

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-53-03>
УДК: 615.8



Генерація активних форм кисню в лейкоцитах щурів за умов впливу різних концентрацій ортованадату гадоліній-ітрію при пероральному введенні

Наконечна О.А.¹, <https://orcid.org/0000-0002-2614-1587>, e-mail: oksana.nakonechna69@gmail.com
Бачинський Р.О.¹, <https://orcid.org/0000-0001-7141-0435>, e-mail: ruslanbach1974@gmail.com
М'ясоєдов В.В.¹, <https://orcid.org/0000-0001-7135-4672>, e-mail: vmyasoedov21@gmail.com
Векшин В.О.¹, <https://orcid.org/0000-0003-2834-8773>, e-mail: myposta2014@gmail.com
Бондаренко М.А.¹, <https://orcid.org/0000-0002-0203-0161>, e-mail: bondaren.koma3007@gmail.com
Вишницька І.А.², <https://orcid.org/0000-0003-3880-201X>, e-mail: ivyshnitska@mail.sjsm.org
Клочков В.К.³, <https://orcid.org/0000-0002-8080-1195>, e-mail: 12fulkv@gmail.com

¹Харківський національний медичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна
²Медична школа біохімії та медичної генетики Сент-Джеймс,
Інкорпорована служба розвитку людських ресурсів, Ангілья.
³Інститут сцинтиляційних матеріалів Національної академії
наук України, Харків, Україна

Reactive oxygen species generation in leucocytes of rats under the influence of different concentrations of yttrium gadolinium orthovanadate during oral administration

Nakonechna O.A.¹, <https://orcid.org/0000-0002-2614-1587>, e-mail: oksana.nakonechna69@gmail.com.
Bachynskiy R.O.¹, <https://orcid.org/0000-0001-7141-0435>, e-mail: ruslanbach1974@gmail.com
Miasoiedov V.V.¹, <https://orcid.org/0000-0001-7135-4672>, e-mail: vmyasoedov21@gmail.com
Vekshyn V.O.¹, <https://orcid.org/0000-0003-2834-8773>, e-mail: myposta2014@gmail.com
Bondarenko M.A.¹, <https://orcid.org/0000-0002-0203-0161>, e-mail: bondaren.koma3007@gmail.com
Vyshnytska I.A.², <https://orcid.org/0000-0003-3880-201X>, e-mail: ivyshnitska@mail.sjsm.org
Klochkov V.K.³, <https://orcid.org/0000-0002-8080-4672>, e-mail: 12fulkv@gmail.com

¹Kharkiv National Medical University Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
²Biochemistry and Medical Genetics Saint James School of Medicine,
Human Resources Development Services Incorporated, Anguilla
³Institute for Scintillation Materials National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

розчини ортованадату гадоліній-ітрію активованого европієм, наночастинки, активні форми кисню, лейкоцити.

Для кореспонденції:

Наконечна Оксана Анатоліївна
Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, кафедра біологічної хімії; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, 61022, Україна;
e-mail: oa.nakonechna@knmu.edu.ua

© Наконечна О.А., Бачинський Р.О., М'ясоєдов В.В., Векшин В.О., Бондаренко М.А., Вишницька І.А., Клочков В.К., 2025

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Використання модифікованих випромінюванням наночастинок може привести до більш високого утворення активних форм кисню (АФК), що згодом призведе до більшої цитотоксичності та генотоксичності по відношенню до пухлин. Таким чином, при застосуванні наноматеріалів сумісно з опроміненням можна спостерігати синергізм впливу чинників.

Мета роботи – проведення порівняльної характеристики впливу наночастинок ортованадату гадоліній ітрію, активованого европієм, в концентраціях 100 та 200 мкг/кг, без опромінення та при попередньому УФ-опроміненні, при пероральному введенні їх розчинів, на генерацію активних форм кисню у лейкоцитах периферичної крові щурів.

Матеріали та методи. Експеримент проводили на 30 статевозрілих щурах-самцях популяції WAG, яких випадковим чином розподілили на 5 груп (по 6 тварин у кожній). Перша група – контрольна (щури отримували питну воду), 2-га та 3-тя групи тварин, яким протягом 14 діб вводили водні розчини ортованадату гадоліній-ітрію активованого европієм ($GdYVO_4:Eu^{3+}$), відповідно в дозі 100 мкг/кг маси тіла тварини (2-га група, Gd-100) і 200 мкг/кг (3-тя група, Gd-200); тварини 4-ї і 5-ї груп тварин, отримували протягом 14 діб аналогічну дозу водних розчинів наночастинок, тобто 100 мкг/кг (4-та група, Gd(UV)-100) і 200 мкг/кг (5-та група, Gd(UV)-200), що були попередньо опромінені УФ-світлом. Воду та водні

розчини наночастинок вводили щурам перорально за допомогою дозової піпетки з наконечником.

Результати та їх обговорення. Показано, що здатність наночастинок $GdYVO_4:Eu^{3+}$ генерувати АФК у лейкоцитах збільшується після попередньої їх активації УФ світлом та є дозозалежною. При введенні тваринам розчину наночастинок $GdYVO_4:Eu^{3+}$ попередньо УФ-опроміненої дози 200 мкг/кг маси тіла тварини, значення показників утворення АФК у лейкоцитах щурів збільшується відносно контрольної групи практично на 15%.

Висновки. Таким чином, наночастинок $GdYVO_4:Eu^{3+}$ мають перспективу використання в якості допоміжного засобу для підвищення ефективності променевої терапії в лікуванні онкопатології, оскільки селективна генерація АФК у клітинах пухлин активує шляхи клітинної смерті. Більш того, спираючись на проведені нами експериментальні дослідження, можна сподіватися, що використання наночастинок $GdYVO_4:Eu^{3+}$, що попередньо піддавались дії УФ опромінення, значно підсилить генерацію АФК під дією високоенергетичного опромінення (променева терапія).

Для цитування:

Наконечна О.А., Бачинський Р.О., М'ясоєдов В.В., Векшин В.О., Бондаренко М.А., Вишницька І.А., Клочков В.К. Генерація активних форм кисню в лейкоцитах щурів за умов впливу різних концентрацій ортованадату гадоліній-ітрію при пероральному введенні. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина.* 2025. Т. 33. № 2 (53). С. 194–210. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-53-03>

Keywords:

europium-activated gadolinium-yttrium orthovanadate solutions, nanoparticles, reactive oxygen species, leukocytes.

For correspondence:

Nakonechna Oksana Anatoliivna
Kharkiv National Medical University
Ministry of Health of Ukraine;
4 Nauky Ave., Kharkiv, 61022, Ukraine;
e-mail: oa.nakonechna@knmu.edu.ua

© Nakonechna O.A.,
Bachynskiy R.O., Miasoiedov V.V.,
Vekshyn V.O., Bondarenko M.A.,
Vyshnytska I.A., Klochkov V.K., 2025

ABSTRACT

Background. The use of radiation-modified nanoparticles can lead to higher formation of reactive oxygen species (ROS), which will subsequently lead to greater cytotoxicity and genotoxicity towards tumors. Thus, when using nanomaterials in combination with irradiation, synergism of the effects of factors can be observed.

Purpose –The aim of this research was to elucidate the effect of Europium-activated hydrogenated gadolinium yttrium nanoparticles at concentrations of 100 and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, without irradiation and with preliminary UV irradiation, on the generation of reactive oxygen species (ROS) in peripheral blood leukocytes of rats.

Materials and Methods. The experiment was performed on 30 sexually mature male rats of the WAG population, which were randomly divided into 5 groups (6 animals in each). The first group was the control group (rats received drinking water), groups 2 and 3 of animals were administered aqueous solutions of europium-activated gadolinium yttrium orthovanadate ($GdYVO_4:Eu^{3+}$) for 14 days, respectively, at a dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of animal body weight (group 2, Gd-100) and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (group 3, Gd-200); animals of groups 4 and 5 of animals received a similar dose of aqueous solutions of nanoparticles for 14 days, i.e. 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (group 4, Gd(UV)-100) and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (group 5, Gd(UV)-200), which were previously irradiated with UV light. Water and aqueous solutions of nanoparticles were administered to rats orally using a dosing pipette with a tip.

Results. It has been shown that the ability of $GdYVO_4:Eu^{3+}$ nanoparticles to generate ROS in leukocytes increases after their prior activation by UV light and is dose-dependent. When animals are administered a solution of $GdYVO_4:Eu^{3+}$ nanoparticles previously UV-irradiated at a dose of 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of animal body weight, the value of ROS formation indicators in rat leukocytes increases by almost 15% compared to the control group.

Conclusions. Thus, $GdYVO_4:Eu^{3+}$ nanoparticles have a prospect for use as an auxiliary agent for increasing the effectiveness of radiotherapy in the treatment of oncopathology, since the selective generation of ROS in tumor cells activates cell death pathways. Moreover, based on our experimental studies, we can hope that the use of $GdYVO_4:Eu^{3+}$ nanoparticles, previously subjected to UV irradiation, will significantly enhance the generation of ROS under the influence of high-energy irradiation (radiation therapy).

For citation:

Nakonechna OA, Bachynskiy RO, Miasoiedov VV, Vekshyn VO, Bondarenko MA, Vyshnytska IA, Klochkov VK. Reactive oxygen species generation in leucocytes of rats under the influence of different concentrations of yttrium gadolinium orthovanadate during oral administration. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine.* 2025; 33(2(53)):194–210. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2025-53-03>

ВСТУП

Сучасний розвиток нанотехнологій дав можливість маніпулювати структурами на атомному рівні, що, в свою чергу, дозволило створювати структури

INTRODUCTION

Current development of nanotechnology has made it possible to manipulate structures at the atomic level, which, in turn, has made it possible to create the particles

розміром від 1 до 100 нм [1, 2]. Наночастинки (НЧ) мають унікальні оптичні, електричні, магнітні та біологічні властивості, які забезпечуються співвідношенням площі поверхні до об'єму. Отже, властивості НЧ більш підпорядковуються законам квантової механіки [3, 4].

Наномедицина відноситься до тієї галузі науки, яка поєднує нанотехнології із застосуванням лікарських препаратів та діагностичних методів для покращення здатності впливати на певні клітини або тканини. Наномедицина передбачає візуалізацію, діагностику та адресну доставку ліків до органів-мішеней, що може надати допомогу у лікуванні різних захворювань.

Останніми роками спостерігається підвищений науковий інтерес до неорганічних наноматеріалів на основі рідкісноземельних металів [5]. Здатність їх колоїдних розчинів до люмінесценції дозволяє значно розширити можливості моніторингу біохімічних процесів, що відбуваються в організмі. Завдяки незначній токсичності та унікальним оптичним властивостям вони все частіше знаходять застосування в фармакології та медицині [6].

Найбільш поширеним є дослідження щодо застосування колоїдних розчинів, які містять іони лантанодів. Системи на основі лантанодів, до яких належать елементи від церію до лютецію, вважаються неінвазивним інструментом, тому вони особливо популярні у біохімічних дослідженнях [7]. Можна відзначити їх використання в медицині як при лікуванні онкологічних захворювань, так і як контрастні реагенти в комп'ютерній томографії. Застосування цих розчинів дозволяє проводити люмінесцентний аналіз клітин за рахунок автолюмінесценції біологічного матеріалу. Особливо ефективними люмінофорами вважаються ортованадати металів, які були активовані рідкісноземельними елементами. Інтенсивне світіння таких речовин у межах видимого діапазону викликається перенесенням енергії від іона ванадату до активатора [8]. Найбільший інтерес для створення люмінесцентних міток представляють іони європію, які мають заповнений рівень енергії $4f$. Люмінесценція солей таких лантанодів є слабкою через низький коефіцієнт екстинкції; але вона значно зростає при ступені окиснення металу Me^{3+} , тому в практичних дослідженнях зазвичай використовуються хелатні комплекси лантанодів з різними органічними лігандами [9].

