

Т. О. Брюханова, О. А. Наконечна, Т. В. Горбач, С. Л. Єфімова, С. О. Стеценко  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

## ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ОРТОВАНАДАТУ ГАДОЛІНІЮ З ДОМІШКОЮ ЄВРОПІУ $GdVO_4:Eu^{3+}$ З ПОПЕРЕДНІМ УФ-ОПРОМІНЕННЯМ ТА БЕЗ НЬОГО НА ГЕНЕРАЦІЮ АКТИВНИХ ФОРМ КИСНЮ В ЛЕЙКОЦИТАХ ЩУРІВ

**Вступ.** Зважаючи на значні темпи поширення онкопатології, пошук і дослідження засобів, що здатні підвищувати ефективність та профіль безпеки протиракової терапії, є актуальними. До перспективних радіосенсибілізаторів належать наночастинки, зокрема ортованадату гадолінію з домішкою європію  $GdVO_4:Eu^{3+}$ . Проте дані щодо їх цитотоксичності є досить обмеженими в літературі й часто суперечливими, що зумовлює доцільність їх подальшого вивчення.

**Мета дослідження** – оцінити генерацію активних форм кисню (АФК) у лейкоцитах периферичної крові щурів під впливом наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою європію  $GdVO_4:Eu^{3+}$  за умов перорального введення і вивчити подальший вплив на інтенсифікацію апоптотичних процесів.

**Методи дослідження.** У дослідженні використовували щурів популяції WAG, яких випадковим чином поділили на три групи: 1-ша – тварини, які отримували питну воду; 2-га – щури, яким протягом 14 днів внутрішньошлунково вводили водний розчин  $GdVO_4:Eu^{3+}$  в дозі 50 мкг/кг маси тіла, без опромінення; 3-тя – тварини, яким упродовж 14 днів внутрішньошлунково вводили водний розчин  $GdVO_4:Eu^{3+}$  в дозі 50 мкг/кг маси тіла, з попереднім УФ-опроміненням. У суспензії лейкоцитів визначали генерацію АФК за допомогою флуоресцентного зонда 2,7-дихлордигідрофлуоресцеїн діацетату на проточному цитометрі. Отримані результати обробляли статистично.

**Результати й обговорення.** Результати дослідження свідчать про нерівномірну генерацію АФК у лейкоцитах: у 2-й групі спостерігали суттєву інтенсифікацію їх продукування порівняно з контролем. Попереднє УФ-опромінення наночастинок  $GdVO_4:Eu^{3+}$  призводило до зниження показника флуоресценції (свідчення генерації АФК) (3-тя група) порівняно з двома іншими групами. Очевидно, визначальним фактором є не лише УФ-обробка наночастинок, але і тривалість та спосіб введення самих наночастинок.

**Висновки.** Наночастинки  $GdVO_4:Eu^{3+}$  при пероральному застосуванні в щурів у дозі 50 мкг/кг маси тіла без попереднього УФ-опромінення здатні достовірно підвищувати генерацію АФК у лейкоцитах, тоді як використання їх в аналогічній дозі з попереднім опроміненням, навпаки, супроводжується зменшенням продукування АФК, навіть порівняно з контролем.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ортованадат гадолінію; наночастинки; онкологія; активні форми кисню; проточна цитометрія.

ВСТУП. На сьогодні онкопатологія займає одну з лідируючих позицій серед причин передчасної смертності населення практично в усіх регіонах світу, що зумовлює нагальність проблеми не лише пошуку нових шляхів терапії, але і вдосконалення існуючих схем хіміо-, променевої та радіотерапії [1].

Одним із шляхів підвищення ефективності та профілю безпеки променевої терапії є використання радіосенсибілізаторів і радіопротекторів з метою збільшення потужності протипухлинної дії, в тому числі шляхом подолання радіорезистентності ракових клітин та, водночас, змен-

шення ушкоджувального впливу на навколишні здорові клітини [2–4].

Результати сучасних досліджень свідчать про те, що наночастинки можуть бути потенційними радіосенсибілізаторами, які здатні підвищувати ефективність променевої терапії. Крім того, їх можна також використовувати в комплексній терапії з іншими фармакологічними агентами з метою надання останнім нових властивостей, зниження токсичності чи підвищення ефективності лікування [5–7].

