і науково-дослідну роботу**

Дійсним актом підтверджується, що результати дисертаційної роботи *Кошевого Всеволода Ігоровича* на тему: *«Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції»*, що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина, виконаної на кафедрі ветеринарної хірургії та репродуктології протягом 2019-2022 рр., впроваджено у навчальному процесі і науково-дослідній роботі.

1. Вид впроваджених результатів: науково-експериментальне обґрунтування патогенетичних механізмів зниження репродуктивної здатності кнурів і розроблення способу її корекції редокс-активними наночастинками.

На основі біохімічних й аналітико-статистичних досліджень показано наявність гормонально-метаболических змін за зниження показників якості сперми самців, досліджено вплив гідрозолу наночастинок гадолінію ортованадату на гермінативно-ендокринну функцію гонад, зокрема, якісні показники еякулятів і гормональний фон, зміни у балансі прооксидантно-антиоксидантної системи та проведено оцінку порівняльно-економічної ефективності запропонованого способу корекції неплідності кнурів.

2. Форма впровадження: методичні рекомендації «Спосіб корекції репродуктивної здатності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату».

3. Перелік курсів і дисциплін, у рамках яких впроваджено результати дисертації: за дисципліною «Акушерство, гінекології та біотехнологія відтворення тварин» (спеціальність 211 – Ветеринарна медицина) та дисципліною «Технологія відтворення тварин» (спеціальність 204 – Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва)

4. Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри: протокол № 1 від 25 серпня 2022 р.

Завідувач кафедри ветеринарної хірургії та  
репродуктології, д-р вет. наук, професор



Дмитро СЛЮСАРЕНКО

Відповідальний за впровадження, аспірант



Всеволод КОШЕВОЙ

## Додаток Г-5.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Заст. директора Інституту  
сцинтиляційних матеріалів НАН  
УкраїниОлександр СОРОКІН  
«    »    2022 р.

## А К Т

про впровадження/використання результатів дисертаційної роботи  
у науково-дослідну роботу

Даним актом стверджується, що матеріали дисертаційної роботи аспіранта кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету **Кошевого Всеволода Ігоровича** на тему: «**Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції**», що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина, використовуються у науково-дослідній роботі відділу наноструктурних матеріалів імені Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів Національної академії наук України щодо результатів розроблення і впровадження способу корекції репродуктивної здатності самців наночастинками гадолінію ортованадату (розглянуто і схвалено на засіданні відділу, протокол № 8 від 15 вересня 2022 р.).

Завідувач відділу наноструктурних матеріалів  
імені Ю.В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних  
матеріалів НАН України,  
член-кореспондент НАН України,  
докт. фіз.-мат. наук, професор

Світлана СФІМОВА

## Додаток Д. Акт впровадження результатів дисертації в господарстві

Акт впровадження результатів наукових досліджень щодо застосування способу корекції неплідності кнурів наночастинками гадолінію ортованадату.

**А К Т**

**впровадження результатів дисертаційної роботи**

Ми, нижчепідписані, Кошевой В.І., аспірант кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України, Науменко С.В., доктор ветеринарних наук, професор ветеринарної хірургії та репродуктології Державного біотехнологічного університету МОН України та І.В. Карасюк, ветеринарний лікар ФЛОР "Час Життя" Сторожівського р-ну, Житомирської обл., склали даний акт щодо впровадження у даному господарстві результатів дисертаційної роботи Кошевого Всеволода Ігоровича на тему: «Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції».

*Назва пропозиції для впровадження:* Визначення впливу способу корекції репродуктивної здатності самців наночастинками гадолінію ортованадату на якісні показники еякулятів кнурів і їх запліднюючу здатність.

*Установи-розробники, їх адреси, виконавці:*

- Державний біотехнологічний університет МОН України, м. Харків, вул. Алчевських, 44, 61002, кафедра ветеринарної хірургії та репродуктології, аспірант Кошевой В.І., професор Науменко С.В.;
- Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, м. Харків, пр. Науки, 60, 61002, відділ наноструктурних матеріалів ім. Ю.В. Малюкіна, стар. наук. спів. Клочков В.К., член-кор. НАНУ Єфімова С.Л.