Відомо, що лантаноді здатні ефективно регулювати біохімічні процеси у клітинах, завдяки чому їх використовують у медицині [10]. Через те, що іонний радіус лантану близький до такого у кальцію, він може замінювати кальцій і безпосередньо впливати на кальцій-залежні процеси в клітинах. Сам лантан може конкурувати не тільки з іонами кальцію, а й також магнію та інших металів змінної валентності, таких як марганець, мідь, цинк і кобальт за місця зв'язування в молекулах біополімерів. Це суттєво змінює конформацію біополімерів, зокрема білків-ферментів, та впливає на їхню активність. Особливий інтерес викликає процес взаємодії НЧ з білками та солями плазми крові [10]. При надходженні у кровотік НЧ здатні адсорбувати білки плазми крові. Такі взаємодії вносять істотні зміни у фізико-хімічні властивості НЧ, що впливає на їх функціональність [11].

Таким чином, на основі наведених вище літературних даних, можна зробити висновок, що лантаноді можуть викликати як позитивні, так і негативні ефекти в організмі. Проте, токсичність НЧ на основі

ranging in size from 1 to 100 nm [1, 2]. Nanoparticles (NPs) have unique optical, electrical, magnetic, and biological properties that are provided by the surface area-to-volume ratio. Consequently, the properties of NPs are more subject to the laws of quantum mechanics [3, 4].

Nanomedicine is the branch of science that combines nanotechnology with the use of drugs and diagnostic techniques to improve the ability to affect certain cells or tissues. Nanomedicine involves imaging, diagnosing, and targeted delivery of drugs to target organs, which can assist in the treatment of various diseases.

Recently, there has been an increased scientific interest in inorganic nanomaterials based on rare-earth metals [5]. The ability of their colloidal solutions to luminescence can significantly expand the possibilities of monitoring biochemical processes occurring in the body. Due to their low toxicity and unique optical properties, they are increasingly being used in pharmacology and medicine [6].

The most common research is on the use of colloidal solutions containing lanthanide ions. Lanthanide-based systems, which include elements from Cerium to Lutetium, are considered a non-invasive tool, which is why they are particularly popular in biochemical research [7]. Their use in medicine both in the treatment of oncological diseases and as contrast reagents in computed tomography is notable. The use of these solutions makes it possible to carry out luminescent analysis of cells due to the autoluminescence of biological material. Particularly effective phosphors are orthoates of metals that have been activated by rare-earth elements. The intense glow of such substances within the visible range is caused by the transfer of energy from the vanadate ion to the activator [8]. Europium ions, which have a filled energy level of $4f$ are of greatest interest for creating luminescent labels. The luminescence of such lanthanides' salts is weak due to the low extinction coefficient; however, it increases significantly with the metal's oxidation number Me^{3+} . Therefore the chelated complexes of lanthanides with various organic ligands are usually used in practical studies [9].

It is known that lanthanides are able to effectively regulate biochemical processes in cells. That is why, they are used in medicine [10]. Because the ionic radius of Lanthanum is close to that of Calcium, it can replace Calcium and directly affect calcium-dependent processes in cells. Lanthanum itself can compete not only with Calcium ions, but also with Magnesium and other metals of variable valence, such as Manganese, Copper, Zinc and Cobalt, for binding sites in biopolymer molecules. This significantly changes the conformation of biopolymers, including enzyme-proteins, and affects their activity. The process of interaction of NPs with plasma proteins and salts is of particular interest [10]. NPs are able to adsorb plasma proteins when entering the bloodstream. Such interactions change significantly the physicochemical properties of NPs, that affects their functionality [11].

Thus, based on the aforementioned references, it can be concluded that lanthanides can cause both positive and negative effects in the body. However, the toxicity of lanthanide-based NPs has not been sufficiently studied [12]. The danger of pathological conditions caused by the use of nanomaterials is not yet sufficiently understood, but undoubtedly quite real. Therefore, the elucidation

лантаноїдів вивчена не достатньо [12]. Небезпека патологічних станів, викликаних застосуванням наноматеріалів, ще не достатньо зрозуміла, але, безсумнівно, цілком реальна, тому з'ясування причин токсичної дії НЧ становлять один з експериментальних напрямків сучасної медицини.

При потрапленні в організм людини НЧ можуть переміщуватись по кровоносних судинах та накопичуватися в різних органах, зокрема в печінці, серці, нирках, селезінці, кістковому мозку та ін., де вони можуть викликати патологічні зміни [13]. Деякі наноматеріали, які вдихаються, можуть потрапляти до бронхів, а потім виводитися з організму, але НЧ, розміром від 5 до 50 нм, з більшою ймовірністю накопичуватимуться в альвеолах легень. Коли їхня кількість почне перевищувати фагоцитарну здатність, може відбутися переміщення НЧ крізь альвеолярно-капілярний бар'єр, а це може спричинити несприятливий вплив на серце, печінку та мозок. Відомо, що такий вплив може викликати серцево-судинні захворювання, а також патології центральної нервової системи [14].

Потенційні ризики для здоров'я, які можуть виникати із застосуванням наноматеріалів, поряд з їх накопиченням в організмі, також пов'язані зі здатністю проходити через гематоенцефалічний бар'єр. Саме з цієї причини НЧ розглядалися як носії ліків для лікування захворювань центральної нервової системи. Їхня ефективність була продемонстрована на моделях, пов'язаних з нейродегенеративними захворюваннями, нейрогенерациєю та пухлинами головного мозку [15]. Так, деякі НЧ були розглянуті як здатні проникати через гематотестикулярний бар'єр і впливати на сперматогенез [16]. Також НЧ здатні долати гематоплацентарний бар'єр та призводити до каліцтв плоду серед потомства мишей [17].

Низькі концентрації $GdYVO_4:Eu^{3+}$ (нижче 40 мкг/мл протягом 24 годин) не виявляють цитотоксичних властивостей щодо фібробластів *in vitro*, тоді як їх вищі концентрації, починаючи з концентрації 80 мкг/мл і вище, впливають на метаболічну активність і функціональні властивості клітин [18].

Автори [19, 20] провели дослідження, метою яких було з'ясування проериптотичних ефектів НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ та $LaVO_4:Eu^{3+}$, і виявлення основних механізмів індукції ериптозу із визначенням їхнього фармакологічного потенціалу при захворюваннях, пов'язаних з ериптозом. Досліди показали, що наведені НЧ в концентрації 80 мкг/мл сприяють ериптозу після 24-годинного впливу.

У науковій літературі є дані щодо вивчення дії НЧ діоксиду церію на моноцити крові людини. Аналіз показав, що моноцити периферичної крові людини при обробці НЧ CeO_2 з концентрацією 10 мкг/мл протягом 40 год, призводили до збільшення або набухання мітохондрій, індукції апоптозу і аутофагії, що супроводжується накопиченням агрегованого CeO_2 у цитоплазмі [21]. Набухання мітохондрій, зморщування ядер, конденсація хроматину і евакуація ламелярних тілець також були виявлені у пневмоцитах мишей при поглинанні нанорозмірного діоксиду титану (нано- TiO_2) з проявленням морфологічних ознак апоптозу [22].

Враховуючи, що вплив деяких НЧ на клітини може призводити до виникнення апоптозу, вчені намагаються розглядати цей ефект з позитивної сторони. Останніми

of the causes of the toxic effect of NPs is one of the experimental areas of a medicine recently.

When ingested, NPs can move through blood vessels and accumulate in various organs, including the liver, heart, kidneys, spleen, bone marrow, etc., where they can cause pathological changes [13]. Some inhaled nanomaterials can enter the bronchi and then be excreted from the body, but NPs ranging in size from 5 to 50 nm are more likely to accumulate in the alveoli of the lungs. When their number begins to exceed the phagocytic capacity, it can cause the NPs to move across the alveolar-capillary barrier, which can cause adverse effects on the heart, liver, and brain. It is known that such exposure can cause cardiovascular diseases, as well as pathologies of the central nervous system [14].

The potential health risks that may arise from the use of nanomaterials, along with their accumulation in the body, are also related to the ability to pass through the blood-brain barrier. It is for this reason that NPs were considered as carriers of drugs for the treatment of disorders of the central nervous system. Their efficacy has been demonstrated in models related to neurodegenerative diseases, neuroregeneration, and brain tumors [15]. Similarly, a number of NPs have been considered to be able to cross the blood-testicular barrier and affect spermatogenesis [16]. Also, NPs are able to cross the blood-placental barrier and lead to fetal deformities among the offspring of mice [17].

Low concentrations of $GdYVO_4:Eu^{3+}$ (below 40 $\mu\text{g/ml}$ for 24h) show no cytotoxic properties towards fibroblasts *in vitro*, while their higher concentrations starting from the concentration of 80 $\mu\text{g/ml}$ and above affect the metabolic activity and functional properties of cells. [18].

The authors [19, 20] conducted studies aimed at elucidating pro-eryptosis effects of $GdVO_4:Eu^{3+}$ and $LaVO_4:Eu^{3+}$ NPs, and identification of the main mechanisms of eryptosis induction with determination of their pharmacological potential in diseases associated with eryptosis. Experiments have shown that the eryptosis is promoted after 24 hours of exposure to NPs at a concentration of 80 mg/l.

In the scientific literature, there is data of Cerium dioxide NP effect on human blood monocytes. The analysis showed that human peripheral blood monocytes, when treated with the NP of CeO_2 at a concentration of 10 $\mu\text{g/ml}$ for 40 hours, led to an increase or swelling of mitochondria, induction of apoptosis and autophagy, accompanied by the accumulation of aggregated CeO_2 in the cytoplasm [21]. Swelling of mitochondria, wrinkling of nuclei, condensation of chromatin and evacuation of lamellar bodies were also detected in mouse pneumocytes, with the absorption of nano-sized titanium dioxide (nano- TiO_2), with the manifestation of morphological signs of apoptosis [22].

Given that the effects of some NPs on cells can lead to apoptosis, scientists are trying to treat this effect on the positive side. In recent years, the number of cancer patients has increased significantly. Almost every chemotherapy treated for cancer patients has its side effects, and the effects of the treatment are very low. However, nanoparticles, modified or loaded with signal molecules, can selectively affect cancer cells and induce cellular apoptosis in them [23]. This is especially true

роками у світі значно збільшується кількість онкологічних хворих. Майже кожна хіміотерапія, яка була проведена хворим на рак, має свої побічні ефекти, а ефект від лікування дуже низький. Однак, наночастинки, коли вони модифіковані або навантажені сигнальними молекулами, можуть вибірково впливати на ракові клітини та індукувати в них клітинний апоптоз [23]. Особливо це актуально для таких органів, як мозок та яєчка. Таким чином, результати сучасних досліджень свідчать про перспективність використання НЧ у комплексній терапії онкологічних захворювань.

Дані сучасних експериментальних досліджень з вивчення біологічної активності наноматеріалів збільшили обізнаність фахівців щодо токсичних ефектів НЧ, але механізм їх токсичності досі не зовсім зрозумілий. Оскільки апоптоз було зареєстровано у клітинах різних тканин з накопиченням НЧ різної природи, вивчення цієї проблеми перебуває у початковій стадії, що вказує на актуальність проведення досліджень. У цій статті наводяться дані впливу НЧ ортованадату гадоліній-ітрію, активованого європієм ($GdYVO_4:Eu^{3+}$), на генерацію активних форм кисню (АФК) у лейкоцитах периферичної крові експериментальних тварин і вивчення подальшого їх впливу на інтенсифікацію апоптичних процесів. У нашій попередній роботі [24] було показано, що опромінення НЧ $GdYVO_4:Eu^{3+}$ ультрафіолетом перед введенням у суспензію лейкоцитів щурів, підсилює генерацію АФК у цих клітинах. Тобто УФ-опроміненні НЧ є більш токсичними для клітин, що може бути позитивним ефектом у випадку терапії злоякісних пухлин, де ці НЧ потенційно можуть підсилювати ефекти радіотерапії. Тому в даній роботі було продовжено дослідження ефекту попереднього УФ-опромінення НЧ на генерацію АФК у лейкоцитах щурів в експериментах *in vivo*.

