

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОНАДОТОКСИЧНОСТІ ТА ЕМБРІОТОКСИЧНОСТІ КРЕМУ З НАНОЧАСТИНКАМИ ЦЕРІЮ ДІОКСИДУ

¹Зайченко Г. В., д.мед.н.

²Нікітіна Н. С., к.біол.н.

¹Покотило О. А.

¹Сімонов П. В., к.фарм.н.

¹Україна, Київ, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця

²Україна, Харків, ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції»

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_wos/30082018/6091

ARTICLE INFO

Received: 14 June 2018

Accepted: 26 August 2018

Published: 30 August 2018

KEYWORDS

cerium dioxide nanoparticles,
embriotoxicity,
gonadal toxicity,
preclinical studies,
safety, sunscreen.

ABSTRACT

UV exposure poses the risk of sunburns, skin aging, melanoma and skin cancers. Sunscreens are the photoprotective agents which prevent harmful effects of UV exposure. Among those the attention is driven towards the creams with cerium dioxide nanoparticles (CDN) nowadays. They express potent photoprotective action combined with an antioxidant effect. The aim of this article was to study the gonadal toxicity and embriotoxicity of the cream with CDN in the setting of chronic cutaneous application in rats. The substance of CDN 6–15 nm in size was synthesized by TOV 'NanoMedTech', while the formulation was developed under the supervision of professor M. O. Liapunov. The cream with CDN in the doses of 0.1, 0.5, and 1.0 g/kg showed no gonadal toxicity and embriotoxicity effects. This was proven by the absence of changes in functional, macroscopic, and morphometric indices of spermatogenesis, as well as markers of maternal and fetal toxicity.

Citation: Зайченко Г. В., Нікітіна Н. С., Покотило О. А., Сімонов П. В. (2018) Дослідження гонадотоксичності та ембріотоксичності крему з наночастинками церію діоксиду. *Web of Scholar*. 8(26), Vol.1. doi: 10.31435/rsglobal_wos/30082018/6091

Copyright: © 2018 Зайченко Г. В., Нікітіна Н. С., Покотило О. А., Сімонов П. В. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Вступ. Ключовим фактором у розвитку немеланомного раку шкіри та меланоми є вплив УФ випромінювання. Найбільш виражену канцерогенну дію має випромінювання з довжиною хвилі 320–400 нм, під дією якого відбувається мутація гена супресора онкогенезу TP53 (ініціація), після чого настає пухлинна трансформація клітин (промоція). УФ випромінювання є етіологічним фактором у 90% випадків немеланомного раку шкіри та 65% випадків меланоми [1].

Одним із найпоширеніших способів захисту шкіри від УФ випромінювання є застосування м'яких лікарських форм, що містять УФ-фільтри. До складу таких засобів входять речовини мінерального та органічного походження, які здатні відбивати, розсіювати або поглинати УФ випромінювання [7]. Серед УФ-фільтрів перспективною субстанцією є наночастинки церію діоксиду (НЦД), які мають подвійний механізм дії, поєднуючи високу фотопротекторну активність з антиоксидантними властивостями, що дозволяє уникнути небажаних фотокаталітичних реакцій, притаманних багатьом іншим сучасним УФ-фільтрам [8].

Впровадження у медичну практику лікарських і косметичних засобів вимагає проведення комплексу доклінічних досліджень безпеки, який включає, зокрема, вивчення впливу активного фармацевтичного інгредієнту на статеву систему тварин та внутрішньоутробний розвиток потомства [3].

Представлені у літературі дані щодо гонадотоксичності НЦД суперечливі. Так, в експерименті [5] при внутрішньоочеревинному введенні функціоналізованих поліакриловою кислотою НЦД розміром < 10 нм дозами 0,1, 0,2 і 0,3 мг/кг мишам лінії BALB/c трічі на тиждень протягом п'яти тижнів спостерігали зменшення кількості та зниження рухливості сперматозоїдів, а також атрофію і некроз сім'яних каналців. Натомість, у дослідженні [9] додавання колоїдного розчину НЦД дозою 0,33 мг/кг у корм протягом 70 діб старіючим щурам-самцям не призводило до зменшення маси тестикул, зниження рівня тестостерону чи концентрації сперматозоїдів.