Однак, незважаючи на значні перспективи використання наночастинок, їх застосування спряжене з ризиком цитотоксичності, яка переважно реалізується через генерацію активних

форм кисню (АФК) та інтенсифікацію окисного стресу, що, у свою чергу, провокує проапоптотичні зміни. Слід також відмітити, що аналогічні механізми задіяні й у реалізації фармакологічних ефектів наночастинок та лежать в основі їх ефективності при онкопатології [8, 9].

До перспективних агентів належать наночастинки ортованадату гадолінію з домішкою Європію  $GdVO_4:Eu^{3+}$ , які наразі активно досліджують з метою включення їх до схем терапії та діагностики ракових захворювань. Проте дані щодо їх цитотоксичності є досить обмеженими в літературі й часто суперечливими, що зумовлює доцільність їх подальшого вивчення [10–15]. Наночастинки ортованадату гадолінію з домішкою Європію  $GdVO_4:Eu^{3+}$  надав для дослідження Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України (відділ наноструктурних матеріалів імені Ю. В. Малюкіна, м. Харків, Україна).

Мета дослідження – оцінити генерацію активних форм кисню (АФК) у лейкоцитах периферичної крові щурів під впливом наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою Європію  $GdVO_4:Eu^{3+}$  за умов перорального введення і вивчити подальший вплив на інтенсифікацію апоптотичних процесів.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** У дослідженні використовували 18 щурів популяції WAG, яких випадковим чином поділили на три групи (по 6 тварин у кожній): 1-ша (контроль) – щури, які отримували питну воду в кількості, еквівалентній об'єму рідини, яку одержували тварини експериментальних груп; 2-га – щури, які протягом 14 днів за допомогою внутрішньошлункового зонда отримували водний розчин наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою Європію  $GdVO_4:Eu^{3+}$  в дозі 50 мг/кг маси тіла; 3-тя – тварини, які впродовж 14 днів за допомогою внутрішньошлункового зонда одержували водний розчин наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою Європію  $GdVO_4:Eu^{3+}$  в дозі 50 мг/кг маси тіла, яких попередньо піддавали УФ-опроміненню за допомогою спеціальної лампи.

Тварин усіх груп протягом експерименту утримували в однакових умовах на однаковому раціоні харчування. Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації, зразки крові збирали в ЕДТА-вакунтейнери. Після цього пробопідготовку для дослідження на проточному цитометрі проводили за протоколом, який використовують в Інституті експериментальної та клінічної медицини Харківського національного медичного університету.

Метод, який використовували для визначення генерації АФК у лейкоцитах, детально описано в нашій попередній публікації [14].

Для дослідження використовували суспензію лейкоцитів, яку готували за таким протоколом. Зразки крові, отримані від кожної тварини, лізували та двічі промивали розчином Pharmalyse (BD, США) і фосфатним буфером. Після цього з кожного зразка відбирали визначений об'єм крові (100 мкл) у полістиролові туби розміром 12×75 мм ("Falcon", Мексика) та 2 мл 1 % розчину FACSLyse ("BD FACSTM Lysing", Сан-Хосе, США). Після змішування отриманий розчин інкубували в темряві при 23 °C упродовж 15 хв. Потім проводили центрифугування при 500 g протягом 5 хв. Відбирали супернатант і додавали 2 мл фосфатного буфера.

Для подальшої оцінки рівня АФК у лейкоцитах використовували лейкоцитарні суспензії. З метою виявлення внутрішньоклітинної концентрації АФК застосовували флуоресцентний зонд 2,7-дихлордигідрофлуоресцеїн діацетату ( $H_2DCFDA$ ). Його розщеплюють внутрішньоклітинні естерази з утворенням 2,7-дихлордигідрофлуоресцеїну, який АФК трансформують у високофлуоресцентний 2,7-дихлорфлуоресцеїн (DCF).