Мета роботи – проведення порівняльної характеристики впливу наночастинок ортованадату гадоліній-ітрію, активованого європієм, в концентраціях 100 та 200 мкг/кг, без опромінення та при попередньому УФ-опроміненні, при пероральному введенні їх розчинів на генерацію активних форм кисню у лейкоцитах периферичної крові щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Водні колоїдні розчини $GdYVO_4:Eu^{3+}$ були синтезовані за методикою, описаною в [25]. Синтезовані НЧ були охарактеризовані методами трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ), рентгенівського аналізу (ХРД), динамічного світлорозсіювання та спектроскопії. ТЕМ проводили за допомогою електронного мікроскопа TEM-125K (Selmi, Україна). Дзета-потенціали вимірювали методом динамічного розсіювання світла (DLS) з використанням аналізатора ZetaPALS/BI-MAS (Brookhaven Instruments Corp., США), який працював у режимі фазового аналізу розсіювання світла.

Експериментальна частина дослідження виконувалась відповідно до загальних етичних принципів, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986) та Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження». Комплексну програму

for organs such as the brain and the testicles. Thus, the results of modern research indicate the prospects for the use of NPs in the complex therapy of oncological diseases.

The evidence from current experimental studies of nanomaterials' biological activity has raised awareness of experts about the toxic effects of NPs, but the mechanism of their toxicity is still not entirely clear. Since apoptosis has been registered in cells of various tissues with accumulation of NPs of different nature, the study of this problem is in the initial stage, indicating the relevance of the research. This work reports the data on the effect of NPs on orthovanadate of yttrium gadolinium activated by Europium ($GdYVO_4:Eu^{3+}$), on the generation of reactive oxygen species (ROS) in peripheral blood leukocytes of experimental animals and the study of their further impact on the intensification of apoptotic processes. In our previous paper [24] it was shown that irradiation of NPs $GdYVO_4:Eu^{3+}$ by ultraviolet before administration into suspension of leukocytes of rats enhances the generation of ROS in these cells. That is, UV exposure to NPs is more toxic to cells, which can be a positive effect in the case of cancer therapy, where these NPs can potentially enhance the effects of radiotherapy. Therefore, in this current paper, the study of the effect of preliminary UV radiation of NPs on the generation of ROS in rat leukocytes in *in vivo* experiments was continued.

Objective – comparative characterization of the effect of Europium-activated hydrogenated gadolinium yttrium nanoparticles at concentrations of 100 and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, without irradiation and with preliminary UV irradiation, on the generation of reactive oxygen species in peripheral blood leukocytes of rats during an oral administration of their solutions.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

The aqueous colloidal solutions of $GdYVO_4:Eu^{3+}$ were synthesized following the method reported in [25]. Synthesized NPs were characterized by Transmission Electron Microscopy (TEM), X-ray Diffraction analysis (XRD), and Dynamic Light Scattering and spectroscopic methods. TEM was performed using a TEM-125K electron microscope (Selmi, Ukraine). Zeta potentials were measured by dynamic light scattering (DLS) using a ZetaPALS/BI-MAS analyzer (Brookhaven Instruments Corp., USA) operated in phase analysis light scattering mode.

The experimental part of the study was carried out in accordance with the general ethical principles adopted by the First National Congress of Bioethics of Ukraine (Kyiv, 2001), the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 1986) and the Council of Europe Directive 86/609/EEC (1986), the Law of Ukraine No. 3447-IV of 02/21/2006 «On the Protection of Animals from Cruelty». The comprehensive research program was reviewed and approved by the

дослідження розглянуто та погоджено комісією з питань біоетики Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України (витяг з Протоколу № 3 від 12 березня 2025 р.).

Експеримент проводили на 30 статевозрілих щурах-самцях популяції WAG, яких випадковим чином розподіляли на 5 груп (по 6 тварин у кожній). Перша група – контрольна (щури отримували питну воду), 2-га та 3-тя групи тварин, яким протягом 14 діб вводили водні розчини ортованадату гадоліній-ітрію, відповідно в дозі 100 мкг/кг маси тіла тварини (2-га група, Gd-100) і 200 мкг/кг (3-тя група, Gd-200); тварини 4-ї і 5-ї груп тварин, отримували протягом 14 діб аналогічну дозу водних розчинів наночастинок, тобто 100 мкг/кг (4-та група, Gd(UV)-100) і 200 мкг/кг (5-та група, Gd(UV)-200), що були попередньо опромінені УФ-світлом у кварцевих кюветах, джерело УФ-випромінювання «Кварц-125» ($\lambda = 200\div 400$ нм) протягом 20 хв. на відстані $l = 20$ см. Воду та водні розчини НЧ вводили щурам перорально за допомогою дозової піпетки з наконечником.

Декапітацію проводили шляхом циркулярної дислокації. Кров відбирали в стерильні пробірки, що містили K_2 EDTA Vacutainer (BD Vacutainer).

Суспензії лейкоцитів були отримані з крові тварин шляхом 20-хвилинної інкубації з $1 \times$ BD FACS™ (100 мкл крові на 2 мл розчину).

Далі в кожну пробірку додавали по 2,0 мл $1 \times$ лізуючого розчину, що містив до 200 мкл суміші цільної крові та моноклональних антитіл, струшували, інкубували при кімнатній температурі в захищеному від світла місці протягом 15 хвилин, центрифугували при 200 g протягом 5 хвилин. Потім обережно аспірували надосадову рідину, додавали 2,0 мл $1 \times$ PBS, що містить 1% інактивованої нагріванням фетальної бичачої сироватки та 0,1% азиду натрію (PBS-FBS). Після цього центрифугували при 200 g протягом 5 хвилин, аспірували надосадову рідину. Потім суспензію відмивали PBS 2 рази. До суспензії відмитих клітин в кількості $\sim 0,3 \div 1 \times 10^6$ додавали 100 мкл Annexin-binding buffer, 5 мкл AnnexinV-FITC і 5 мкл PI. Після інкубації впродовж 15 хв додавали 400 мкл Annexin-binding buffer та вимірювали за допомогою проточної цитометрії на цитометрі BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США) при FITC канал (488 нм та emission detection при 525 нм).

Генерацію АФК у лейкоцитах визначали за реакцією з робочими розчинами 2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну діацетату (H2DCFDA, Invitrogen TM, США) з кінцевою концентрацією АФК (активні форми кисню)-чутливого барвника, що дорівнює 10 мкМ. H2DCFDA широко використовується визначення внутрішньоклітинного вмісту АФК. При попаданні в клітину H2DCFDA деацетилюється естеразами і при взаємодії з АФК перетворюється на дихлорфлуоресцеїн (DCF), інтенсивність флуоресценції якого пропорційна вмісту АФК у клітині.

Зразки аналізували на проточному цитометрі BD FACSCanto II при 488 nm & emission detection at 525 nm з реєстрацією середньої інтенсивності флуоресценції DCF. Для порівняння числових значень показників середньої інтенсивності флуоресценції (MFI) DCF незалежних груп застосовували критерій Крускала–Уолліса з подальшим розрахунком критерію Данна.

Commission on KhNMU of the Ministry of Health of Ukraine (excerpt from Protocol No. 3 dated March 12, 2025).

The experiment was conducted on 30 sexually mature male rats of the WAG population, which were randomly divided into 5 groups (6 animals each). The group #1 was the control group (rats were getting a drinking water); the groups #2 and #3, which were injected with aqueous solutions of ortovanadate gadolinium yttrium for 14 days, respectively, at a dose of 100 μ g/kg animal body weight (group #2, Gd-100) and 200 μ g/kg (group #3, Gd-200); animals of the groups #4 and #5 had been receiving a similar dose of aqueous solutions of nanoparticles for 14 days, i.e. 100 μ g/kg (group #4, Gd(UV)-100) and 200 μ g/kg (groups #5, Gd(UV)-200), that were previously irradiated with UV lights in quartz cuvettes, the UV source was «Quartz-125» ($\lambda = 200\div 400$ nm) for 20 min. at a distance $l = 20$ cm. Water and aqueous solutions of the NPs were administered to rats orally, using a dose pipette with a tip.

Decapitation was carried out by circual dislocation. Blood was collected in sterile tubes containing K_2 EDTA Vacutainer (BD Vacutainer).

Leukocyte suspensions were obtained from animal blood by 20-minute incubation with $1 \times$ BD FACS™ (100 μ L of blood per 2 mL of solution).

Next, 2.0 mL of a $1 \times$ lysing solution containing up to 200 μ L of a mixture of whole blood and monoclonal antibodies was added to each tube, shaken, incubated at room temperature in a dark place for 15 minutes, centrifuged at 200 g for 5 minutes. The supernatant fluid was then gently aspirated, 2.0 mL of $1 \times$ PBS containing 1% heat-inactivated fetal bovine serum and 0.1% sodium azide (PBS-FBS) was added. This was centrifuged at 200 g for 5 minutes, and the supernatant fluid was aspirated. The suspension was then laundered with PBS 2 times. 100 μ L of Annexin-binding buffer, 5 μ L of AnnexinV-FITC and 5 μ L of PI were added to the suspension of washed cells in the amount of $\sim 0,3\div 1 \times 10^6$. After incubation, 400 μ L of Online-binding buffer was added for 15 minutes and measured using flow cytometry on the BD FACSCanto II cytometer (Becton Dickinson, USA) at the FITC channel (488 nm and emission detection at 525 nm).

The generation of ROS in leukocytes was determined by reaction with a working solution of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (H2DCFDA, Invitrogen TM, USA) with a final concentration of ROS (reactive oxygen species)-sensitive dye of 10 μ M. H2DCFDA is widely used for the recognition of intracellular ROS content. When it enters the cell, H2DCFDA is deacetylated by esterases and, when interacting with ROS, is converted into DCF, the fluorescence intensity of which is proportional to the ROS content in the cell.

The samples were analyzed on the BD FACSCanto II flow cytometer under 488 nm & emission detection at 525 nm with the registration of the mean fluorescence intensity of dichlorofluorescein (DCF). To compare the numerical values of the Mean Fluorescence Intensity (MFI) of the DCF of the independent groups, the Kruskal–Wallis test was used, followed by the calculation of the Dunn test.

Statistical processing of cytometry data was carried out using descriptive statistics. To check the normality of the distribution, the Kolmogorov–Smirnov quantitative test

Статистичну обробку даних цитометрії проводили за допомогою описової статистики. Для перевірки нормальності розподілу використовували кількісний тест Колмогорова–Смирнова. Цілісність та однорідність вибірки визначали за стандартною помилкою середнього. Стандартне відхилення та стандартну помилку середнього розраховували із застосуванням електронних таблиць *Microsoft Excel*. Статистичну значимість розраховували за *W*-критерієм порівняння медіан двох вибірок *Манна–Уїтні*. Визначення виконували за допомогою статистичного пакета *Statgraphics Centurion XVI* шляхом поєднання двох вибірок, сортування даних від найменшого до найбільшого та порівняння середніх рангів двох вибірок у об'єднаних даних.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Наночастинки $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ отримували у вигляді прозорих водних колоїдних розчинів ($\text{pH} = 7.4\text{--}7.8$) з концентрацією твердої фази 1 г/л. Розчини були стабільні більше 6 місяців у нормальних умовах без агломерації НЧ і зміни їх властивостей. Поверхня синтезованих НЧ має негативний заряд за рахунок карбоксилатних груп цитрат-іонів, які використовуються для стабілізації НЧ. ζ -потенціал для НЧ $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ становить -20.94 ± 1.27 мВ, що підтверджує їх високу стабільність. ТЕМ-зображення НЧ $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ показано на рис. 1а і показує, що НЧ $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ є частинками сферичної форми із середнім діаметром ~ 2 нм.

was used. The integrity and homogeneity of the sample were determined by the standard error of the mean. The standard deviation and standard error of the mean were calculated using *Microsoft Excel* spreadsheets. Statistical significance was calculated using the *W*-test comparing the medians of two *Mann–Whitney* samples of data. Determinations were performed using the *Statgraphics Centurion XVI* statistical package by combining two samples, sorting the data from smallest to largest, and comparing the average ranks of the two samples in the combined data.