Враховуючи вищезазначене, метою даного дослідження виступило вивчення гонадотоксичності та ембріотоксичності крему з НЦД при повторному нанесенні щурам.

Матеріали і методи. НЦД розміром 6–15 нм синтезовані співробітниками ТОВ «НаноМедТех», дермальний крем з 0,25% НЦД розроблений під керівництвом професора М. О. Ляпунова.

Вивчення гонадотоксичної дії крему з НЦД проводили на статевозрілих самцях щурів лінії Wistar з масою тіла 180–235 г. Тварин було розподілено на 5 груп по 10 самців у кожній.

Дослідження виконане із дотриманням положень Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22.09.2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей.

Крем з НЦД наносили на вистрижену ділянку шкіри тварин дозами 0,1, 0,5 і 1,0 г/кг (1/50 від дози, яку вивчали в експерименті з гострої токсичності [4]), та дози, що у 5 та 10 разів її перевищують) протягом 90 діб. Контролем виступали інтактні щури та щури, яким наносили крем на основу (плацебо) дозою 1,0 г/кг. Кожна тварина з груп застосування крему з НЦД дозами 0,1, 0,5 і 1,0 г/кг отримувала, відповідно, НЦД дозами 0,25, 1,25 і 2,5 мг/кг.

Стан сперматогенезу оцінювали за функціональними, макроскопічними та морфометричними показниками. При дослідженні функціонального стану сперматозоїдів використовували суспензію, одержану при дозованому вимиванні подрібненої хвостової частини придатка сім'яника фізіологічним розчином. Визначали характер руху сперматозоїдів, відносну кількість нерухомих форм, концентрацію сперматозоїдів, а також їх резистентність – осмотичну та кислотну.

Для вивчення стану сім'яродного епітелію сім'яники фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, заливали в целоїдин-парафін. Зрізи (по 4 з кожного сім'яника) забарвлювали гемалауном Майєра та еозином [2]. Окрім оглядової мікроскопії, проводили кількісну оцінку структурно-функціональних елементів сім'яників за наступними параметрами: підрахунок відносного числа каналців з 12 стадією мейозу (зі 100 каналців) та кількості нормальних сперматогоніїв (з 20 каналців).

Індекс сперматогенезу обчислювали за чотирьохбальною системою, де кожний бал відповідав присутності певного шару сперматогенного епітелію у каналцях. Оцінювали наявність сперматогоніїв, сперматоцитів I і II порядку, сперматид і зрілих сперматозоїдів.

Підрахунок нормальних сперматогоніїв проводили на VII стадії циклу сперматогенезу, маркером якої були сперматиди з акросомальною системою, що вкривала третину ядра.

Дослідження ембріотоксичної дії крему з НЦД проводили на статевозрілих щурах лінії Wistar. Для парування використовували 180 самиць щурів з початковою масою тіла 185–210 г і 24 самця з масою тіла 220–245 г.

Відбирали самиць з нормальним естральним циклом у фазі еструса, підсаджували до самців у співвідношенні 2:1. Запліднення реєстрували за допомогою вагінальних мазків. День виявлення сперматозоїдів у мазку вважали першим днем вагітності. Кількість вагітних самиць, відібраних в експеримент, становила 70 тварин (по 14 особин у групі).

Тваринам нашкірно наносили крем з НЦД один раз на день щоденно з 1 по 19 день вагітності (термін, що охоплює всі критичні періоди розвитку ембріона і плоду) дозами 0,1, 0,5 і 1,0 г/кг. У контрольні групи були включені інтактні щури та тварини, яким наносили крем на основу (плацебо) дозою 1,0 г/кг.

Для оцінки впливу крему з НЦД на щурів проводили щоденне спостереження за їх загальним станом, поведінковими реакціями, споживанням корму та води, реєстрували динаміку зміни маси тіла.

