



УДК 636.22/28:591.465.3

**В.П. КОШЕВОЙ**, докт. біол. наук, професор  
**С.Я. ФЕДОРЕНКО**, канд. вет. наук, доцент  
**С.В. НАУМЕНКО**, канд. вет. наук, доцент  
**М.М. ІВАНЧЕНКО**, канд. вет. наук, доцент  
Харківська державна зооветеринарна академія

**В.К. КЛОЧКОВ**, канд. хім. наук, ст. наук. співробітник  
**Ю.В. МАЛЮКІН**, докт. фіз.-мат. наук, член.-кор. НАН України  
Інститут скінтіляційних матеріалів НАН України, Харків

## ВИКОРИСТАННЯ НАНОЧАСТИНОК $\text{CeO}_2$ ТА $\text{GdEuVO}_4$ СПІЛЬНО З КАПЛАЕСТРОЛОМ ДЛЯ РЕАБІЛІТАЦІЇ ГОНАД У КОРІВ

*У статті наведено інформацію про зміни прооксидантно-оксидантного статусу крові корів з гіпогонадізмом та після їх лікування. Також визначено ефективність репарації яєчників і відновлення репродуктивної здатності корів при використанні препарату каплаестрол, який містить наночастинки  $\text{CeO}_2$  (діоксиду церію) або  $\text{GdEuVO}_4$  (ортованадату гадолінію європію).*

**Г**іпогонадізм – досить поширена гонадопатія у корів. З'ясування механізмів виникнення, розвитку цієї патології та саногенезу заслуговує на увагу й усебічну підтримку. Пріоритетними є питання об'єктивної діагностики, ефективної терапії й профілактики.

Виникненню гіпогонадізму сприяють абіотичні фактори, дефіцити в організмі тих чи інших речовин, гормональний дисбаланс, патогени. Конкретно ж визначений патогенез гіпогонадізму у корів при дефіциті вітаміну А, естрогенів та фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) [1, 3].

Нині в генезі розвитку патологічних процесів в організмі тварин інформаційно насиченим є розуміння функціонування та стану прооксидантно-антиоксидантної системи. Ситуативне збільшення концентрації вільнорадикальних оксидів (ВРО) в організмі при зниженні антиоксидантного захисту (АОЗ) супроводжується розвитком патологічних процесів. Найбільш помітні дефекти у мембранах клітин і мітохондріях, прискорений апоптоз, дистрофія, некробіоз, атрофія й некроз.

Відомі фактори (дефіцит вітаміну А, естрогенів та ФСГ) виникнення та розвитку гіпогонадізму в корів гіпотетично можна доповнити існуванням порушень, збоїв у системі ВРО–АОЗ.

При розробленні терапевтично-профілактичних заходів логічним є застосування антиоксидантних препаратів.

Крім того, розглядаючи організм як цілісну систему, необхідно доповнити програми терапії тварин тими речовинами, які б, активізуючи мітоз, його ритмічність у геометричній прогресії при оптимізації ядерно-плазмового співвідношення забезпечили достатньою кількістю пластичного матеріалу, підвищили в органі кровотік, синтез РНК і білків, прискорили рецепторні зв'язки.

Нині практична ветеринарна медицина використовує багато антиоксидантних препаратів. Активно розвивається перспективний напрям науки – нанотехнологія. Основу її складають нанобіоматеріали. Зокрема нанокристалічні препарати – діоксид церію (DC) та ортованадат гадолінію – європію (OV) [8].

Діагностика гіпогонадізму й терапія корів з використанням препаратів широкого спектра дії – це проблема, яка потребує вирішення, особливо на високотехнологічних фермах.

**Мета роботи.** 1. Визначити концентрацію похідних ВРО, білків і їх фракцій, стан антиоксидантного захисту в клінічно здорових корів та при гіпогонадізмі. 2. Розробити методику виготовлення препаратів – каплаестрол + DC та каплаестрол + OV, дозування та шляхи їх уведення. 3. З'ясувати терапевтичну ефективність препаратів, їх вплив на прооксидантно-антиоксидантний статус, концентрацію білків і їх фракцій, інтенсивність репараційних процесів у яєчниках, репродуктивну функцію в корів.