RESULTS AND DISCUSSION

$\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ NPs were obtained in the form of transparent aqueous colloidal solutions ($\text{pH} = 7.4\text{--}7.8$) with the concentration of the solid phase of 1 g/L. The solutions were stable for more than 6 months in normal conditions without NPs agglomeration and changing their properties. The surface of synthesized NPs possesses a negative charge due to carboxylate groups of citrate ions used for NPs stabilization. The ζ -potential for $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ NPs is -20.94 ± 1.27 mV that confirms their high stability. The TEM image of the $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ NPs is shown in Fig.1a and reveals that $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ NPs are spherically shaped particles with an average diameter ~ 2 nm.

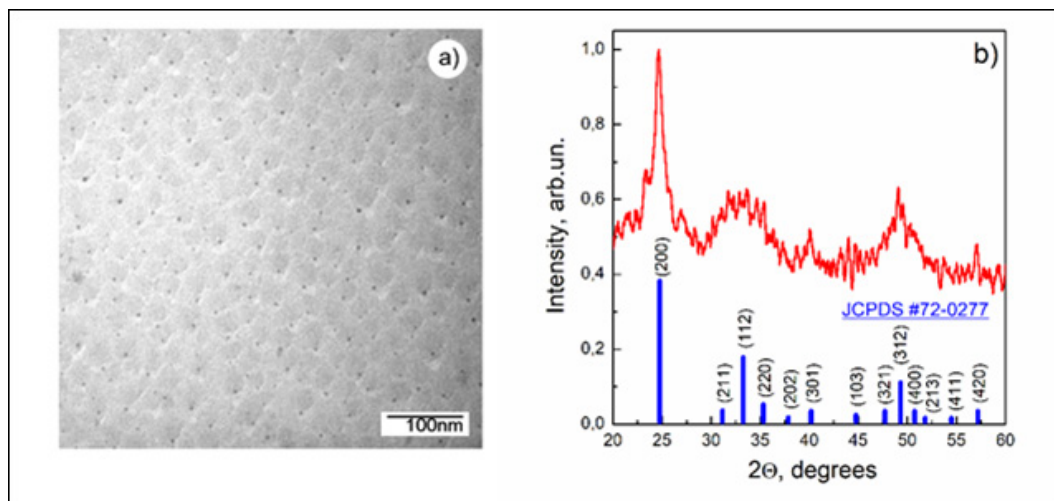


Рис. 1. ТЕМ-зображення (а) та рентенограма синтезованих НЧ $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$
Fig. 1. TEM image (a) and XRD pattern of synthesized $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ NPs

Кристалічна структура синтезованих НЧ $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ була підтверджена XRD-картиною (рис. 1b), яка добре збігається зі стандартними даними дифракції для масового GdVO_4 (JCPDS, № 72-0277), і жодних слідів інших домішок не спостерігалось.

Нейтрофільні лейкоцити є найбільшою популяцією циркулюючих у крові лейкоцитів, які є ключовими учасниками вродженої імунної відповіді. Нейтрофільні лейкоцити характеризуються найбільшою здатністю до продукції АФК, основним джерелом яких є НАДФН-оксидази. Також відомо, що у нейтрофільних лейкоцитах існують інші джерела АФК. Продукція

Crystal structure of synthesized $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ NPs was confirmed by the XRD pattern (Figure 1b), which matches well to the standard diffraction data for bulk GdVO_4 (JCPDS, No. 72-0277), and no traces of other impurities were observed.

Neutrophils are the largest population of circulating leukocytes in the blood, which are the key participants in the innate immune response. Neutrophils are characterized by the greatest ability to produce ROS. The main source of which is NADPH oxidases. It is also known that there are other sources of ROS in neutrophils. The production of ROS by neutrophils

АФК нейтрофільними лейкоцитами може мати фізіологічне та патологічне значення як для всього організму, так і безпосередньо для самих лейкоцитів [26].

Результати впливу розчинів ортованадату гадоліній-ітрію на утворення АФК у лейкоцитах крові щурів у дозах 100 та 200 мкг/кг маси тіла, без опромінення і при попередньому УФ-опроміненні, та їх порівняльна характеристика наведені в табл. 1.

can have physiological and pathological significance both for the whole body and directly for the leukocytes themselves [26].

The results of the effect of yttrium gadolinium orthovanadate solutions on the formation of ROS in rat leukocytes at doses of 100 and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight, without radiation and with pre-UV irradiation, and their comparative characteristics are presented in Table 1.

Таблиця 1. Генерація активних форм кисню у лейкоцитах крові щурів контрольної (1-ша група) та експериментальних груп (2-га–5-та групи) (Медіана [25; 75])
Table 1. Reactive Oxygen Species generation in leukocytes of rats' blood of a control group #1 and experimental groups' #2–5 (Mediana, 25–75%)

Група Groups	Генерація АФК в лейкоцитах ROS Generation in the leukocytes	
	Медіана Mediana	25% процентиль; 75% процентиль 25% percentile; 75% percentile
Контроль (1-ша група) / Control (group #1)	5325,76	[4889,29; 6254,45]
Gd-100 (2-га група) / Gd-100 (group #2)	5183,25 ^{2,3}	[4854,67; 5582,51]
Gd-200 (3-тя група) / Gd-200 (group #3)	4217,26 ¹	[3678,33; 4690,46]
Gd(UV)-100 (4-та група) / Gd(UV)-100 (group #4)	3946,84 ¹	[3196,67; 4345,75]
Gd(UV)-200 (5-та група) / Gd(UV)-200 (group #5)	6102,34 ⁴	[5180,76; 6547,48]

Примітки: ¹ – значима ($p < 0,05$) відмінність порівняно з показником групи контролю; ² – значима ($p < 0,05$) відмінність між показниками 2-ї і 4-ї груп; ³ – значима ($p < 0,05$) відмінність між показниками 2-ї і 3-ї груп; ⁴ – значима ($p < 0,05$) відмінність між показниками 4-ї і 5-ї груп.

Note: ¹ – statistically significant ($p < 0,05$) difference compared to the control group data; ² – statistically significant ($p < 0,05$) difference compared between #2 and #4 groups' data; ³ – statistically significant ($p < 0,05$) difference compared between #2 and #3 groups' data; ⁴ – statistically significant ($p < 0,05$) difference compared between #4 and #5 groups' data.

Отримані результати експериментального дослідження вказують на те, що в дозі 100 мкг/кг маси тіла без УФ-опромінення (2-га група, Gd-100) дія розчинів НЧ ортованадату гадоліній-ітрію не призводить до статистично значимого впливу на генерацію АФК у лейкоцитах щурів відносно контрольної групи, тоді як при попередньому УФ-опроміненні дія розчинів НЧ ортованадату гадоліній-ітрію в тій самій дозі (4-та група, Gd(UV)-100) призводить до значимого зменшення генерації АФК у лейкоцитах щурів у порівнянні з групою контролю, ($p < 0,05$). Така парадоксальна дія може відповідати сигнальній ролі АФК, що здатна активізувати ендogenous захисні системи клітин, та за механізмом зворотного зв'язку пригнічувати прооксидантні процеси.

Порівняння даних показників між групами тварин, які отримували дозу ортованадату гадоліній-ітрію 100 мкг/кг маси тіла без попереднього УФ опромінення (2-га група), та при попередньому УФ опроміненні (4-та група), відмічається значиме зменшення показників утворення АФК у лейкоцитах щурів у групі 4, в порівнянні з тваринами 2-ї групи ($p < 0,05$), (табл. 1). Результати генерації АФК щурів, що отримали за допомогою проточної цитометрії, представлені на рис. 2–4.

Отримані нами результати експериментальних досліджень узгоджуються з даними наукової літератури щодо вивчення впливу НЧ на антиоксидантну систему клітини. Було виявлено, що НЧ GdYVO ($d = 2$ нм) ефективно поглинають гідроксильні радикали,

The obtained results of the experimental study indicate that the action of solutions of orovanadate gadolinium yttrium NPs at a dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight without UV irradiation (group #2, Gd-100) does not lead to a statistically significant effect on the generation of ROS in rat leukocytes relative to the control group. While with previous UV lights, the action of solutions of orovanadate gadolinium yttrium NPs in the same dose (group #4, Gd(UV)-100) leads to a significant decrease in ROS generation in rat leukocytes compared to the control group ($p < 0,05$). Such a paradoxical action may correspond to the signaling role of ROS, which is able to activate the endogenous protective systems of cells, and inhibit prooxidant processes by the feedback mechanism.

The comparison of these parameters between groups of animals that received a dose of orovanadate gadolinium yttrium 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight without previous UV lights (group #2) and with previous UV lights (group #4), there was a significant decrease in the indicators of ROS formation in the leukocytes of rats in group #4, compared to animals of group #2 ($p < 0,05$), (Table 1).

The results of ROS generation of rats obtained by flow cytometry are presented in the figure 2–4.

The results of our experimental studies are consistent with the data of the scientific literature on the study of the effect of NPs on the antioxidant system of the cell.

It was revealed that GdYVO NPs ($d = 2$ nm) effectively scavenge hydroxyl radicals, superoxide anions, hydrogen peroxide, peroxy radicals, and remarkably reduce

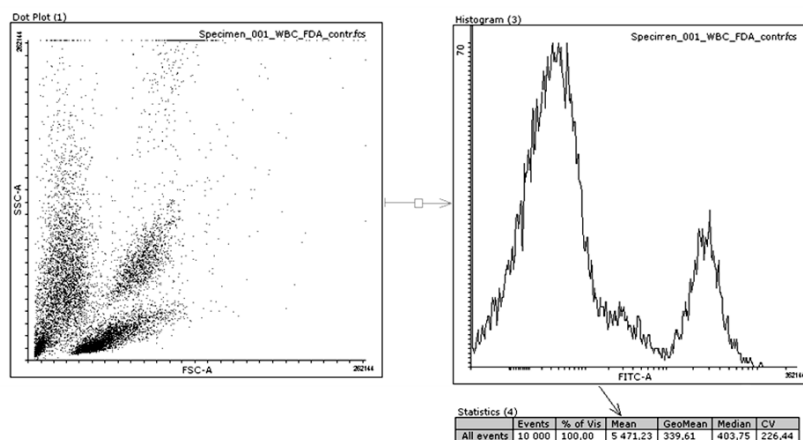


Рис. 2. Репрезативна цитограма (A) та гістограма SSC/FL1 (2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну діацетату) (B) лейкоцитів щура № 3 з групи 1. Середнє значення 5471,23
Fig. 2. Represative cytogram (A) and histogram of SSC/FL1 (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) (B) of leukocytes of a rat No. 3 from group #1. The average value is 5471.23

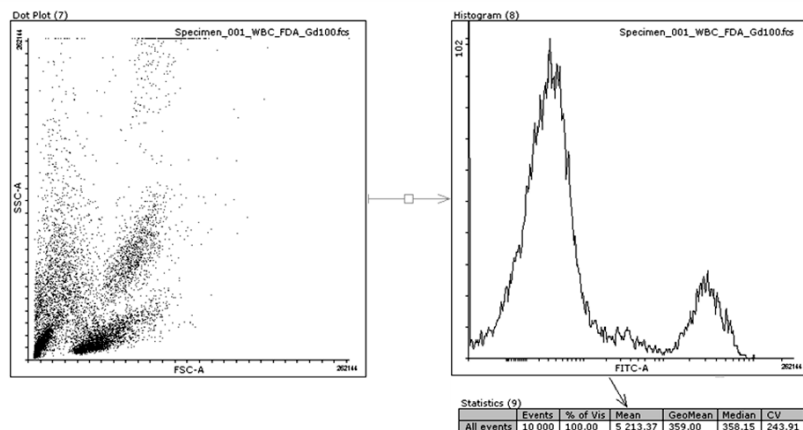


Рис. 3. Репрезативна цитограма (A) і гістограма SSC/FL1 (2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну діацетату) (B) лейкоцитів щура № 1 з групи 2. Середнє значення 5213,37
Fig. 3. Represative cytogram (A) and histogram of SSC/FL1 (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) (B) of leukocytes of a rat No. 1 from group #2. The average value is 5213.37

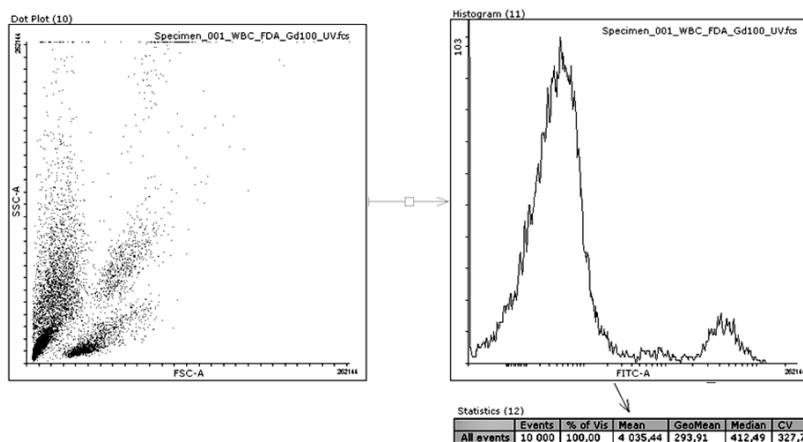


Рис. 4. Репрезативна цитограма (A) і гістограма SSC/FL1 (2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну діацетату) (B) лейкоцитів щура № 1 з групи 4. Середнє значення 4035,44
Fig. 4. Represative cytogram (A) and histogram of SSC/FL1 (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) (B) of leukocytes of a rat No. 1 from group #4. The average value is 4035.44

супероксид-аніони, перекис водню, пероксильні радикали та значно зменшують індуковане ліпополісахаридом утворення АФК у лейкоцитах щурів [27].