Виведення тварин з експерименту проводили на 20 день вагітності. Під час розтину реєстрували кількість жовтих тіл в яєчниках, місць імплантації та резорбції, живих і мертвих плодів, на підставі чого визначали перед- і післяімплантаційну загибель, загальну ембріональну смертність. Плоди зважували, проводили їх зовнішній огляд на наявність візуально помітних аномалій розвитку. Вимірювали краніо-каудальний розмір плодів, масу плаценти, розраховували плодово-плацентарний коефіцієнт.

Стан внутрішніх органів вивчали із застосуванням модифікованої методики Вільсона [6]. Дослідження проводили на плодах після фіксування у розчині Буєна протягом 1 тижня. Кожен плід розміщували на пробковому столику та робили розріз паралельно нижній щелепі,

відділяючи голову від тулуба. Надалі внутрішні органи вивчали після проведення серії послідовних розрізів (Таблиця 1).

Таблиця 1. Порядок оцінки стану внутрішніх органів плодів щурів

№ з/п	Місце розрізу	Оцінювані параметри
1	Перпендикулярно нижній щелепі безпосередньо за вібрисами	Стан нижньої щелепи, переднього відділу твердого піднебіння та носової порожнини
2	Через середину очних яблук	Стан нюхових цибулин
3	Через великий поперечний діаметр черепа	Стан головного мозку: кори великих півкуль, бокових, третього і четвертого шлуночків
4	Паралельно третьому розрізу	Стан мозочка і довгастого мозку
5	Через гортань, стравохід, спинний мозок, судини і слинні залози	Стан гортані, стравоходу, спинного мозку, судин і слинних залоз
6	Перед передніми лапами (відсічення шиї від тулуба)	Стан стравоходу, трахеї, спинного мозку, великих судин
7	Через органи грудної клітки безпосередньо за передніми кінцівками	Стан серця, легенів, бронхів, стравоходу, спинного мозку
8	Посередині між сьомим розрізом та пупковим кільцем	Стан печінки та, після видалення печінки пінцетом, стан діафрагми
9	Нижче пупкового кільця	Стан кишечника та підшлункової залози та, після видалення петель кишечника, стан органів тазу – нирок, сечоводів, сечового міхура, прямої кишки, внутрішніх статевих органів, з приділенням особливої уваги матці з придатками та тестикулам

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми IBM SPSS Statistics v.23 (IBM, США), з використанням однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з post-hoc порівняннями із застосуванням HSD-критерію Тьюкі та з використанням Н-критерію Крускала-Уолліса з post-hoc порівняннями із застосуванням критерію Данна (ступінь вираженості еритеми). Відмінності показників вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати дослідження. Нашкірне нанесення крему з НЦД самцям щурів протягом 90 днів не впливало на їх загальний стан, поведінку, споживання води та їжі. Загибелі тварин не спостерігали. При зовнішньому огляді сім'яників самців усіх експериментальних груп не виявлено будь-яких патологічних відхилень (кровонаповнення, запальні зміни). Результати макроскопічного дослідження сім'яників, функціонального стану сперматозоїдів і морфометричної оцінки сім'яродного епітелію представлені в Таблиці 2.

Таблиця 2. Показники сперматогенезу статевозрілих самців щурів після нашкірного нанесення крему з НЦД протягом 90 діб ($n = 10$; $M \pm m$)

Показники	Інтактний контроль	Плацебо	Крем з НЦД		
			0,1 г/кг	0,5 г/кг	1,0 г/кг
1	2	3	4	5	6
ФУНКЦІОНАЛЬНІ:					
Час збереження рухливості сперматозоїдів, хв	422,0 \pm 8,8	407,5 \pm 12,1	462,5 \pm 18,0 ***	447,0 \pm 18,2 **	452,5 \pm 17,5 ***
Концентрація сперматозоїдів, млн./мл	98,3 \pm 5,3	96,9 \pm 8,7	89,9 \pm 5,9	89,1 \pm 7,8	95,8 \pm 3,8
Осмотична резистентність, % NaCl	4,20 \pm 0,04	4,22 \pm 0,05	4,20 \pm 0,05	4,20 \pm 0,05	4,20 \pm 0,04
Кислотна резистентність, рН	3,07 \pm 0,07	3,25 \pm 0,08	3,20 \pm 0,08	3,00 \pm 0,06	3,00 \pm 0,05
Нерухомі сперматозоїди, %	10,00 \pm 0,79	11,55 \pm 0,82	8,20 \pm 0,82 ***	8,55 \pm 0,62 **	8,15 \pm 0,87 ***

