

Новиков М.А., Титов Е.А., Якимова Н.Л., Вокина В.А., Панкова А.А., Скрынник А.С., Лизарев А.В., Соседова Л.М.

Оценка нейротоксичности нанокомпозита гадолиния

ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», 665826, Ангарск, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Перспективным направлением нанотоксикологии является изучение воздействия на живой организм наночастиц гадолиния, которые позволяют достичь высокой контрастности изображений при выполнении МРТ со значительно меньшим количеством вводимого вещества. Это возможно с использованием высокомолекулярных соединений, например, арабиногалактана лиственницы сибирской, обладающего стабилизирующим для наночастиц эффектом.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования выполнены на 96 беспородных белых крысах-самцах массой тела 180–240 г, которые были поделены на три группы (одну контрольную и две экспериментальные). В качестве экспонируемой субстанции использовался раствор на водной основе, в состав которого входили наночастицы гадолиния, а также наностабилизирующая матрица – природный полисахарид арабиногалактан. Раствор вводился перорально на протяжении 10 дней в двух дозах 500 и 5000 мкг гадолиния на 1 кг массы тела животного. После введения часть животных была выведена из эксперимента (ранний период исследования), оставшаяся часть животных была оставлена на дождистое в течение шести месяцев и составила отдаленный период исследования, а впоследствии также была выведена из эксперимента. В работе применялся комплекс исследований, направленный на определение нейротоксичности, – тест «открытое поле», ЭЭГ-исследование, морфологические и морфометрические методы.

Результаты. Структурно-функциональные особенности воздействия нанокомпозита гадолиния на центральную нервную систему выражались в увеличении числа дегенеративно измененных нейронов при введении раствора в дозе 500 мкг гадолиния на 1 кг массы тела животного в раннем периоде исследования, при этом показатели, отражающие ориентировочно-исследовательскую активность, поведение и показатели ЭЭГ, по сравнению с контролем не изменились.

Ограничения исследования. Воздействие наночастиц гадолиния, инкапсулированного в полисахарид арабиногалактан, изучали на 96 беспородных крысах-самцах, что является достаточным для использования набора методов, определяющих функциональное состояние центральной нервной системы и структурные изменения нервной ткани.

Заключение. Подострое воздействие наночастиц гадолиния, инкапсулированных в матрицу арабиногалактана, вызывает структурные изменения нервной ткани, при этом функциональных изменений в работе центральной нервной системы не наблюдалось.

Ключевые слова: наночастицы; гадолиний; головной мозг; нейротоксичность; поведение; ЭЭГ; морфология; гистология

Соблюдение этических стандартов. Работа выполнена в соответствии с протоколом экспериментальных исследований, принципами, изложенными в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ETS № 123, ГОСТ 33215–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1, Part 2. На проведение исследований получено разрешение Локального этического комитета (протокол № 8 от 15.12.2023 г.).

Для цитирования: Новиков М.А., Титов Е.А., Якимова Н.Л., Вокина В.А., Панкова А.А., Скрынник А.С., Лизарев А.В., Соседова Л.М. Оценка нейротоксичности нанокомпозита гадолиния. Гигиена и санитария. 2024; 103(11): 1423–1428. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-11-1423-1428> <https://elibrary.ru/ozbxxtk>

Для корреспонденции: Новиков Михаил Александрович, e-mail: novik-imt@mail.ru

Участие авторов: Новиков М.А., Соседова Л.М. – концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование; Титов Е.А., Вокина В.А. – концепция и дизайн исследования, редактирование; Якимова Н.Л., Панкова А.А., Скрынник А.С., Лизарев А.В. – сбор материала и обработка данных. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания ФГБНУ ВСИМЭИ

Поступила: 08.07.2024 / Поступила после доработки: 15.10.2024 / Принята к печати: 19.11.2024 / Опубликована: 17.12.2024

Mikhail A. Novikov, Evgeny A. Titov, Natalia L. Yakimova, Vera A. Vokina, Anna A. Pankova, Anna S. Skrynnik, Aleksander V. Lizarev, Larisa M. Sosedova

Assessment of neurotoxicity of gadolinium nanocomposite

East Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. A promising area of nanotoxicology is the study of the effects of gadolinium nanoparticles on a living organism, which will allow achieving high image contrast when performing MRI with a significantly smaller amount of the injected substance. This is possible using high-molecular compounds, for example, arabinogalactan of Siberian larch, which has a stabilizing effect for nanoparticles.