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Роботу виконано в лабораторіях кафедри акушерства ХДЗВА, відділу нанокристалічних матеріалів Інституту скінтіляційних матеріалів НАН України, у центральній науково-дослідній лабораторії Національного фармацевтичного університету м. Харкова та деяких господарствах Харківської області.

Дослідження проведено на коровах, розділених на групи залежно від клінічного статусу, морфофункціонального стану яєчників, застосування препаратів.

Діагностували гіпогонадізм за розробленою нами комп'ютерною програмою [4]. Вміст МДА, білкових фракцій та активності деяких ферментів у крові визначали за допомогою спектрофотометричних досліджень. Яєчники вивчали мікроскопічно за загальноприйнятими методами гістологічної техніки.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Насамперед нами проведено дослідження, спрямовані на визначення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і стану ферментативного ланцюжка системи антиоксидантного захисту в динаміці клінічно здорових корів, які перебували в післяродовому періоді, а також при гіпогонадізмі. Від результату цього дослідження залежали наступні етапи роботи. Паралельно визначали концентрацію білків і їх фракцій.

Інтенсивність процесів ПОЛ оцінювали за змінами вмісту в крові (еритроцити та сироватка) малонового діальдегіду (МДА). Стан системи АОЗ характеризували за змінами активності каталази, супероксиддисмутази, глу-



Таблиця 1 – Динаміка прооксидантно-антиоксидантного статусу та концентрації білків крові корів

Групи корів	Стан системи ВРО – АОЗ						Білки, фракції, г/л						
	еритроцити			сироватка крові			загальний білок	альбуміни	глобуліни				
	малоновый діальдегід, мкМ/л	активність каталази, мкМ Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /л-хв	відновлений глутатіон, мкМ/л (ВГ)	малоновый діальдегід, мкМ/л	активність каталази, мкМ Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /л-хв	СОД, умовн. од/мгНб			α <sub>1</sub>	α <sub>2</sub>	β	γ	
Клінічно здорові, післяродовий період, n=5	32,94±0,37	30,70±0,39	3,9±0,12	0,23±0,02	54,04±2,94	12,00±1,54	79,08±0,54	29,12±1,32	2,58±0,71	6,6±1,22	15,02±1,00	25,76±1,66	
З гіпогонадізмом, n=16	42,00±0,006*	16,8±0,06	3,48±0,03**	1,03±0,01	28,02±1,01*	6,31±0,18****	78,13±0,986	35,22±0,73*	4,07±0,62	6,38±0,02	11,5±0,21**	21,07±0,43***	
±	+9,06	-13,9	-0,41	+0,79	-26,01	-5,64	-0,95	+6,1	+1,49	-0,21	-3,51	-4,68	
%	27,5	45,28	10,58	333	48,15	47,06	1,20	20,95	57,95	1,42	23,39	18,19	

Тут і далі. \*P≤0,001; \*\*P≤0,003; \*\*\*P≤0,014; \*\*\*\*P≤0,002

татіонпероксидази. Про стан білкового обміну судили, визначаючи концентрацію загального білка, альбумінів, глобулінів та їх фракцій (α<sub>1</sub>, α<sub>2</sub>, β, γ).

Встановлено (табл. 1), що в корів з гіпогонадізмом порівняно з тваринами з нормальним перебігом післяродового періоду значно зросла концентрація МДА й знизилася показники активності каталази, глутатіонпероксидази (ВГ), супероксиддисмутази (СОД). Якоїсь закономірності вмісту білків і їх фракцій не виявлено.

Встановлені розбіжності у процесах переокисного окиснення ліпідів та стані системи антиоксидантного захисту в корів свідчать про важливу визначальну роль ПОЛ–АОЗ у генезі патологій яєчників.

За інформацією з літературних джерел та результатами проведених досліджень існує необхідність розроблення препаратів конкретно спрямованого застосування за діагнозом.

З метою підвищення терапевтичної ефективності препарату каплаест-

рол (ТУ У 24.4-1452420732-002:2008) [2], у складі якого каротиноїди й плацентарні естрогени, логічним є додання речовин, які впливали б на систему ПОЛ–АОЗ. Йдеться про нанобіоматеріали, зокрема про діоксид церію та ортованадат рідкісноземельних елементів.