Продовження таблиці 2

1	2	3	4	5	6
Патологічні форми сперматозоїдів, %	1,20±0,17	1,50±0,22	1,50±0,23	1,60±0,27	1,60±0,16
МАКРОСКОПІЧНІ:					
Довжина сім'яників, см:					
лівий	2,11±0,05	1,99±0,04	1,97±0,03	2,05±0,04	2,07±0,03
правий	2,12±0,05	2,03±0,03	1,99±0,03	2,04±0,02	2,07±0,02
Відносна маса сім'яників, г:					
лівий	0,45±0,02	0,43±0,01	0,45±0,02	0,47±0,02	0,51±0,02
правий	0,46±0,02	0,44±0,01	0,46±0,02	0,47±0,02	0,50±0,02
Відносна маса сім'яних пухирців, г	0,47±0,03	0,51±0,03	0,52±0,04	0,54±0,03	0,54±0,03
Відносна маса передміхурової залози, г	0,20±0,02	0,20±0,02	0,21±0,02	0,21±0,01	0,19±0,01
МОРФОМЕТРИЧНІ:					
Індекс сперматогенезу, бали	3,2	3,2	3,3	3,3	3,2
Нормальні сперматогонії в одному сім'яному каналці	57,4	62,6	68,8	63,6	69,8
Канальці з 12 стадією мейозу, %	3,2	2,6	2,7	3,0	2,7
Канальці зі злущеним епітелієм, %	0	0	0	0	0

Примітка: n – кількість тварин у групі; * – $p < 0,05$ у порівнянні з групою інтактного контролю; ** – $p < 0,05$ у порівнянні з групою плацебо.

Нашкірне нанесення крему з НЦД не викликало негативних змін показників функціонального стану сперматозоїдів. Концентрація сперматозоїдів, їх кислотна та осмотична резистентність, кількість патологічних форм у шурів дослідних та контрольних груп не мали статистично значущих відмінностей. Не виявлено гіпертрофії та атрофії сім'яників, передміхурової залози і сім'яних пухирців. Час збереження рухливості сперматозоїдів був вищим, а відносна кількість нерухомих сперматозоїдів – меншою в групах нанесення крему з НЦД у порівнянні з контрольними тваринами.

Результати морфометричного аналізу показали, що після застосування крему з НЦД в усіх досліджених дозах у шурів не спостерігали органічних змін структури сім'яників. Кількість стовбурових клітин в одному сім'яному каналці, каналців з 12 стадією мейозу і відсотковий вміст каналців зі злущеним епітелієм у дослідних шурів були на рівні інтактного контролю, так само, як індекс сперматогенезу – показник, що характеризує наявність всіх облігатних типів статевих клітин у сперматогенному епітелії. Отримані результати вказують на відсутність гонадотоксичної дії крему з НЦД при тривалому застосуванні у широкому діапазоні доз. Дану лікарську форму можна вважати безпечною за даним показником.

В експерименті з вивчення ембріотоксичності поведінка та загальний стан вагітних самиць шурів, яким наносили крем з НЦД дозами 0,1 г/кг, 0,5 г/кг і 1,0 г/кг з 1 по 19 день вагітності, не виходили за межі норми. У споживанні корму та води, наборі маси тіла відхилень не спостерігали. Результати оцінки ембріотоксичності крему з НЦД наведені у Таблиці 3.