Використовували проточний цитометр BD FACSCanto™ II ("BD Biosciences", США). Середню інтенсивність флуоресценції (MFI) з DCF аналізували за допомогою програмного забезпечення BD FACSDiva™ ("Becton Dickinson", США) для кількісної оцінки продукування АФК лейкоцитами.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми Graph Pad Prism 5 ("Graph Pad Software", США). Показники порівнювали з використанням непараметричного U-критерію Манна–Уїтні. Відмінності при  $p < 0,05$  вважали статистично значущими.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Одержані результати свідчать про нерівномірну генерацію АФК у лейкоцитах, які ми отримали зі зразків крові тварин трьох експериментальних груп та оцінили за допомогою методу проточної цитометрії. Одержані дані наведено на рисунку.

У 2-й групі спостерігали суттєве достовірне ( $p < 0,05$ ) підвищення показника флуоресценції, що вказувало на інтенсифікацію продукування АФК порівняно з контролем.

Водночас слід відмітити, що попереднє УФ-опромінення наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою Європію  $GdVO_4:Eu^{3+}$  призводило до зниження показника флуоресценції (3-тя група) порівняно не лише з лейкоцитами тварин, які отримували неопромінену дозу наночастинок, але і з контролем (1-ша група).

На сьогодні цілком доведено той факт, що саме природа, розмір, агрегаційна здатність,

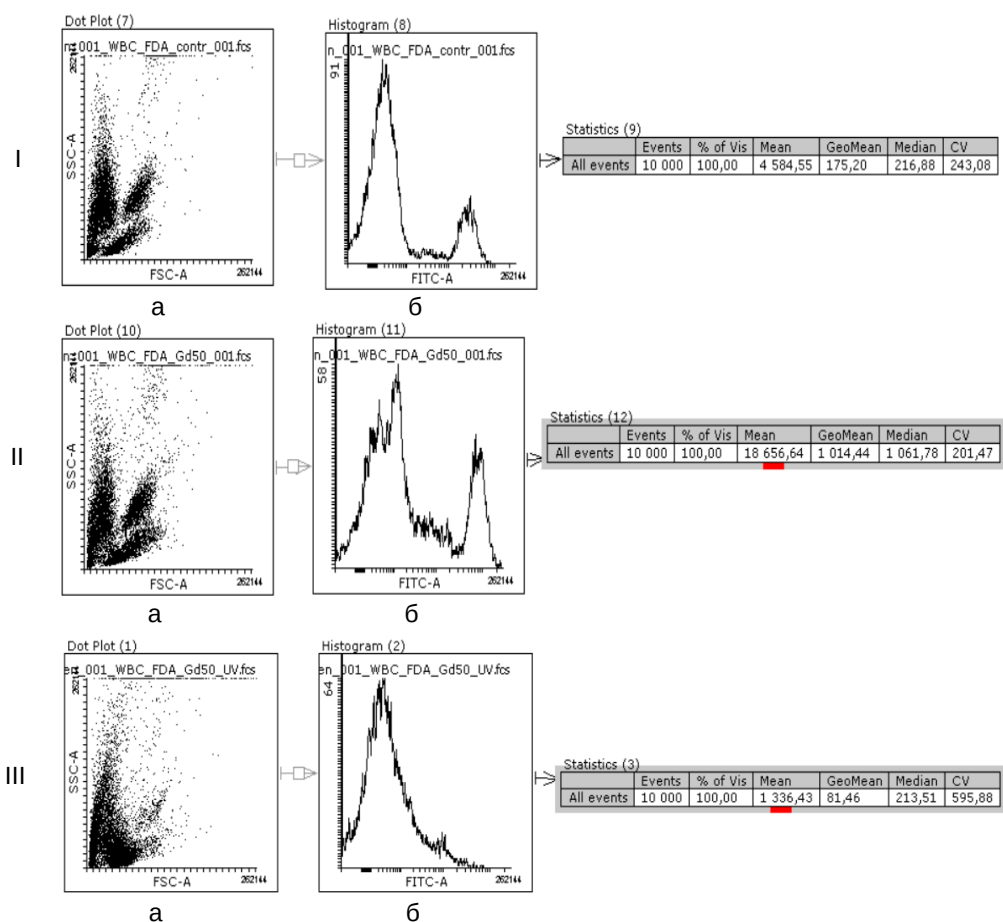


Рис. Репрезентативна цитограма (а) і гістограма SSC/FL1 (2,7-дихлорфлуоресцеїн) (б) лейкоцитів щурів 1-ї (I, контроль, тварина № 2), 2-ї (II, неопромінені наночастинки, тварина № 3) і 3-ї (III, опромінені наночастинки, тварина № 1) груп, відповідно, зверху вниз. Середня інтенсивність флуоресценції DCF у лейкоцитах становить 4584,55, 18656,64 та 1336,43, відповідно, для 1-ї, 2-ї і 3-ї груп.