Стосовно груп тварин, які підлягали дії розчинів НЧ оротованадату гадоліній-ітрію в дозі 200 мкг/кг маси тіла, без попереднього УФ-опромінення (3-тя група, Gd-200) спостерігається значиме зменшення генерації АФК у лейкоцитах відносно групи контролю, ($p < 0,05$). При введенні тваринам розчину наночастинок оротованадату гадоліній-ітрію, попередньо УФ-опроміненої дози 200 мкг/кг маси тіла (5-та група, Gd(UV)-200), значення показника утворення АФК у лейкоцитах щурів збільшується практично на 15% відносно контрольної групи (табл. 1).

Пояснення спостережених ефектів буде обговорено нижче.

При порівнянні груп тварин, які зазнавали дії розчину наночастинок оротованадату гадоліній-ітрію в дозі 100 мкг/кг маси тіла (2-га група, Gd-100) і 200 мкг/кг (3-тя група, Gd-200), без попереднього опромінення на показники генерації АФК у лейкоцитах щурів, указують на значиме зменшення цього показника у тварин 3-ї групи, в порівнянні з тваринами 2-ї групи ($p < 0,05$) (табл. 1). Порівняльна характеристика показників генерації АФК у лейкоцитах щурів між 4-ю і 5-ю групами тварин, які зазнавали дії розчинів наночастинок у дозі 100 мкг/кг і 200 мкг/кг при попередньому УФ опроміненні, указують на значиме збільшення цих показників у лейкоцитах щурів 5-ї групи, відносно тварин 4-ї групи ($p < 0,05$) (табл. 1). Результати генерації АФК щурів, що отримали за допомогою проточної цитометрії, представлені на рис. 5 і 6.

Отримані дані підтверджують можливість двофазної відповіді клітин організму, що залучає регуляцію рівня АФК. Участь АФК у відповіді на вплив редоксактивних наночастинок може бути як сигнальною, що сприяє розвитку адаптаційних процесів, так і руйнівною (при збільшенні концентрації НЧ та додатковому підсиленні їх здатності генерувати АФК).

Послідовність захисту організму від АФК, які генеруються мітохондріями, можна уявити таким механізмом: АФК, що утворилися у мітохондріях, відкривають РТР (permeability transition pore) діаметром близько 3 нм, і як наслідок – спричиняють вихід у цитозоль

the lipopolysaccharide-induced ROS generation in rat leukocytes [27].

With regard to the groups of animals exposed to solutions of NPs of orovanadate gadolinium yttrium at a dose of 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight, without preceding UV irradiation (group #3, Gd-200), there was a significant decrease in the generation of ROS in leukocytes relative to the control group ($p < 0.05$). When a solution of yttrium gadoline orovanadate nanoparticles was administered to animals, with a pre-UV irradiated dose of 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight (group #5, Gd(UV)-200), the value of ROS formation in rat leukocytes increased by almost 15% compared to the control group (Table 1). And for the groups of animals exposed to solutions of orovanadate yttrium gadolinium at a dose of 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight, without preceding UV irradiation (group #3, Gd-200), there was a significant decrease in the generation of ROS in leukocytes relative to the control group, ($p < 0.05$). When a solution of orovanadate yttrium gadolinium nanoparticles was administered to animals, with a pre-UV irradiated dose of 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight (group #5, Gd(UV)-200), the value of the ROS formation index in rat leukocytes increased by almost 15% relative to the control group (Table 1).

An explanation of the observed effects will be discussed below.

When comparing groups of animals exposed to a solution of orovanadate gadolinium yttrium nanoparticles at a dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (group #2, Gd-100) and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight, without prior exposure (group #3, Gd-200), the indicators of ROS generation in rat leukocytes indicate a significant decrease in this parameters in the animals of group #3, compared to the animals of group #2 ($p < 0.05$), (Table 1). Comparative characteristics of the indicators of ROS generation in rat leukocytes between groups #4 and #5 of animals exposed to nanoparticle solutions at a dose of 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ at previous UV irradiation, indicate a significant increase in these indexes in leukocytes of group #5 rats, relative to animals of group #4 ($p < 0.05$) (Table 1). The results of ROS generation of rats obtained by flow cytometry are presented in Figures 5 and 6.

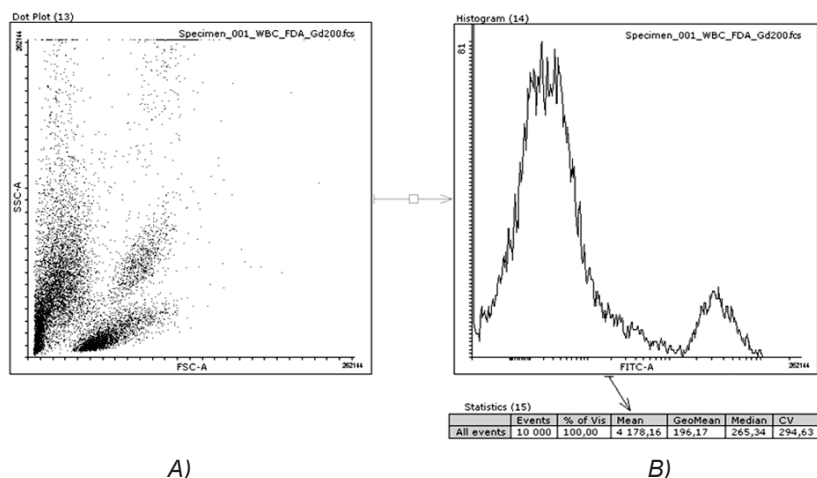


Рис. 5. Репрезативна цитограма (А) і гістограма SSC/FL1 (2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну діацетату) (В) лейкоцитів щура № 1 з групи 3. Середнє значення 4178,16
Fig. 5. Representative cytogram (A) and histogram of SSC/FL1 (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) (B) of leukocytes of a rat No. 1 from group #3. The average value is 4178.16

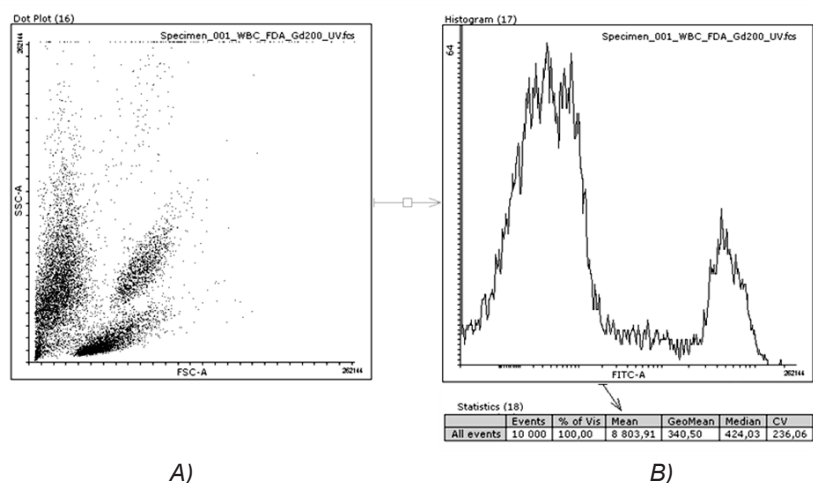


Рис. 6. Репрезативна цитограма (A) і гістограма SSC/FL1 (2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїну діацетату) (B) лейкоцитів щура № 1 з групи 5. Середнє значення 8803,91
Fig. 6. Representative cytogram (A) and histogram of SSC/FL1 (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate) (B) of leukocytes of a rat No. 1 from group #5. The average value is 8803.91

цитохрому с, що негайно включає додаткові антиоксидантні механізми, а потім мітоптоз. Якщо у мітоптоз увійшла лише невелика частина популяції мітохондрій, то концентрація цитохрому с та інших мітохондріальних проапоптозних білків в цитозолі не досягає значень, які необхідні, щоб активувати апоптоз. Якщо кількість мітохондрій, що продукують АФК, збільшується, розпочинається апоптоз клітини [28].

Завдяки існуванню певного рівня генерації АФК і певної активності антиоксидантних систем в клітині створюється певний редокс-баланс, тобто клітина набуває певного редокс-статусу. Редокс-статус клітини визначається за відношенням вмісту активних та інактивованих радикалів, їхніх похідних та окиснених і відновлених форм інших молекул, які є чутливими до дії активних форм кисню. Від цього відношення, у свою чергу, залежить регуляція різноманітних сигнальних шляхів, що пов'язано із впливом редокс-статусу клітини на активність низки ферментів, зокрема кіназ і фосфатаз, і на функції факторів транскрипції.

Якщо ж редокс-статус клітини порушений (посилена генерація АФК), цитохром с переходить в окисний стан з подальшим розвитком апоптозу. Це є одним із пояснень того, як редокс-статус клітини може регулювати активацію каспаз навіть після звільнення цитохрому с.

Провідна роль процесів апоптозу в патогенезі відповідних захворювань дає можливість застосовувати певні його етапи та відповідні проапоптозні фактори як потенційні мішені для діагностики та терапевтичних впливів при цих патологічних станах.

Взагалі, більшість терапевтичних агентів, що використовуються у клініці як антипухлинні препарати, є токсичними для пухлинних клітин або здатні пригнічувати проліферацію. Більшість антиракових агентів діють, індукуючи апоптоз у клітинах пухлини за різними шляхами, які пов'язані з ушкодженням ДНК, активацією відповіді на клітинний стрес та шляхів трансдукції апоптозного сигналу.

У залежності від типу індукції (ушкодження ДНК, генерація АФК) апоптоз у відповідь на антиракові

The obtained data confirm the possibility of a biphasic response of the body's cells, which involves the regulation of the level of ROS. The participation of ROS in the response to the effects of redoxactive nanoparticles can be both signaling, which contributes to the development of adaptive processes, and destructive (under an increase in the concentration of NPs and additional enhancement of their ability to generate ROS). The body's defense against ROS, which are generated by mitochondria, can be represented by the following mechanism: ROS formed in the mitochondria open a PTP (permeability transition pore) with a diameter of about 3 nm., and as a result, cause the release of cytochrome c into the cytosol, which immediately turns on additional antioxidant mechanisms, followed by mitoptosis. If only a small part of the mitochondrial population has entered mitoptosis, then the concentration of cytochrome c and other mitochondrial proapoptotic proteins in the cytosol does not reach the values that are necessary to activate apoptosis. If the number of ROS-producing mitochondria increases, the cell apoptosis begins [28].

Due to the existence of a certain level of ROS generation and a certain activity of antioxidant systems, a certain redox balance is created in the cell, that is, the cell acquires a certain redox status. The redox status of a cell is determined by the ratio of active and inactivated radicals, their derivatives and oxidized/reduced forms of other molecules that are sensitive to the action of reactive oxygen species. This relationship, in turn, determines the regulation of various signaling pathways, which is associated with the influence of the redox status of the cell on the activity of a number of enzymes, in particular kinases and phosphatases, and on the functions of transcription factors.