Відомо, що наночастинки діоксиду церію в біологічних системах виявляють властивості антиоксидантів [5]. Раніше на модельній системі було показано, що крім діоксиду церію антиоксидантну активність виявляють і наночастинки на основі ортованадатів рідкісноземельних елементів [7]. Крім того, встановлено, що наночастинки на основі ортованадатів рідкісноземельних елементів можуть проникати в клітини й акумулюватися в ядрах (рис. 1.) [6].

Для визначення впливу наночастинок на ефективність дії препарату каплаестрол застосовувалися колоїдні розчини наночастинок DC та OV, синтезовані за методиками, описаними раніше [8]. Було проведено порівняльний аналіз біологічної дії каплаестролу й комплексного препарату каплаестрол, який містить наночастинки CeO<sub>2</sub> та GdEuVO<sub>4</sub> із середнім розміром частинок 10 і 8×20 нм відповідно (рис. 2).

Раніше нами було розроблено методику виготовлення препарату каплаестрол, визначено шляхи його введення та дозування, а також складено програми терапії корів з гіпогонадізмом [1, 2]. У цій роботі ми його вдосконалили, додаючи емульсії. Препарат каплаестрол+DC містить 0,14 г/л CeO<sub>2</sub>, каплаестрол+OV – 0,15 г/л GdEuVO<sub>4</sub>.

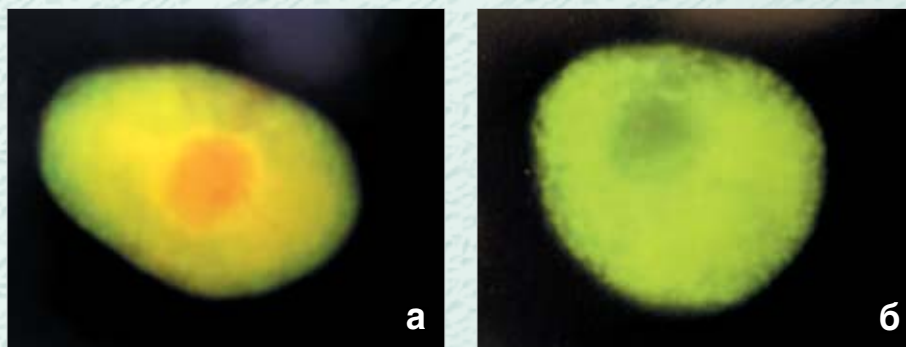


Рис. 1. Люмінесценція наночастинок GdEuVO<sub>4</sub>:

а – в умовах люмінесцентної мікроскопії (λ<sub>збудж.</sub> = 465 нм) в ізолюваній клітині;  
б – аутолюмінесценція клітини

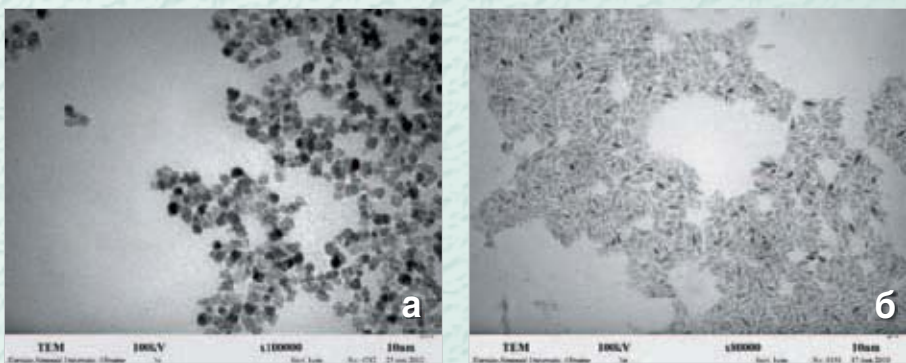


Рис. 2. Електронно-мікроскопічні фотографії твердої фази колоїдних розчинів:  
а – CeO<sub>2</sub>; б – GdEuVO<sub>4</sub>

УВАГА! ТРИВАЄ ПЕРЕДПАДА НА ЖУРНАЛ НА ДРУГЕ ПІВРІЧЧЯ 2014 РОКУ!