Примітка. Достовірні відмінності між 1-ю і 2-ю ( $p < 0,05$ ) та 1-ю і 3-ю ( $p < 0,05$ ) групами.

співвідношення поверхні до об'єму та покриття визначають властивості, зокрема цитотоксичність, наночастинок. Крім того, здатність наночастинок інтенсифікувати генерацію АФК та подальший окисний стрес, який багато в чому визначає активацію проапоптотичних процесів, є відомими молекулярними механізмами цитотоксичності, опосередкованої наночастинами.

У рамках нашого дослідження ми вивчали здатність наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою Європію GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> (попередньо УФ-опромінені та без попередньої обробки) впливати на генерацію АФК у лейкоцитах щурів за умов перорального введення протягом 14 днів.

Ми відзначили наявність чіткого впливу попередньої УФ-обробки наночастинок на їх здатність стимулювати продукування АФК у лейкоцитах: посилення генерації АФК відбувалося під дією необроблених частинок, тоді як УФ-опромінення, навпаки, знижувало цю здатність. Проте вважаємо, що не лише УФ-обробка наночастинок є визначальним фактором, але і тривалість

та спосіб введення самих наночастинок. Зокрема, в публікації [15] оприлюднено дані, що формуванню окисного стресу в лейкоцитах сприяла висока концентрація УФ-необроблених наночастинок, особливо під час тривалої експозиції, тоді як наночастинки ортованадату гадолінію з домішкою Європію GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup>, попередньо оброблені ультрафіолетовим світлом, індукували оверпродукування АФК в ядерних клітинах навіть при короткочасній інкубації та низькій концентрації.

Отримані дані узгоджуються з тим, що наночастинки ортованадату гадолінію з домішкою Європію GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> можуть продукувати АФК як при прямому високоенергетичному фотонному опроміненні/рентгенівському опроміненні, так і в темнових умовах.

Здатність наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою Європію GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> генерувати АФК без УФ-обробки (зокрема, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, O<sub>2</sub><sup>·-</sup> і OH-радикалів) пов'язана з великою кількістю VO та іонів ванадію з нижчою валентністю (V<sup>4+</sup>) в їх кристалічній ґратці. Фотоіндуковані електрони і

дірки можуть бути захоплені на дефектах, що затримує їх перенесення на поверхню наночастинки [12, 13].

Водночас генерацію АФК під впливом попередньо опромінених наночастинок можна пояснити тим, що світло провокує відновлення  $\text{Eu}^{3+}$  до  $\text{Eu}^{2+}$ . Електрони, що зберігаються в  $\text{Eu}^{2+}$ , надалі беруть участь у реакціях перенесення електронів з виробленням супероксидного аніона та інших АФК [16].

У ряді наукових робіт було відзначено, що наночастинки, в тому числі на основі ванадію, можуть спричиняти мітохондріальну дисфункцію [17–20]. Зокрема, один із механізмів полягає в тому, що наночастинки можуть проходити безпосередньо до мітохондрій, взаємодіючи з ними та викликаючи витік вільних радикалів, які завжди утворюються при роботі дихального ланцюга та інших метаболічних шляхів, спряжених з окисненням [21]. Для наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою європію  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  було доведено вплив на тканинне дихання, зокрема їх здатність пригнічувати окисне фосфорилування [22]. Таким чином, потенційно наночастинки ортованадату гадолінію з домішкою європію  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  можуть посилювати мі-

тохондріальну дисфункцію та стимулювати проапоптотичні зміни в клітинах, у тому числі внаслідок надмірного витоку електронів через ушкоджені мітохондрії. Зазначені зміни замкнуть порочне коло оверпродукування АФК та будуть вторинно посилювати окисний стрес. При контрольованому використанні ці властивості можна застосовувати для стимуляції апоптозу, наприклад ракових клітин, що є перспективним напрямком у лікуванні онкологічних захворювань.