If the redox status of the cell is disturbed (increased generation of ROS), the cytochrome c enters an oxidative state with the subsequent development of apoptosis. This is one explanation for how the redox status of the cell can regulate the activation of caspases even after the release of cytochrome c.

The leading role of apoptosis processes in the pathogenesis of the relevant diseases makes it possible to use certain of its stages and relevant pro-apoptotic

заходи може задіяти рецепторний або мітохондріальний сигнальний шляхи.

Здатність $GdYVO_4:Eu^{3+}$ і $GdVO_4:Eu^{3+}$ поглинати АФК вивчалася та обговорювалася в низці досліджень як *in vitro*, так і *in vivo* [29].

Так, у літературі є дані про антирадикальні і антиокиснювальні властивості сполук ванадію. Було досліджено вплив наночастинок ортованадату гадолінію, активованого європійем (НЧ $GdVO_4:Eu^{3+}$ (8×25 нм)), на прооксидантно-антиоксидантний баланс у печінці та крові щурів. Показано, що у щурів, які отримували наночастинок, рівень гідроперексидів ліпідів у сироватці крові знижувався. Очевидно, цьому сприяло збільшення під впливом наночастинок активності глутатіонпероксидазної антиоксидантної системи та глутатіонредуктазної активності [30].

Також, в експериментальному дослідженні на лабораторних тваринах – статевозрілих кролях доведено ефективність використання наночастинок ортованадатів гадолінію зерноподібної форми, розміром 8×25 нм, у вигляді гідрозолу для корекції репродуктивної здатності на тлі оксидативного стресу. Результати дослідження показали значиме зменшення оксидативного навантаження, збільшення антиоксидантного потенціалу у сироватці крові кролів (особливо глутатіонової ланки – глутатіонпероксидаза і глутатіонредуктаза активності зросли на 56,8% і 32,6% відповідно, $p < 0,001$, а вміст відновленого глутатіону був вищим на 66,7%, $p < 0,001$) [31].

На мікроскопічному рівні здатність $GdYVO_4:Eu^{3+}$ поглинати АФК пояснюється їхньою дефектною структурою з великою кількістю кисневих вакансій, стабілізованих іонами ванадію в нижчих ступенях окиснення (V^{4+} або V^{3+}) [29]. Електрон, що зберігається на V^{4+} або V^{3+} , може брати участь у реакції поглинання АФК за допомогою ферментоподібного механізму [29].

Водночас добре відомо, що вплив УФ-світла на напівпровідникові НЧ, зокрема $GdYVO_4:Eu^{3+}$, викликає генерацію дірок (h^+) у валентній зоні та електронів (e^-) у провідній зоні НЧ. Фотоіндуковані електрони та дірки реагують з молекулами молекулярного кисню та води, адсорбованими на поверхні НЧ, утворюючи супероксид-аніони ($O_2^{\cdot-}$), гідроксильні радикали ($\cdot OH$) та інші через реакції окиснення та відновлення [32, 33]. Крім того, в НЧ, що характеризуються великою кількістю структурних дефектів, наприклад, кисневих вакансій в оксидних НЧ, такі дефекти слугують пастками для фотоіндукованих носіїв заряду (електронів і дірок) і відповідають за вироблення АФК навіть без УФ-опромінення (так називається ефектом темної генерації АФК) [34, 35]. Здатність НЧ $GdYVO_4:Eu^{3+}$ продукувати АФК як під прямим УФ/рентгеновським опроміненням, так і в темних умовах, була продемонстрована раніше [36, 37]. Ефект генерації темних АФК пояснюється захопленням деяких фотоіндукованих електронів і дірок, утворених під час попереднього опромінення УФ-світлом, на дефектах, що затримує їх перенесення на поверхню НЧ [36, 37]. З часом такі захоплені носії заряду можуть рухатися до поверхні НЧ і взаємодіяти з молекулами кисню та води, утворюючи $O_2^{\cdot-}$ та $\cdot OH$ відповідно. Крім того, було показано, що попереднє опромінення НЧ $GdYVO_4:Eu^{3+}$ УФ-світлом призводить до відновлення Eu^{3+} до Eu^{2+} . Електрони, що зберігаються

factors as potential targets for diagnosis and therapeutic effects in these pathological conditions.

In general, most of the therapeutic agents used in the clinic as anticancer drugs are toxic to tumor cells or capable of inhibiting proliferation. Most anticancer agents act by inducing apoptosis in tumor cells through various pathways that are associated with DNA damage, activation of the cellular stress response, and apoptosis signal transduction pathways.

Depending on the type of induction (DNA damage, ROS generation), an apoptosis may involve receptor or mitochondrial signaling pathways in response to anticancer measures.

ROS-scavenging ability of $GdYVO_4:Eu^{3+}$ and $GdVO_4:Eu^{3+}$ was studied and discussed in a number of research works both *in vitro* and *in vivo* [29]. Thus, the references contain data on the antiradical and anti-oxidative properties of Vanadium compounds. The effect of europium-activated orthovanadate gadolinium nanoparticles (NPs of $GdVO_4:Eu^{3+}$ (8×25 nm)) on the prooxidant-antioxidant balance in the liver and blood of rats was investigated. It was shown that in rats treated with nanoparticles, the level of lipid peroxides in the blood serum decreased. Obviously, this was facilitated by an increase in the activity of the glutathione peroxidase antioxidant system and glutathione reductase activity under the influence of nanoparticles [30].

Also, in an experimental study on laboratory animals – the sexually mature rabbits, the effectiveness of gadolinium orthovanadates nanoparticles using for the correction of reproductive ability against the background of oxidative stress was proven. The NPs in this study were the grain-like shape, 8×25 nm in size, in form of a hydrosol. The results of the study revealed a significant decrease in the oxidative load, an increase in the antioxidant potential in the blood serum of rabbits (especially of the glutathione system – glutathione peroxidase and glutathione reductase activities increased by 56.8% and 32.6%, respectively, $p < 0.001$, and the content of reduced glutathione was higher by 66.7%, $p < 0.001$) [31].

On a microscopic level, ROS-scavenging ability of $GdYVO_4:Eu^{3+}$ is explained by their defect structure with high amount oxygen vacancies stabilized by vanadium ions in lower oxidation states (V^{4+} or V^{3+}) [29]. Electron stored on V^{4+} or V^{3+} can participate in ROS scavenging reaction via enzyme-like mechanism [29].

At the same time, it is well-known that the exposure of semiconducting NPs including of $GdYVO_4:Eu^{3+}$, to UV light causes the generation of holes (h^+) in the valence band and electrons (e^-) in the conducting band of NPs. Photo-induced electrons and holes react with molecular oxygen and water molecules adsorbed at the surface of NPs leading the production of superoxide anions ($O_2^{\cdot-}$), hydroxyl radicals ($\cdot OH$) and others through oxidation and reduction reactions [32, 33]. Moreover, in NPs characterized by a high amount of structural defects, e.g., oxygen vacancies in oxide NPs, such defects serve as traps for photo-induced charge carriers (electrons and holes) and are responsible for ROS production even without UV irradiation (so-called ROS dark generation effect) [34, 35]. The ability of $GdYVO_4:Eu^{3+}$ NPs to produce ROS both under direct UV-light/X-ray irradiation and in dark conditions was demonstrated earlier [36, 37]. The effect of dark ROS generation is explained by trapping some

в Eu^{2+} , також беруть участь у реакціях переносу електронів з утворенням $\text{O}_2^{\cdot-}$ та інших АФК [38].

Базуючись на наведених вище аргументах, посилене утворення АФК лейкоцитами щурів, яких лікували НЧ $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ (200 мкг/кг) попередньо обробленими УФ-світлом, можна віднести до ефекту темної генерації АФК через реакції захоплених фотоіндукованих електронів і дірок з молекулами кисню та води відповідно.

ВИСНОВКИ

Показано, що при введенні тваринам розчину наночастинок ортованадату гадоліній-ітрію, активованого европійем попередньо УФ-опроміненої дози 200 мкг/кг маси тіла, значення показників утворення АФК у лейкоцитах щурів збільшується відносно контрольної групи практично на 15%. Очевидно, в цьому випадку у попередньо УФ-опромінених НЧ $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ спостерігається внесок «темної генерації» АФК за рахунок захоплених на пастках фотоіндукованих при попередньому УФ-опроміненні електронів і дірок, які у подальшому вивільняються та потрапляють на поверхню НЧ, взаємодіють з адсорбованими на поверхні НЧ молекулами кисню та води з генерацією АФК (супероксид аніона та гідроксил радикалів).

Отримані нами результати експериментальних досліджень вказують на доцільність подальшого вивчення впливу різних доз НЧ ортованадату гадоліній-ітрію, зокрема тих, що були попередньо активовані УФ опроміненням, та встановлення ефективних доз з метою оцінити потенціал використання НЧ для підвищення ефективності місцевого лікування онкозахворювань.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Joudeh N., Linke D. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*. 2022. Vol. 20. Article 262. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
2. Altammar K.A. A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*. 2023. Vol. 14. Article 1155622. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>
3. Guisbiers G. Selenium: a critical chemical element in nano and quantum physics. *Advances in Physics: X*. 2024. Vol. 9, № 1. DOI: <https://doi.org/10.1080/23746149.2024.2357809>
4. Sim S., Wong N.K. Nanotechnology and its use in imaging and drug delivery (Review). *Biomedical Reports*. 2021. Vol. 14, № 5. 42 p. DOI: <https://doi.org/10.3892/br.2021.1418>
5. Bai M., Wan H., Zhang Y., Chen S., Lu C., Liu X., et al. Two-dimensional nanomaterials based on rare earth elements for biomedical applications. *Chemical Science*. 2024. Vol. 15, Issue 41. P. 16887–16907. DOI: <https://doi.org/10.1039/d4sc02625j>
6. Dordrecht R.M.M. *Nanomaterials and Nanosystems for Biomedical Applications*. The Netherlands: Springer, 2007. 159 p.
7. Bünzli J.C.G. Lanthanide luminescence for biomedical analyses and imaging. *Chemical Reviews*. 2010. Vol. 110, № 5. P. 2729–2755. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr900362e>
8. Venkatesh Bharathi N., Sakthipandi K., Monisha S. Synthesis and luminescence investigation of mirror symmetric europium and dysprosium co-doped barium vanadate phosphor for optoelectronic applications. *Chemical Physics Impact*. 2024. Vol. 8. Article 100506. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2024.100506>

photo-induced electrons and holes formed during UV-light pre-treatment on defects that delay their transfer to the surface of NPs [36, 37]. In time, such trapped charge carriers can move to the NPs surface and interact with oxygen and water molecules producing $\text{O}_2^{\cdot-}$ and $\cdot\text{OH}$, respectively. In addition, it was shown that pre-treatment of $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ NPs with UV-light leads to Eu^{3+} reduction to Eu^{2+} . The electrons stored in Eu^{2+} also participate further in electron transfer reactions with the production of $\text{O}_2^{\cdot-}$ and other ROS [38].

Based on the arguments mentioned above, observed enhanced ROS generation in the rats' leukocytes, which were treated with the UV-light pre-treated $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ NPs (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) could be ascribed to the effect of the dark ROS generation via reactions of trapped photo-induced electrons and holes with oxygen and water molecules, respectively.

CONCLUSIONS

It is shown that when a solution of europium-activated orthovanadate yttrium gadolinium nanoparticles, pre-treated with UV-light at a dose of 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of body weight was administered to animals, the value of ROS generation in rat leukocytes increased by almost 15% relative to the control group. It's obvious, in this case, the contribution of ROS «dark generation» is observed in the pre-treated with UV-light NPs of $\text{GdYVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ due to electrons and holes captured on the traps photo-induced during previous UV irradiation, which are subsequently released and fall on the surface of the NPs, interact with oxygen and water molecules adsorbed on the NPs' surface with the generation of ROS (such as superoxide anions and hydroxyl radicals).