Таблиця 2 – Вплив препаратів каплаестрол+ДС та каплаестрол+ОВ на біохімічні показники крові корів

Групи корів	Стан системи ВРО – АОЗ						Білки, фракції, г/л					
	еритроцити			сироватка крові			загальний білок	альбуміни	глобуліни			
	малоновий діальдегід, мкМ/л	активність каталази, мкМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /л-хв	відновлений глутатіон, мкМ/л (ВГ)	малоновий діальдегід, мкМ/л	активність каталази, мкМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /л-хв	СОД, умовн. од/мгНв			α <sub>1</sub>	α <sub>2</sub>	β	γ
Корови з гіпогонадізмом, n=8	42,01±0,49	16,86±0,15	3,45±0,05	1,05±0,03	27,006±1,76	6,5±0,42	77,14±0,515	34,48±1,41	3,45±0,77	6,41±0,68	11,28±0,77	21,51±1,77
Після введення препарату каплаестрол + ДС, n=8	35,91±0,86	30,91±0,69	4,17±0,09*	0,28±0,008*	51,92±1,25*	13,75±1,30	77,78±2,22	30,72±1,42	3,48±0,56	7,62±0,72	15,45±0,7*	20,85±1,82
±	-6,1	+14,04	+0,72	-0,76	+24,91	+7,25	+0,64	-3,76	+0,03	+0,85	+4,16	-0,66
Фармакологічний ефект	14,52	83,31	21,01	72,62	92,27	111,54	0,83	10,9	1,08	13,26	36,87	3,08
Корови з гіпогонадізмом, n=8	42,00±0,28	16,73±0,13	3,52±0,05	1,05±0,03	29,03±0,57	6,12±0,29	79,113±0,916	35,95±0,77	4,7±0,24	6,35±0,25	11,72±0,28	20,63±0,75
Після введення препарату каплаестрол + ОВ, n=8	32,03±0,15	29,12±0,18	4,29±0,03*	0,27±0,008*	59,35±0,27	18,5±0,33	84,813±1,08*	33,44±0,57****	2,75±0,46*****	6,53±0,87	22,99±1,04*	18,08±0,95
±	-9,96	+12,31	+0,76	-0,74	+30,31	+12,37	+5,7	-2,51	-1,35	+0,17	+11,26	-2,56
Фармакологічний ефект	23,72	74,01	21,62	73,62	104,39	202,04	7,205	6,99	41,49	2,75	96,13	12,41