**ВИСНОВКИ.** Результати наших досліджень свідчать про те, що наночастинки ортованадату гадолінію з домішкою європію  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  при пероральному застосуванні в щурів у дозі 50 мг/кг маси тіла без попереднього УФ-опромінення здатні достовірно підвищувати генерацію АФК у лейкоцитах, тоді як використання їх в аналогічній дозі з попереднім опроміненням, навпаки, супроводжується зменшенням продукування АФК, навіть порівняно з контролем. Вищевикладене обумовлює перспективність подальшого вивчення властивостей наночастинок ортованадату гадолінію з домішкою європію  $\text{GdVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  з метою використання їх у практичній медицині, зокрема в схемах терапії онкопатології.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Wild C. P. The global cancer burden: necessity is the mother of prevention / C. P. Wild // *Nature Reviews Cancer*. – 2019. – **19**, No. 3. – P. 123–124. <https://doi.org/10.1038/s41568-019-0110-3>.
2. Chen H. H. W. Improving radiotherapy in cancer treatment: Promises and challenges / H. H. W. Chen, M. T. Kuo // *Oncotarget*. – 2017. – **8**, No. 37. – P. 62742–62758. URL: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18409>.
3. Recent advances in radiation oncology / C. Garibaldi, B. A. Jereczek-Fossa, G. Marvaso [et al.] // *ecancermedicalscience*. – 2017. – **11**. <https://doi.org/10.3332/ecancer.2017.785>.
4. Targeted nanoparticles for tumour radiotherapy enhancement—the long dawn of a golden era? / E. Gargioni, F. Schulz, A. Raabe [et al.] // *Annals of Translational Medicine*. – 2016. – **4**, No. 24. – P. 523. <https://doi.org/10.21037/atm.2016.12.46>.
5. Nanoparticles for Radiation Therapy Enhancement: the Key Parameters / P. Retif, S. Pinel, M. Toussaint [et al.] // *Theranostics*. – 2015. – **5**, No. 9. – P. 1030–1044. <https://doi.org/10.7150/thno.11642>.
6. Kwatra D. Nanoparticles in radiation therapy: a summary of various approaches to enhance radiosensitization in cancer / D. Kwatra, A. Venugopal, S. Anant // *Trans. Cancer Res*. – 2013. – **2**, No. 4. – P. 330–342. <https://doi.org/10.21037/1550>
7. Nanoparticle-Based Drug Delivery in Cancer Therapy and Its Role in Overcoming Drug Resistance / Y. Yao, Y. Zhou, L. Liu [et al.] // *Frontiers in Molecular Biosciences*. – 2020. – **7**. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00193>.
8. Reactive oxygen species as mediator of tumor radiosensitivity / K. Mishra, A. Singh, A. Pandey [et al.] // *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. – 2014. – **10**, No. 4. – P. 811. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.146073>.
9. Treatment of multiple brain metastases using gadolinium nanoparticles and radiotherapy: NANO-RAD, a phase I study protocol / C. Verry, L. Sancey, S. Dufort [et al.] // *BMJ Open*. – 2019. – **9**, No. 2. – P. e023591. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-023591>.
10. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure / M. V. Zhulikova, M. S. Myroshnychenko, O. A. Nakonechna [et al.] // *Wiadomości Lekarskie*. – 2023. – **76**, No. 7. – P. 1670–1676. <https://doi.org/10.36740/wlek202307123>.
11. The use of theranostic gadolinium-based nanoparticles to improve radiotherapy efficacy / L. Sancey, F. Lux, S. Kotb [et al.] // *The British Journal of Radiology*. – 2014. – **87**, No. 1041. – P. 20140134. <https://doi.org/10.1259/bjr.20140134>.
12. Light-triggered redox activity of  $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$  nanoparticles / S. L. Yefimova, P. O. Maksimchuk, K. O. Hubenko [et al.] // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2020. – **242**. – P. 118741. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118741>.