Our experimental results indicate the expediency of further studying the effect of different doses of orthovanadate yttrium gadolinium, in particular those that were pre-activated by UV irradiation, and establishing effective doses in order to evaluate the potential of using NPs to improve the effectiveness of local cancer treatment.

REFERENCES

1. Joudeh N, Linke D. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*. 2022;20:262. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
2. Altammar KA. A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*. 2023;14:1155622. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>
3. Guisbiers G. Selenium: a critical chemical element in nano and quantum physics. *Advances in Physics: X*. 2024;9(1). DOI: <https://doi.org/10.1080/23746149.2024.2357809>
4. Sim S, Wong NK. Nanotechnology and its use in imaging and drug delivery (Review). *Biomedical Reports*. 2021;14(5):42. DOI: <https://doi.org/10.3892/br.2021.1418>
5. Bai M, Wan H, Zhang Y, Chen S, Lu C, Liu X, et al. Two-dimensional nanomaterials based on rare earth elements for biomedical applications. *Chemical Science*. 2024;15(41):16887–907. DOI: <https://doi.org/10.1039/d4sc02625j>
6. Dordrecht RM. *Nanomaterials and Nanosystems for Biomedical Applications*. The Netherlands: Springer; 2007. 159 p.
7. Bünzli JCG. Lanthanide luminescence for biomedical analyses and imaging. *Chemical Reviews*. 2010;110(5):2729–55. DOI: <https://doi.org/10.1021/cr900362e>
8. Venkatesh Bharathi N, Sakthipandi K, Monisha S. Synthesis and luminescence investigation of mirror symmetric europium and dysprosium co-doped barium vanadate phosphor for optoelectronic applications. *Chemical Physics Impact*. 2024;8:100506. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2024.100506>

9. Bao G. Lanthanide complexes for drug delivery and therapeutics. *Journal of Luminescence*. 2020. Vol. 228. Article 117622. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2020.117622>
10. Featherston E.R., Cotruvo J.A. The biochemistry of lanthanide acquisition, trafficking, and utilization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2021. Vol. 1868, Issue 1. Article 118864. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118864>
11. Cotruvo J.A.Jr., Featherston E.R., Mattocks J.A., Ho J.V., Laremore T.N. Lanmodulin: A Highly Selective Lanthanide-Binding Protein from a Lanthanide-Utilizing Bacterium. *Journal of the American Chemical Society*. 2018. Vol. 140, № 44. P. 15056–15061. DOI: <https://doi.org/10.1021/jacs.8b09842>
12. Liang T., Li K., Wang L. State of rare earth elements in different environmental components in mining areas of China. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2014. Vol. 186. P. 1499–1513. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3469-8>
13. Oberdörster G., Maynard A., Donaldson K., Castranova V., Fitzpatrick J., Ausman K., et al. ILSI Research Foundation/Risk Science Institute Nanomaterial Toxicity Screening Working Group. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicology*. 2005. Vol. 2. P. 8–43. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-8977-2-8>
14. Kreyling W.G., Semmler-Behnke M., Möller W. Ultrafine particle-lung interactions: Does size matter? *Journal of Aerosol Medicine*. 2006. Vol. 19. P. 74–83. DOI: <https://doi.org/10.1089/jam.2006.19.74>
15. Srikanth M., Kessler J. Nanotechnology-novel therapeutics for CNS disorders. *Nature Reviews Neurology*. 2012. Vol. 8. P. 307–318. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.76>
16. Lan Z., Yang W.X. Nanoparticles and spermatogenesis: how do nanoparticles affect spermatogenesis and penetrate the blood-testis barrier. *Nanomedicine*. 2012. Vol. 7. P. 579–596. DOI: <https://doi.org/10.2217/nmm.12.20>
17. Xu S., Zhang Z., Chu M. Long-term toxicity of reduced graphene oxide nanosheets: Effects on female mouse reproductive ability and offspring development. *Biomaterials*. 2015. Vol. 54. P. 188–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.03.015>
18. Prokopyuk V., Onishchenko A., Yefimova S., Chumachenko T., Kavok N., Maksimchuk P., Klochkov V., Tkachenko A. Cytotoxicity tests on cultured rat skin fibroblasts revealed no toxicity for low concentrations of GdYVO4:Eu3+ nanoparticles. *IEEE 11th International Conference Nanomaterials: Applications & Properties (NAP)*. 2021. P. 1–4. DOI: <https://doi.org/10.1109/NAP51885.2021.9568547>
19. Yefimova S., Onishchenko A., Klochkov V., Myasoedov V., Kot Y., Tryfonyuk L., et al. Tkachenko A. Rare-earth orthovanadate nanoparticles trigger Ca2+-dependent eryptosis. *Nanotechnology*. 2023. Vol. 34, № 20. DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6528/acbb7f>
20. Tkachenko A., Onishchenko A., Myasoedov V., Yefimova S., Havranek O. Assessing regulated cell death modalities as an efficient tool for in vitro nanotoxicity screening: a review. *Nanotoxicology*. 2023. Vol. 17, № 3. P. 218–248. DOI: <https://doi.org/10.1080/17435390.2023.2203239>
21. Hussain S., Al-Nsour F., Rice A.B., Marshburn J., Yingling B., Ji Z., Zink J.I., et al. Gerium dioxide nanoparticles induce apoptosis and autophagy in human peripheral blood monocytes. *ACS Nano*. 2012;6:5820–9. DOI: <https://doi.org/10.1021/nn302235u>
22. Li B., Ze Y., Sun Q., Zhang T., Sang X., Cui Y., et al. Molecular mechanisms of nanosized titanium dioxide-induced pulmonary injury in mice. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8. Article e55563. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055563>
23. Ma D.D., Yang W.X. Engineered nanoparticles induce cell apoptosis: potential for cancer therapy. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7, № 26. P. 40882–40903. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8553>
24. Onishchenko A., Myasoedov V., Yefimova S., Nakonechna O., Prokopyuk V., Butov D., et al. UV light-activated GdYVO4:Eu3+ nanoparticles induce reactive oxygen species generation in leukocytes without affecting erythrocytes in vitro. *Biological Trace Element Research*. 2021. Vol. 200, № 6. P. 2777–2792. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02867-z>
25. Klochkov V.K., Kavok N.S., Malyukin Yu.V., Masalov A.A., Vyagin O.G. Colloidal synthesis and properties of lanthanide orthophosphate nanophosphors. *Functional Materials*. 2009. Vol. 16, № 4. P. 466–469.
26. Zhulikova M.V., Myroshnychenko M.S., Nakonechna O.A., Zhulikova O.O., Pustova N.O., Bibichenko V.O., et al. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. *Wiadomości Lekarskie (Medical Advances)*. 2023. Vol. 76, Issue 7. P. 1670–1676. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek202307123>
27. Maksimchuk P.O., Hubenko K.O., Seminko V.V., Karbivskii V.L., Tkachenko A.S., Onishchenko A.I., Prokopyuk V.Y., Yefimova S.L. High antioxidant activity of gadolinium–yttrium orthovanadate nanoparticles in cell-free and biological milieu. *Nanotechnology*. 2021. Vol. 33, № 5. Article 055701. DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ac31e5>
9. Bao G. Lanthanide complexes for drug delivery and therapeutics. *Journal of Luminescence*. 2020;228:117622. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2020.117622>
10. Featherston ER, Cotruvo JA. The biochemistry of lanthanide acquisition, trafficking, and utilization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*. 2021;1868(1):118864. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118864>
11. Cotruvo JAJr, Featherston ER, Mattocks JA, Ho JV, Laremore TN. Lanmodulin: A highly selective lanthanide-binding protein from a lanthanide-utilizing bacterium. *Journal of the American Chemical Society*. 2018;140(44):15056–61. DOI: <https://doi.org/10.1021/jacs.8b09842>
12. Liang T, Li K, Wang L. State of rare earth elements in different environmental components in mining areas of China. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2014;186:1499–513. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3469-8>
13. Oberdörster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, et al. ILSI Research Foundation/Risk Science Institute Nanomaterial Toxicity Screening Working Group. Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part Fibre Toxicology*. 2005;2:8–43. DOI: <https://doi.org/10.1186/1743-8977-2-8>
14. Kreyling WG, Semmler-Behnke M, Möller W. Ultrafine particle-lung interactions: Does size matter? *Journal of Aerosol Medicine*. 2006;19:74–83. DOI: <https://doi.org/10.1089/jam.2006.19.74>
15. Srikanth M, Kessler J. Nanotechnology-novel therapeutics for CNS disorders. *Nature Reviews Neurology*. 2012;8:307–18. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.76>
16. Lan Z, Yang WX. Nanoparticles and spermatogenesis: how do nanoparticles affect spermatogenesis and penetrate the blood-testis barrier. *Nanomedicine*. 2012;7:579–96. DOI: <https://doi.org/10.2217/nmm.12.20>
17. Xu S, Zhang Z, Chu M. Long-term toxicity of reduced graphene oxide nanosheets: Effects on female mouse reproductive ability and offspring development. *Biomaterials*. 2015;54:188–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.03.015>
18. Prokopyuk V, Onishchenko A, Yefimova S, Chumachenko T, Kavok N, Maksimchuk P, Klochkov V, Tkachenko A. Cytotoxicity tests on cultured rat skin fibroblasts revealed no toxicity for low concentrations of GdYVO4:Eu3+ nanoparticles. *IEEE 11th International Conference Nanomaterials: Applications & Properties (NAP)*. 2021:1–4. DOI: <https://doi.org/10.1109/NAP51885.2021.9568547>
19. Yefimova S, Onishchenko A, Klochkov V, Myasoedov V, Kot Y, Tryfonyuk L, et al. Tkachenko A. Rare-earth orthovanadate nanoparticles trigger Ca2+-dependent eryptosis. *Nanotechnology*. 2023;34(20). DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6528/acbb7f>
20. Tkachenko A, Onishchenko A, Myasoedov V, Yefimova S, Havranek O. Assessing regulated cell death modalities as an efficient tool for in vitro nanotoxicity screening: a review. *Nanotoxicology*. 2023;17(3):218–48. DOI: <https://doi.org/10.1080/17435390.2023.2203239>
21. Hussain S, Al-Nsour F, Rice AB, Marshburn J, Yingling B, Ji Z, Zink JI, et al. Gerium dioxide nanoparticles induce apoptosis and autophagy in human peripheral blood monocytes. *ACS Nano*. 2012;6:5820–9. DOI: <https://doi.org/10.1021/nn302235u>
22. Li B, Ze Y, Sun Q, Zhang T, Sang X, Cui Y, et al. Molecular mechanisms of nanosized titanium dioxide-induced pulmonary injury in mice. *PLoS ONE*. 2013;8:e55563. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055563>
23. Ma DD, Yang WX. Engineered nanoparticles induce cell apoptosis: potential for cancer therapy. *Oncotarget*. 2016;7(26):40882–903. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8553>
24. Onishchenko A, Myasoedov V, Yefimova S, Nakonechna O, Prokopyuk V, Butov D, et al. UV light-activated GdYVO4:Eu3+ nanoparticles induce reactive oxygen species generation in leukocytes without affecting erythrocytes in vitro. *Biological Trace Element Research*. 2021;200(6):2777–92. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02867-z>
25. Klochkov VK, Kavok NS, Malyukin YV, Masalov AA, Vyagin OG. Colloidal synthesis and properties of lanthanide orthophosphate nanophosphors. *Functional Materials*. 2009;16(4):466–9.
26. Zhulikova MV, Myroshnychenko MS, Nakonechna OA, Zhulikova OO, Pustova NO, Bibichenko VO, et al. Reactive oxygen species generation by blood leucocytes of rats with polycystic ovary syndrome under the conditions of intermittent cold exposure. *Wiadomości Lekarskie (Medical Advances)*. 2023;76(7):1670–6. DOI: <https://doi.org/10.36740/WLek202307123>
27. Maksimchuk PO, Hubenko KO, Seminko VV, Karbivskii VL, Tkachenko AS, Onishchenko AI, Prokopyuk VY, Yefimova SL. High antioxidant activity of gadolinium–yttrium orthovanadate nanoparticles in cell-free and biological milieu. *Nanotechnology*. 2021;33(5):055701. DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ac31e5>