Таблиця 3 – Інтенсивність репарації яєчників корів

Групи корів	Характеристика гонад								
	розміри, см (M±m)		маса, г (M±m)		щільність, кг/м <sup>3</sup> , (M±m)		фолікулогенез, (M±m)		
	лівий	правий	лівий	правий	лівий	правий	премордіальні, на 1мм <sup>2</sup>	ті, що ростуть, на пару яєчників	везикулярні, на пару яєчників
Контрольна, n=5	Д 1,12±0,07 Ш 0,66±0,05 В 0,76±0,06 С 2,54±0,06	Д 1,22±0,05 Ш 0,92±0,05 В 0,9±0,04 С 3,04±0,04	3,74±0,37	5,2±0,28	1184±2,58	1175±1,82	2±0,31	Відсутні	Відсутні
Введення каплаестролу, n=5	Д 3,04±0,08* Ш 2,36±0,22* В 2,34±0,09* С 7,74±0,15*	Д 3,14±0,05* Ш 1,96±0,05* В 2,44±0,11* С 7,54±0,07*	6,2±0,57***	6,74±0,47***	1082±2,5	1079±1,5	21,3±0,48*	72,3±1,2	61±0,57
+/-	Д+1,92 Ш +1,7 В +2,28 С +5,2	Д +1,92 Ш +1,04 В +1,54 С +4,5	+2,46	+1,54	-102	-96	+19,3	+72,3±1,2	+61±0,57
ФЕ, %	Д +171,4 Ш +257,5 В +207,8 С +204,7	Д +157,3 Ш +113 В +171,1 С +148	+65,4	+29,6	-8,61	-8,17	+950	-	-
Введення каплаестролу+ДС, n=3	Д 3,06±0,07* Ш 2,03±0,03* В 2,45±0,06* С 7,54±0,05*	Д 3,23±0,05* Ш 2,23±0,68* В 2,61±0,09* С 8,07 ±0,27*	6,8±0,32***	8,42±0,5***	1078±0,92	1076±0,7	23,0±1,15*	72±1,45	64,6±0,66*
+/-	Д+1,94 Ш+1,37 В+1,69 С +5	Д+2,01 Ш+1,31 В + 1,71 С +5,03	+3,06	+3,22	-106	-99	+21	+72±1,45	+64,6±0,66*
ФЕ, %	Д+173,2 Ш+248,4 В+222,3 С +196,8	Д+164,7 Ш+142,4 В +190 С +165,4	+81,8	+61,9	-8,95	-8,42	+1050	-	-
Введення каплаестролу+ОВ, n=3	Д 3,08±0,03* Ш 1,95±0,05* В 2,42±0,06* С 7,45±0,04*	Д 3,16±0,03* Ш 2,17±0,06* В 2,5±0,06* С 7,83±0,05*	6,52±0,28***	7,73±0,37***	1078±2,5	1078±1,23	23,3±0,66	73±0,57	65±0,57*
+/-	Д+1,96 Ш+1,29 В+1,66 С +4,91	Д+1,94 Ш+1,25 В+1,6 С +4,79	+2,78	+2,53	-106	-97	+21,3	+73±0,57	+65±0,57*
ФЕ, %	Д+175 Ш+195,4 В+218,4 С +193,3	Д+159 Ш+135,8 В+177,7 С +157,6	+ 74,3	+48,6	-8,95	-8,25	+1065	-	-

Примітка. Д – довжина; Ш – ширина; В – висота; С – сумарно Д, Ш, В; ФЕ – фармакологічна ефективність



Таблиця 4 – Показники репродуктивної здатності корів

Групи корів	Тривалість періоду від початку обробок до відновлення розмірів яєчників, діб (M±m)	Тривалість періоду від початку обробок корів до еструму, діб (M±m)	Заплідненість, %	Дні неплідності
Контрольна, n=5	Відновлення не відбулося у межах 90 діб	Анафродизія протягом 90 діб	Відсутня	90
Уведення каплаестролу, n=5	34±1,5	50±5,13	60,0	66
+/-	-56	-40	-	-24
ФЕ, %	-62,22	-44,4	-	-26,6
Уведення каплаестролу+ДС, n=8	29,6±1,4	41±6,8	75	53,2
+/-	-60,4	-49	-	-36,8
ФЕ, %	-67,1	-54,4	-	-40,8
Уведення каплаестролу+OV, n=8	27,3±1,2**	40,6±7,4	75	52,9
+/-	-62,7	-49	-	-37,1
ФЕ, %	-69,6	-54,8	-	-41,2

Примітка. ФЕ – фармакологічна ефективність; 90 – тривалість досліджу, діб

Препарати вводили інтраабдомінально тричі з інтервалом чотири доби. Результати апробації наведено в табл. 2–4.

Показано позитивну дію препаратів. Значно знизилася концентрація МДА та помітною стала індукція процесів антиоксидантного захисту, суттєво збільшилась концентрація β-глобулінів у сироватці крові. Значної різниці в ефективності порівнюваних препаратів не встановлено.

Препарати викликали інтенсивну репарацію гонад у корів у короткі терміни (табл. 3), мали достатньо високу фармакологічну ефективність. Препарат каплаестрол+OV мав незначну перевагу.

Визначено позитивний вплив препаратів на показники репродуктивної здатності корів (табл. 3, 4). Відбулися активізація процесів фолікулогенезу в яєчниках, збільшення їх розмірів та маси, скоротилися дні неплідності та зросла заплідненість корів.

### ВИСНОВКИ

1. Гіпогонадізм супроводжується змінами прооксидантно-оксидантного статусу крові корів – підвищенням рівня МДА та зниженням активності каталази, супероксиддисмутатази, глутатіонпероксидази.