13. Dark Reactive Oxygen Species Generation in ReVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> (Re = Gd, Y) Nanoparticles in Aqueous Solutions / P. O. Maksimchuk, S. L. Yefimova, K. O. Hubenko [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2020. – **124**, No. 6. – P. 3843–3850. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b10143>.

14. The viability of leukocytes and reactive oxygen species generation by them in rats with chronic colitis / O. Babenko, I. Vasylyeva, O. Nakonechna [et al.] // *Wiad Lek.* – 2022. – **75** (9 pt 2). – P. 2270–2274.

15. UV Light-Activated GdYVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> Nanoparticles Induce Reactive Oxygen Species Generation in Leukocytes Without Affecting Erythrocytes In Vitro / A. Onishchenko, V. Myasoedov, S. Yefimova [et al.] // *Biological Trace Element Research*. – 2021. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02867-z>.

16. Impact of Eu<sup>3+</sup> Ions on Pro-oxidant Activity of ReVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> Nanocrystals / P. O. Maksimchuk, K. O. Hubenko, G. V. Grygorova [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2021. – **125**, No. 2. – P. 1564–1569. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c10028>

17. Cytotoxicity of vanadium oxide nanoparticles and titanium dioxide-coated vanadium oxide nanoparticles to human lung cells / W.S. Xi, H. Tang, Y.Y. Liu [et al.] // *J. Appl. Toxicol.* – 2020. – **40**, No 5. – P. 567–577.

18. Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field / Z. Yu, Q. Li, J. Wang [et al.] // *Nanoscale Res Lett*. – 2020. – **15**, No 1. – P. 115. <https://doi.org/10.1186/s11671-020-03344-7>.

19. Quantitative analysis of reactive oxygen species photogenerated on metal oxide nanoparticles and their bacteria toxicity: the role of superoxide radicals / D. Wang, L. Zhao, H. Ma [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* – 2017. – **51**. – P. 10137–10145.

20. Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress / G. Applerot, J. Lellouche, A. Lipovsky [et al.] // *Small*. – 2012. – **8**. – P. 3326–3337.

21. Detection of nanometer-sized particles in living cells using modern fluorescence fluctuation methods / M. Edetsberger, E. Gaubitzer, E. Valic [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2005. – **332**, No. 1. – P. 109–116. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.04.100>

22. Anti-aging effects of antioxidant rare-earth orthovanadate nanoparticles in wistar rats / Y. Nikitchenko, V. K. Klochkov, N. S. Kavok [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2021. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02531-y>

#### REFERENCES

1. Wild, C.P. (2019) 'The global cancer burden: Necessity is the mother of prevention', *Nature Reviews Cancer*, **19** (3), 123-124. DOI:10.1038/s41568-019-0110-3.

2. Chen, H.H.W., Kuo, M.T. (2017) Improving radiotherapy in cancer treatment: Promises and challenges, *Oncotarget*, **8** (37), 62742-62758. DOI: 10.18632/oncotarget.18409.

3. Garibaldi, C., Jereczek-Fossa, B.A., Marvaso, G., Dicuonzo, S., Rojas, D.P., Cattani, F., Starzyńska, A., Ciardo, D., Surgo, A., Leonardi, M.C., Ricotti, R. (2017). Recent advances in Radiation oncology. *Ecancer medical science*, **11**. doi:10.3332/ecancer.2017.785.

4. Gargioni, E., Schulz, F., Raabe, A., Burdak-Rothkamm, S., Rieckmann, T., Rothkamm, K. (2016). Targeted nanoparticles for tumour radiotherapy enhance the long dawn of a golden era? *Annals of Translational Medicine*, **4**(24), 523-523. DOI:10.21037/atm.2016.12.46.

5. Retif, P., Pinel, S., Toussaint, M., Frochot, C., Chouikrat, R., Bastogne, T., Barberi-Heyob, M. (2015). Nanoparticles for radiation therapy enhancement: The key parameters. *Theranostics*, **5** (9), 1030-1044. DOI:10.7150/thno.11642.