*Джерела інформації:*

1. Koshevoy V. I., Naumenko S. V. (2020). The impact of oxidative stress in reducing the reproductive capacity of the boar-inseminators. *Veterinary Science, Technologies of Animal Husbandry and Nature Management*, 5, 246–249. <https://doi.org/10.31890/vttp.2020.05.43>.
2. Koshevoy V. I., Naumenko S. V., Klochkov V. K., Yefimova S. L. (2021). The use of gadolinium orthovanadate nanoparticles for the correction of reproductive ability in boars under oxidative stress. *Ukrainian journal of veterinary sciences*, 12(2), 74–82. <https://doi.org/10.31548/ujvs.2021.02.008>.
3. Кошевой В. І., Науменко С. В., Клочков В. К., Єфімова С. Л. Вплив наночастинок гадолінію ортованадату на гермінативну функцію сім'яників кнурів зі зниженням репродуктивної здатності за оксидативного стресу. *Актуальні проблеми незаразної патології тварин: матеріали Всеукраїнської науково-практичної Інтернет-конференції (м. Полтава, 22 квітня 2021 р.)*. с. 39–42.

Де і коли впроваджено: ФЛОР "Час Життя" Житомирська обл., Сторожівський р-н, с. Нові Вузваричі.

Терміни впровадження: 2020-2021 рр.

*Результати впровадження:* введення гідрозолі наночастинок гадолінію ортованадату за рекомендованим способом сприяє покращенню показників якості сперми кнурів і підвищує їх запліднюючу здатність, що обумовлює наявність економічного ефекту.

*Зауваження та пропозиції:* не висловлено.

Від ТОВ „ТасТекс“:

Ветеринарний лікар

В.О. Чапаров

Від Державного біотехнологічного університету МОН України:

Аспірант

В.І. Кошевой

В.І. Кошевой

Науковий керівник, професор

С.В. Науменко

С.В. Науменко



Гідно засвідчую:

Директор

А.В. Остфалко

А.В. Остфалко

## Додаток Е. Висновок біоетичної експертизи



**ЗАТВЕРДЖУЮ**

В. О. декана факультету

ветеринарної медицини ДБТУ

О. О. Цимерман

«17 лютого 2023 рік

### ВИСНОВОК КОМІСІЇ З БІОЕТИЧНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ

щодо досліджень дисертаційної роботи аспіранта Кошевого В. І. на тему: «Зниження репродуктивної здатності кнурів-плідників за оксидативного стресу та методи її корекції», що подана на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 «Ветеринарна медицина»

Комісія з біоетичної експертизи факультету ветеринарної медицини Державного біотехнологічного університету у складі голови комісії – Слюсаренка Д. В., д.вет.н., професора, завідувача кафедри ветеринарної хірургії та репродуктології, заступника голови – Яценка І. В., д.вет.н., професора, професора кафедри санітарії, гігієни та судової ветеринарної медицини, члена комісії Жукової І. О., д.вет.н., професора, професора кафедри фізіології та біохімії тварин, та секретаря комісії Куш Л. Л., к.с.-г.н., доцента, доцента кафедри санітарії, гігієни та судової ветеринарної медицини вивчила матеріали експериментальних досліджень проведених автором на тваринах і встановила наступне:

- експерименти виконані упродовж 2019-2022 рр. на клінічно здорових кнурах і кролях, що належали господарствам різної форми власності; тварин утримували в стандартних умовах, вони отримували корми згідно раціону, мали вільний доступ до води; кількість тварин у групах була мінімально-необхідною для проведення дослідів, під час проведення яких дотримувалися основних принципів біоетики, зокрема, не допускали спраги, недоїдання, голоду, дискомфорту і стресу;

- проведені експериментальні дослідження відповідали вимогам «Загальних принципів експериментів на тваринах», які ухвалені на Першому національному конгресі з біоетики (Київ, 2001), що є узгодженими з положеннями Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1987) і відповідають Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

**Висновок:** під час виконання експериментальних досліджень на кнурах і кролях аспірантом Кошевим В. І. порушень морально-етичних норм під час проведення науково-дослідної роботи не виявлено. Проведені дослідження відповідали чинному законодавству України щодо загальних принципів проведення експериментів на тваринах, а також виключали жорстоке поводження з експериментальними тваринами.

Голова комісії

Д. В. Слюсаренко

Секретар комісії

Л. Л. Куш