Таблиця 3. Маркери ембріотоксичності крему з НЦД при повторному нашкірному нанесенні вагітним самицям шурів (n = 14; M±m)

Показники	Інтактний контроль	Плацебо	Крем з НЦД		
			0,1 г/кг	0,5 г/кг	1,0 г/кг
1	2	3	4	5	6
Кількість на одну самку:					
жовтих тіл	10,93±1,27	11,86±1,88	10,93±2,81	10,71±2,43	10,07±1,49
місце імплантації	10,57±1,50	10,57±2,21	10,64±2,95	10,07±2,79	9,36±2,31
місце резорбції	0,93±1,21	1,36±1,22	0,64±0,93	1,14±1,23	1,00±1,18
живих плодів	9,64±2,31	9,21±2,49	10,00±2,39	8,93±2,56	8,36±2,62
Маса плодів, г	2,40±0,22	2,35±0,22	2,40±0,19	2,32±0,31	2,39±0,34
Маса плаценти, г	0,53±0,06	0,54±0,07	0,53±0,09	0,52±0,09	0,54±0,09

Продовження таблиці 3

1	2	3	4	5	6
Плодово-плацентарний коефіцієнт	0,23±0,07	0,25±0,04	0,22±0,04	0,23±0,05	0,23±0,05
Краніо-каудальний розмір плодів, мм	30,13±1,44	29,88±1,59	30,27±1,32	29,82±1,78	30,34±1,66
Передімплантаційна загибель, %	3,38	11,03	2,96	6,80	7,84
Післяімплантаційна загибель, %	9,55	13,48	4,84	11,11	11,33
Загальна ембріональна смертність, %	12,14	12,58	7,76	17,07	17,77

Примітка: n – кількість тварин у групі.

Нанесення крему з НЦД вагітним самицям щурів не викликало збільшення перед- та післяімплантаційної загибелі у порівнянні з групою плацебо. При застосуванні більших доз крему з НЦД (0,5 г/кг і 1,0 г/кг) відмічали зростання загальної ембріональної смертності порівняно з контрольними групами, однак значення параметра не виходило за межі фізіологічної норми для даного виду тварин [6].

В усіх дослідних групах маса та краніо-каудальний розмір плодів, маса плаценти, плодово-плацентарний коефіцієнт відповідали значенням контрольних тварин. Візуальний огляд не виявив видимих вад розвитку плодів. Таким чином, крем з НЦД не проявляв ембріотетального ефекту.

Результати дослідження внутрішніх органів плодів надано в Таблиці 4.

Таблиця 4. Вплив повторного нашкірного нанесення крему з НЦД вагітним самицям щурів на розвиток внутрішніх органів плодів

Показники	Інтактний контроль	Плацебо	Крем з НЦД		
			0,1 г/кг	0,5 г/кг	1,0 г/кг
Загальна кількість плодів	60	65	67	60	55
самці	29	26	35	31	32
самиці	31	39	32	29	23
Плоди, у яких виявлено:					
повнокров'я судин головного мозку	2	1	1	3	2
підшкірні гематоми	0	0	0	0	0
крововилив у черевну порожнину	0	0	0	0	0
збільшення сечового міхура	1	0	0	0	0

При оцінці стану внутрішніх органів плодів у всіх групах спостерігали наступну морфологічну картину: хоани не викривлені, їх зрощення не спостерігається, передній відділ твердого піднебіння без ознак розщеплення, вигляд нижньої та верхньої щелепи звичайний, язик поміщається в роті, очні яблука парні, розташовані на одному рівні, розмір їх звичайний, нюхові цибулини овальні, великі, розташовані в лобовій частці головного мозку. Кінцевий, проміжний і довгастий мозок, мозочок розвинені пропорційно, бічні шлуночки головного мозку на розрізі мають вигляд вузької щілини, третій шлуночок – краплеподібний, невеликий, четвертий шлуночок – дещо сплюснений, нагадує за формою намет, субдуральний простір – в межах норми. Повнокров'я судин головного мозку спостерігали у 3,3% і 1,5% плодів з груп інтактного контролю і плацебо, відповідно. У групах нанесення крему з НЦД показник становив 1,5%, 5,0% і 3,6% для доз 0,1 г/кг, 0,5 г/кг і 1,0 г/кг, відповідно, тобто був дещо підвищеним при застосуванні крему з НЦД дозою 0,5 г/кг.

Подальший аналіз показав, що гортань, кровоносні судини, слинні залози візуально не змінені, спинний мозок на всіх рівнях розрізів без ознак грижоподібних випинань, субарахноїдальний простір виглядає нормально, спостерігається прохідність стравоходу по всій його довжині, ознак стенозу не виявлено, кільця трахеї добре розвинені.