6. Kwatra, D., Venugopal, A., Anant, S. (2013). Nanoparticles in radiation therapy: a summary of various approaches to enhance radiosensitization in cancer. *Trans. Cancer Res.*, **2** (4), 330-342. doi:10.21037/1550

7. Yao, Y., Zhou, Y., Liu, L., Xu, Y., Chen, Q., Wang, Y., Wu, S., Deng, Y., Zhang, J., & Shao, A (2020). Nanoparticle-based drug delivery in cancer therapy and its role in overcoming drug resistance. *Frontiers in Molecular Biosciences*, **7**. DOI:10.3389/fmolb.2020.00193.

8. Mishra, K., Singh, A., Pandey, A., Mishra, K.P. (2014). Reactive oxygen species as mediator of tumor

radiosensitivity. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, **10** (4), 811. DOI:10.4103/0973-1482.146073.

9. Verry, C., Sancey, L., Dufort, S., Le Duc G., Mendoza, C., Lux, F., Grand, S., Arnaud, J., Quesada, J.L., Villa, J., Tillement, O., Balosso, J. (2019). Treatment of multiple brain metastases using gadolinium nanoparticles and radiotherapy: Nano-Rad, a phase I study protocol. *BMJ Open*, **9** (2). DOI:10.1136/bmjopen-2018-023591.

10. Zhulikova, M.V. Myroshnychenko, M.S., Nakonechna, O.A., Zhulikov, O.O., Pustova, N.O., Bibichenko, V.O., Lytvynenko, O.Yu., Kucheriavchenko, M.O. (2023). Reactive oxygen species generation by blood leukocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. *Wiadomości Lekarskie*, **76** (7), 1670-1676. DOI:10.36740/wlek202307123.

11. Sancey, L., Lux, F., Kotb, S., Roux, S., Dufort, S., Bianchi, A., Crémillieux, Y., et al. (2014). The use of the-ranostic gadolinium-based nanoprobe to improve radiotherapy efficacy. *The British Journal of Radiology*, **87**(1041), 20140134. DOI:10.1259/bjr.20140134.

12. Yefimova, S.L. Maksimchuk, P.O., Hubenko, K.O., Omielaieva, V.V., Kavok, N.S., Klochkov, V.K., Malyukin, Y.V., Semynozhenko, V.P. (2020). Light-triggered redox activity of gdyvo<sub>4</sub>:eu<sup>3+</sup> nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **242**, 118741. DOI:10.1016/j.saa.2020.118741.

13. Maksimchuk, P.O., Yefimova, S.L., Hubenko, K.O., Omielaieva, V.V., Kavok, N.S., Klochkov, V.K., Sorokin, O.V., Malyukin, Y.V. (2020). Dark reactive oxygen species generation in Revo<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> (re = gd, y) nanoparticles in aqueous solutions. *The Journal of Physical Chemistry C*, **124** (6), 3843-3850. DOI:10.1021/acs.jpcc.9b10143.