28. Hancock J.T., Desikan R., Neill S.J. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochemical Society Transactions*. 2001. Vol. 29, Part 2. P. 345–350.
29. Maksimchuk P.O., Hubenko K.O., Seminko V.V., Karbivskii V.L., Tkachenko A.S., Onishchenko A.I., Yefimova S.L. High antioxidant activity of gadolinium–yttrium orthovanadate nanoparticles in cell-free and biological milieu. *Nanotechnology*. 2022. Vol. 33. Article 055701. DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ac31e5>
30. Никитченко Ю.В., Клочков В.К., Кавок Н.С., Капенко Н.А., Седых О.О., Божков А.И., Малкин Ю.В., Семиноженко В.П. Наночастиці ортованадата гадолінія збільшують виживаемість старих христя. *Доповіді Національної академії наук України*. 2020. № 2. С. 29–36.
31. Кошевой В.И., 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.
32. Retif P., Pinel S., Toussaint M., Frochot C., Chouikrat R., Bastogne T., Barberi-Heyob M. Nanoparticles for radiation therapy enhancement: the key parameters. *Theranostics*. 2015. Vol. 5, № 9. P. 1030–1044. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.11642>
33. Lang F., Lang E., Föller M. Physiology and pathophysiology of eryptosis. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2012. Vol. 39, № 5. P. 308–314. DOI: <https://doi.org/10.1159/000342534>
34. Li Y., Zhang W., Niu J., Chen Y. Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxide nanoparticles. *ACS Nano*. 2012. Vol. 6, № 6. P. 5164–5173. DOI: <https://doi.org/10.1021/nn300934k>
35. Xu X., Chen D., Yi Z., Jiang M., Wang L., Zhou Z., et al. Antimicrobial mechanism based on H₂O₂ generation at oxygen vacancies in ZnO crystals. *Langmuir*. 2013. Vol. 29, № 18. P. 5573–5580. DOI: <https://doi.org/10.1021/la400378t>
36. Sancey L., Lux F., Kotb S., Roux S., Dufort S., Bianchi A., Crémillieux Y., et al. The use of theranostic gadolinium-based nanoprobes to improve radiotherapy efficacy. *British Journal of Radiology*. 2014. Vol. 87, № 1041. Article 20140134. DOI: <https://doi.org/10.1259/bjr.20140134>
37. Maksimchuk P.O., Yefimova S.L., Hubenko K.O., Omielaieva V.V., Kavok N.S., Klochkov V.K., Sorokin O.V., Malyukin Y.V. Dark reactive oxygen species generation in ReVO₄:Eu³⁺ (Re = Gd, Y) nanoparticles in aqueous solutions. *Journal of Physical Chemistry C*. 2020. Vol. 124, № 6. P. 3843–3850. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b10143>
38. Maksimchuk P.O., Hubenko K.O., Grygorova G.V., Klochkov V.K., Sorokin A.V., Yefimova S.L. Impact of Eu³⁺ ions on pro-oxidant activity of ReVO₄:Eu³⁺ nanocrystals. *Journal of Physical Chemistry C*. 2021. Vol. 125, № 2. P. 1564–1569. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c10028>
28. Hancock JT, Desikan R, Neill SJ. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochemical Society Transactions*. 2001;29(2):345–50.
29. Maksimchuk PO, Hubenko KO, Seminko VV, Karbivskii VL, Tkachenko AS, Onishchenko AI, Yefimova SL. High antioxidant activity of gadolinium–yttrium orthovanadate nanoparticles in cell-free and biological milieu. *Nanotechnology*. 2022;33:055701. DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6528/ac31e5>
30. Nikitchenko YV, Klochkov VK, Kavok NS, Kapenko NA, Sedykh OO, Bozhkov AI, Malkin YV, Seminozhenko VP. Gadolinium orthovanadate nanoparticles increase the survival rate of old rats. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*. 2020;2:29–36. (In Ukrainian).
31. Koshevoy VI, Naumenko SV. Dynamics of antioxidant defense in boar organisms after the correction of their reproductive capacity with rare earth element vanadate nanoparticles. *Veterinary Medicine: Modern Challenges and Key Issues in Science, Education and Food Security: All-Ukrainian Scientific and Practical Online Conference (Zhytomyr, June 9–10, 2022)*. Zhytomyr; 2022:137–140. (In Ukrainian).
32. Retif P, Pinel S, Toussaint M, Frochot C, Chouikrat R, Bastogne T, Barberi-Heyob M. Nanoparticles for radiation therapy enhancement: the key parameters. *Theranostics*. 2015;5(9):1030–44. DOI: <https://doi.org/10.7150/thno.11642>
33. Lang F, Lang E, Föller M. Physiology and pathophysiology of eryptosis. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. 2012;39(5):308–14. DOI: <https://doi.org/10.1159/000342534>
34. Li Y, Zhang W, Niu J, Chen Y. Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxide nanoparticles. *ACS Nano*. 2012;6(6):5164–73. DOI: <https://doi.org/10.1021/nn300934k>
35. Xu X, Chen D, Yi Z, Jiang M, Wang L, Zhou Z, et al. Antimicrobial mechanism based on H₂O₂ generation at oxygen vacancies in ZnO crystals. *Langmuir*. 2013;29(18):5573–80. DOI: <https://doi.org/10.1021/la400378t>
36. Sancey L, Lux F, Kotb S, Roux S, Dufort S, Bianchi A, Crémillieux Y, et al. The use of theranostic gadolinium-based nanoprobes to improve radiotherapy efficacy. *British Journal of Radiology*. 2014;87(1041):20140134. DOI: <https://doi.org/10.1259/bjr.20140134>
37. Maksimchuk PO, Yefimova SL, Hubenko KO, Omielaieva VV, Kavok NS, Klochkov VK, Sorokin OV, Malyukin YV. Dark reactive oxygen species generation in ReVO₄:Eu³⁺ (Re = Gd, Y) nanoparticles in aqueous solutions. *Journal of Physical Chemistry C*. 2020;124(6):3843–50. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.9b10143>
38. Maksimchuk PO, Hubenko KO, Grygorova GV, Klochkov VK, Sorokin AV, Yefimova SL. Impact of Eu³⁺ ions on pro-oxidant activity of ReVO₄:Eu³⁺ nanocrystals. *Journal of Physical Chemistry C*. 2021;125(2):1564–9. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c10028>

Перспективи подальших досліджень

Перспективним для подальших наукових досліджень є визначення видів програмованої клітинної загибелі лейкоцитів, зокрема апоптозу та некрозу.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чії продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Інформація про фінансування

Фінансування видатками Державного бюджету України. Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України «Дослідження ефективності, механізмів дії та безпеки використання наночастинок ортованадатів рідкісноземельних елементів для оптимізації променевої терапії

Prospects for further research

Prospects for further scientific research include the identification of types of programmed cellular death of leukocytes, preventing apoptosis and necrosis.

Conflict of interest

The authors of the manuscript consciously declare that there is no actual or potential conflict of interest regarding the results of this work with pharmaceutical companies, biomedical device manufacturers, other organizations whose products, services, financial support may be related to the subject of the materials provided, or who sponsored the research conducted.

Funding information

Financing by expenditures of the State Budget of Ukraine. The article is a fragment of the planned scientific research work of Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine «Study of the effectiveness, mechanisms of action and safety of the use of nanoparticles of rare earth orthovanadates for the optimization of radiation therapy in oncopathology», state

за умов онкопатології», номер державної реєстрації: 0121U110920, шифр теми: КПКВК 2301020, прикладна, термін виконання: 2021–2023 рр., керівник – завідувачка кафедри біологічної хімії, доктор медичних наук, професор О.А. Наконечна.

registration number: 0121U110920, topic code: KPKVK 2301020, applied, implementation period: 2021–2023, head – head of the Department of Biological Chemistry, Doctor of Medical Sciences, Professor O.A. Nakonechna.

Подяка

Висловлюємо подяку виконуючому обов'язки директора Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України, кандидату медичних наук Прокопюку Володимиру Юрійовичу за допомогу в визначенні генерації активних форм кисню в лейкоцитах периферичної крові щурів.

Acknowledgments

We express our gratitude to the Acting Director of the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Candidate of Medical Sciences, Volodymyr Yuriyovych Prokopyuk for his assistance in determining the generation of reactive oxygen species in peripheral blood leukocytes of rats.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Наконечна Оксана Анатоліївна – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: oksana.nakonechna69@gmail.com
моб.: +38 (050) 632-63-87

Внесок автора: коригування виконаної роботи, аналіз отриманих результатів.

Nakonechna Oksana Anatoliyivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biological Chemistry of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: oksana.nakonechna69@gmail.com
tel.: +38 (050) 632-63-87

Author's contribution: correction of the work performed, analysis of the results obtained.

Бачинський Руслан Орестович – кандидат біологічних наук, доцент кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: ruslanbach1974@gmail.com

моб.: +38 (050) 902-63-81

Внесок автора: збір та узагальнення даних, написання рукопису.

Bachynskiy Ruslan Orestovych – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: ruslanbach1974@gmail.com

tel.: +38 (050) 902-63-81

Author's contribution: data collection and synthesis, manuscript writing.

М'ясоєдов Валерій Васильович – доктор медичних наук, професор, ректор Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: vmyasoedov21@gmail.com

моб.: +38 (050) 301-98-29

Внесок автора: остаточне затвердження рукопису, адміністративна підтримка.

Miasoiedov Valerii Vasyliovych – Doctor of Medical Sciences, Professor, Rector of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: vmyasoedov21@gmail.com

tel.: +38 (050) 301-98-29

Author's contribution: final approval of the manuscript, administrative support.

Векшин Віталій Олександрович – кандидат технічних наук, провідний науковий співробітник кафедри інфекційних хвороб та фтизіатрії Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: myposta2014@gmail.com

моб.: +38 (050) 902-74-52

Внесок автора: проведення літературного пошуку, концепція та дизайн дослідження.

Vekshyn Vitalii Oleksandrovych – Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher of the Department of Infectious Diseases and Phthiology of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: myposta2014@gmail.com

tel.: +38 (050) 902-74-52

Author's contribution: literature search, research concept and design.

Бондаренко Марина Анатоліївна – кандидат фізико-математичних наук, доцент кафедри медичної та біологічної фізики і медичної інформатики Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: bondaren.koma3007@gmail.com

моб.: +38 (050) 333-67-61

Внесок автора: статистична обробка даних.

Bondarenko Maryna Anatoliyivna – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Associate Professor of the Department of Medical and Biological Physics and Medical Informatics of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: bondaren.koma3007@gmail.com

tel.: +38 (050) 333-67-61

Author's contribution: statistical data processing.

Вишницька Ірина Анатоліївна – кандидат медичних наук, професор кафедри біохімії та медичної генетики, Медична школа Святого Джеймса, вул. Альберт Лейк, район Квотер, Ангілья, А-1 2640;

e-mail: ivyshnitska@mail.sjism.org
моб.: +38 (050) 916-34-05

Внесок автора: написання та редагування рукопису.

Клочков Володимир Кирилович – кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник відділу нанокристалічних матеріалів Інституту сцинтиляційних матеріалів Національної академії наук України; просп. Науки, буд. 60, м. Харків, Україна, 61072;

e-mail: 12fulkv@gmail.com
моб.: +38 (095) 559-05-77

Внесок автора: статистична обробка даних.

Vyshnitska Iryna Anatoliyivna – Candidate of Medical Sciences, Professor Department of Biochemistry and Medical Genetics Saint James School of Medicine, Albert Lake Drive, The Quarter, Anguilla, A-1 2640;

e-mail: ivyshnitska@mail.sjism.org
tel.: +38 (050) 916-34-05

Author's contribution: writing and editing a manuscript.

Klochkov Volodymyr Kyrylovych – Candidate of Chemical Sciences, Senior Researcher of the Department of Nanocrystalline Materials of the Institute of Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine; 60 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61072;

e-mail: 12fulkv@gmail.com
tel.: +38 (095) 559-05-77

Author's contribution: statistical data processing.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
05.03.2025

Отримано після рецензування
Received after review
13.04.2025

Прийнято до друку
Accepted for printing
16.04.2025

Опубліковано
Published
30.04.2025