Міжшлуночкова перетинка серця без дефектів та чітко визначається. Добре видно обидва шлуночка та передсердя, в яких часто є кров. Добре проглядаються стулки клапанів.

Легені заповнюють всю плевральну порожнину, великі, пористої структури. У правій легені помітні всі чотири частки. Просвіт бронхів звичайний. Діафрагмальна перегородка без вад.

Печінка звичайної консистенції, всі частки її добре простежуються. Шлунок досить великий, з вираженою складчастістю слизової. Петлі кишечника без змін чи порушень. Підшлункова залоза досить компактна, селезінка помірна за розміром.

Органи тазу звичайної топографії, нирки великі, бобовидної форми, з легкою асиметрією розташування. На розрізі добре помітні корковий і мозковий шари, ниркові пазухи в нормі. Наднирники звичайні, сечоводи прямі по всій довжині. У самиць добре видно роги матки і яєчники, розташовані позаду від нирок, у самців – парні тестикули з придатками. Сечовий міхур невеликий. У групі інтактного контролю в одного плода (%) виявлено збільшення сечового міхура. Пряма кишка без патології, анальний отвір вільний.

Таким чином, у групах повторного нашкірного нанесення крему з НЦД самицям шурів плодів з ознаками вираженого недорозвинення не виявлено.

Висновки.

1. Нашкірне нанесення статевозрілим самцям шурів крему з НЦД дозами 0,1 г/кг, 0,5 г/кг і 1,0 г/кг протягом 90 днів не спричинило гонадотоксичної дії, що підтверджено відсутністю змін функціональних, макроскопічних та морфометричних показників сперматогенезу.

2. Згідно з результатами мікро-, макроанатомічних досліджень та аналізу маркерів ембріотоксичності, нашкірне нанесення крему з НЦД вагітним самицям шурів дозами 0,1 г/кг, 0,5 г/кг і 1,0 г/кг з 1 по 19 день вагітності не викликало ембріолетального ефекту та не спричинило у плодів анатомічних і топологічних змін лицьового та мозкового черепа, кінцівок, внутрішніх органів.

3. Отримані результати вказують на доцільність проведення подальших доклінічних досліджень крему з НЦД як перспективного і безпечного фотопротектора.

ЛІТЕРАТУРА

1. Блох А. И. Этиология и факторы риска развития немеланомных раков кожи и меланомы: обзор литературы / А. И. Блох // Медицина в Кузбассе. – 2015. – Т. 14, № 4. – С. 71–76.
2. Вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин : методичні рекомендації / [І. Р. Барияк, Л. В. Неумержицька, Т. Ф. Бишовець та ін.]. – К., 2001. – С. 139–152.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації ; під ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
4. Дослідження гострої токсичності крему з наночастинками діоксиду церію / В. С. Єфанов, Г. В. Зайченко, Н. С. Нікітіна, О. А. Покотило // Тези доповідей V національного з'їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р. – Запоріжжя, 2017. – С. 43.
5. Adebayo O. A. Cerium oxide nanoparticle elicits oxidative stress, endocrine imbalance and lowers sperm characteristics in testes of balb/c mice / O. A. Adebayo, O. Akinloye, O. A. Adaramoye // *Andrologia*. – 2018. – Vol. 50, № 3. – P. 1–11.
6. *Developmental and reproductive toxicology: a practical approach*; ed. R. D. Hood. – [3-rd ed.]. – London: Informa Healthcare, 2012. – 856 p.
7. *Principles and practice of photoprotection*; ed. S. Q. Wang, H. W. Lim. – Springer International Publishing Switzerland, 2016. – 487 p.
8. Recent advances (2010–2015) in studies of cerium oxide nanoparticles' health effects / Y. Li, P. Li, H. Yu [et al.] // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 44. – P. 25–29.
9. The effects of chronic intake of cerium dioxide or gadolinium ortovanadate nanoparticles in aging male rats / N. A. Karpenko, Yu. V. Malukin, E. M. Koreneva [et al.] // *Proc. NAP.* – 2013. – Vol. 2, № 4. – P. 04NABM28-1–04NABM28-4.