14. Babenko, O., Vasylyeva, I., Nakonechna, O., Popova, L., Voitenko, S., Pustova, N. (2022). The viability of leukocytes and reactive oxygen species generation by them in rats with chronic colitis. *Wiad Lek.*, 75 (9 pt 2). 2270-2274.
15. Onishchenko, A., Myasoedov, V., Yefimova, S., Nakonechna, O., Prokopyuk, V., Butov, D. et al. (2021). UV light-activated GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> nanoparticles induce reactive oxygen species generation in leukocytes without affecting erythrocytes in vitro. *Biological Trace Element Research*, 200 (6), 2777-2792. DOI:10.1007/s12011-021-02867-z.
16. Maksimchuk, P.O., Hubenko, K.O., Grygorova, G.V., Klochkov, V.K., Sorokin, A.V., Yefimova, S.L. (2021). Impact of EU<sup>3+</sup> ions on pro-oxidant activity of GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> Nanocrystals. *The Journal of Physical Chemistry C*, 125(2), 1564-1569. DOI:10.1021/acs.jpcc.0c10028.
17. Xi, W., Tang H., Liu, Y.Y., Liu, C.Y., Gao, Y., Cao, A., Liu, Y., Chen, Z., Wang, H. (2019). Cytotoxicity of vanadium oxide nanoparticles and titanium dioxide-coated vanadium oxide nanoparticles to human lung cells. *Journal of Applied Toxicology*, 40 (5), 567-577. DOI:10.1002/jat.3926.
18. Yu, Z., Li, Q., Wang, J., Yu, Y., Wang, Y., Zhou, Q., Li, P. (2020). Reactive oxygen species-related nanoparticle toxicity in the biomedical field. *Nanoscale Res Lett*, 15 (1), 115. DOI:10.1186/s11671-020-03344-7.
19. Wang, D., Zhao, L., Ma, H., Zhang, H., Guo, L.-H. (2017). Quantitative analysis of reactive oxygen species photogenerated on metal oxide nanoparticles and their bacteria toxicity: the role of superoxide radicals. *Environ. Sci. Technol.*, 51, 10137-10145.
20. Applerot, G., Lellouche, J., Lipovsky, A., Nitzan, Y., Lubart, R., Gedanken, A., Banin, E. (2012). Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: revealing the route of induced oxidative stress. *Small*, 8, 3326-3337.
21. Edetsberger, M., Gaubitzer, E., Valic, E., Waigmann, E., Köhler, G. (2005). 'Detection of nanometer-sized particles in living cells using modern fluorescence fluctuation methods. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 332 (1), 109-116. doi:10.1016/j.bbrc.2005.04.100
22. Nikitchenko, Y.V., Klochkov, V.K., Kavok, N.S., Averchenko, K.A., Karpenko, N.A., Nikitchenko, I.V., Yefimova, S.L., Bozhkov, A.I. (2021). Anti-aging effects of antioxidant rare-earth orthovanadate nanoparticles in wistar rats. *Biol. Trace Elem. Res.* DOI:10.1007/s12011-020-02531-y.

Отримано 03.08.2023

Адреса для листування: Т. О. Брюханова, Харківський національний медичний університет, просп. Науки, 4, Харків, 61022, Україна, e-mail: to.briukhanova@knmu.edu.ua.

T. O. Briukhanova, O. A. Nakonechna, T. V. Horbach, S. L. Yefimova, S. O. Stetsenko  
KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## EFFECT OF GADOLINIUM ORTHOVANADATE NANOPARTICLES WITH EUROPIUM GDVO<sub>4</sub>:EU<sup>3+</sup> WITH AND WITHOUT PREVIOUS UV IRRADIATION ON THE GENERATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN RAT LEUKOCYTES

### Summary

**Introduction.** Considering the significant rate of oncopathologies spreading, search and research of methods for increasing the effectiveness and safety profile of anticancer therapy is relevant. One of the promising radiosensitizers are nanoparticles, including gadolinium orthovanadate with europium. However, data on their cytotoxicity are quite limited, which determines the feasibility of their further study.

**The aim of the study** – to evaluate the generation of reactive oxygen species (ROS) in rats peripheral blood leukocytes under the influence of GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> nanoparticles (oral administration).

**Research Methods.** The WAG rats were used in our study, which were divided into 3 groups that received drinking water (group 1); aqueous solution of GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> at a dose of 50 µg/kg of body weight without UV irradiation (group 2) and with previous UV irradiation (group 3) for 14 days intragastrically. In the suspension of leukocytes, the generation of ROS was determined using the fluorescent probe 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate on a flow cytometer. The obtained results were processed statistically.

**Results and Discussion.** The results indicate uneven generation of ROS in leukocytes: a significant intensification of ROS production was observed in group 2, compared to the control. Previous UV irradiation of GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> nanoparticles led to a decrease in the fluorescence index (indication of ROS generation) (group 3), compared to the other two groups. It is obvious that the determining factor is not only the UV irradiation of nanoparticles, but also the duration and method of administration of the nanoparticles themselves.

**Conclusions.** The results of our research indicate that GdVO<sub>4</sub>:Eu<sup>3+</sup> nanoparticles administered orally in rats at a dose of 50 µg/kg of body weight without previous UV irradiation are able to reliably increase the generation of ROS in leukocytes, while the use of nanoparticles with a similar dose with previous UV irradiation, on the contrary, is accompanied by a decrease in ROS production, even compared to the control.

KEY WORDS: gadolinium orthovanadate; nanoparticles; oncology; reactive oxygen species; flow cytometry.