2. Препарати каплаестрол + ДС та каплаестрол + OV нормалізують антиоксидантний захист, інтенсифікують репаративні процеси у яєчниках, підвищують репродуктивну здатність корів. Їх можна рекомендувати для за-

стосування у практичній ветеринарній гінекології.

### СПИСОК

#### ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Кошевой В. Спосіб комплексної терапії корів з післяродовим гіпогонадізмом. / В. Кошевой, С. Федоренко // Ветеринарна медицина України. – 2006. – № 11. – С. 15–17.
2. Кошевой В.П. ТУ У 24.4-1452420732-002: 2008 на препарат «Каплаестрол» / В.П. Кошевой, С.Я. Федоренко, М.М. Іванченко та ін.; ДНДКІВП. – Львів, 2008.
3. Кошовий В.П. Акушерсько-гінекологічна патологія у корів: Навч. посібник для студентів вищих навчальних закладів / В.П. Кошовий. – Х.: Золоті сторінки, 2004. – 156 с.
4. Федоренко С.Я. Комп'ютерна програма диференціальної діагностики гонадопатій у корів / С.Я. Федоренко, В.П. Кошевой, М.М. Іванченко / Зб. наук. пр. Харків. зоовет. академії. Проблеми зооінженерії та вет. медицини – Вип. 26. – Ч. 2. – Х., 2013. – С. 139–142.
5. Щербаків А.Б. Наноматеріали на основі діоксида церія: свойства и перспективы использования в биологии и медицине / А.Б. Щербаків, Н.М. Жолобак, В.К. Іванов, Ю.Д. Третьяков, Н.Я. Спивак // Біотехнологія. – 2011. – Т. 4. – № 1. – С. 9–28.
6. Klochkov V. Size and shape influence of luminescent orthovanadate nanoparticles on their accumulation in nuclear compartments of rat hepatocytes / V. Klochkov, N. Kavok, G. Grygorova, O. Sedyh // Materials Science and Engineering C. – 2013. – Vol. 33. – P. 2708–2712.
7. Klochkov V.K. The influence of agglomeration of nanoparticles on their superoxide dismutase-mimetic activity / V.K. Klochkov, A.V. Grigorova, O.O. Sedyh, Yu.V. Malyukin // Colloids and

Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. – 2012. – № 409. – С. 176–182.

8. Klochkov V.K. Wet-Chemical Synthesis and Characterization of luminescent Colloidal Nanoparticles: ReVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> (Re=La, Gd, Y) with rod-like and spindle-like shape / V.K. Klochkov, A.I. Malyshenko, O.O. Sedyh, Yu.V. Malyukin // Functional materials. – 2011. – № 1. – С. 111–115.

Одержано 7.05.2014

**Использование наночастиц CeO<sub>2</sub> и GdEuVO<sub>4</sub> совместно с каплаестролом для реабилитации гонад у коров.** В.П. Кошевой, С.Я. Федоренко, С.В. Науменко, М.М. Иванченко, В.К. Клочков, Ю.В. Малюкин

В статье представлена информация об изменении прооксидантно-оксидантного статуса крови коров с гипогонадизмом и после их лечения. Также определена эффективность репарации яичников и возобновления репродуктивной способности коров при использовании препарата каплаестрол, который содержит наночастицы CeO<sub>2</sub> (диоксида церия) или GdEuVO<sub>4</sub> (ортованадата гадолиния европия).

**Using of nanoparticles CeO<sub>2</sub> and GdEuVO<sub>4</sub> with kaplaestrol for the rehabilitation of the gonads in cows.** V.P. Koshevoy, S.Ya. Fedorenko, S.V. Naumenko, M.M. Ivanchenko, V.K. Klochkov, Y.V. Malyukin

The information is presented about the changes of prooxidant-oxidant of status of blood of cows with hypogonadism and after their treatment in the article. Efficiency of reparation of ovaries and proceeding in reproductive ability of cows is also certain at the use of preparation of kaplaestrol that contains nanoparticles of CeO<sub>2</sub> (dioxide of cerium) or GdEuVO<sub>4</sub> (ortovanadate of gadolinium of europium). ○