Materials and methods. Experimental studies were performed on ninety six mongrel white male rats weighing 180–240 g, divided into 3 groups (one control and two experimental). A water-based solution was used as the exposed substance, which included gadolinium nanoparticles, as well as a nanostabilizing matrix – the natural polysaccharide arabinogalactan. The solution was administered orally for 10 days in two doses – 500 and 5000 mcg of gadolinium per 1 kg of animal body weight. After the introduction, some of the animals were withdrawn from the experiment and made up the early examination period, the remaining part of the animals were left to survive for 6 months and made up the long-term examination period, and subsequently were also withdrawn from the experiment. The work used a set of studies aimed at determining neurotoxicity – the “Open Field” test, EEG examination, morphological and morphometric methods.

Results. The structural and functional features of the effect of gadolinium nanocomposite on the central nervous system were expressed in an increase in the number of degeneratively altered neurons when administered a solution at a dose of 500 mcg of gadolinium per 1 kg of animal body weight in the early period of examination, while indices reflecting approximate research activity, behaviour and EEG indices, compared with the control, did not change.

Limitations. When studying the effects of gadolinium nanoparticles encapsulated in the polysaccharide arabinogalactan on 96 outbred male rats, which is sufficient to use a set of methods to determine the functional state of the central nervous system and structural changes in nervous tissue.

Conclusion. Thus, the subacute effect of gadolinium nanoparticles encapsulated in the arabinogalactan matrix causes structural changes in the nervous tissue, while functional changes in the central nervous system were not observed.

Keywords: nanoparticles; gadolinium; brain; neurotoxicity; behavior; EEG; morphology; histology

Compliance with ethical standards. The work was carried out in accordance with the protocol of experimental studies, the principles set out in the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes ETS No. 123, GOST 33215–2014 “Guide to the care and maintenance of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures», Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1, Part 2. Permission to conduct the research was obtained from the Local Ethics Committee (protocol No. 8 dated 15.12.2023).

For citation: Novikov M.A., Titov E.A., Yakimova N.L., Vokina V.A., Pankova A.A., Skrynnik A.S., Lizarev A.V., Sosedova L.M. Evaluation of neurotoxicity of gadolinium nanocomposite. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal.* 2024; 103(11): 1423–1428. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-11-1423-1428> <https://elibrary.ru/ozbxtk> (In Russ.)

For correspondence: Mikhail A. Novikov, e-mail: novik-imt@mail.ru

Contribution: Novikov M.A., Sosedova L.M. — study concept and design, writing text, editing; Titov E.A., Vokina V.A. — study concept and design, editing; Yakimova N.L., Pankova A.A., Skrynnik A.S., Lizarev A.V. — data collection and data processing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement. The study was carried out within the framework of the state assignment of the East Siberian Institute of Medical and Ecological Research.

Received: July 8, 2024 / Revised: October 15, 2024 / Accepted: November 19, 2024 / Published: December 17, 2024

Введение

В медико-диагностической практике последних лет возникли проблемы, связанные с профилем биологической безопасности контрастных веществ на основе гадолиния в макроскопической форме, ставящие под сомнение их широкое использование. Это риск нефрогенного системного фиброза, а также случаи острой почечной недостаточности, энцефалопатии, панкреатита [1, 2]. Кроме того, были выявлены отложение и кумуляция гадолиния в мозге и других органах, независимо от патологических состояний [3]. Эти наблюдения диктуют необходимость изменения практики использования коммерческих препаратов гадолиния для МРТ-диагностики, и особый интерес приобретает использование гадолиния в наноразмерной фракции, что может позволить достичь более высокой диагностической чувствительности при проведении МРТ [4], повысить контрастность изображений при использовании значительно меньшего количества вводимого вещества. Токсичность наночастиц гадолиния возможно уменьшить путём использования высокомолекулярных соединений, например, арабиногалактана (АГ) лиственницы сибирской [5]. Указанный полимер является биологически активным веществом с гастропротекторными, иммуномодулирующими, мембранотропными и антиоксидантными свойствами, превосходит по своим характеристикам даже искусственно созданные полимеры [6]. Использование наночастиц Gd, инкапсулированных в матрицу арабиногалактана, позволяет увеличить биодоступность наночастиц, снижает возможную токсичность препаратов [7]. Тем не менее необходимо всестороннее изучение их безопасности, в связи с тем эксперименты по оценке токсичности гадолиния в на-ноформе как альтернатива гадолинию в макроформе приобрели особую актуальность.

Цель работы – определение возможной нейротоксичности нанокомпозита гадолиния, инкапсулированного в природную полимерную матрицу арабиногалактана, в раннем и отдалённом периодах исследования.

Задачи исследования. 1. Определение структурных изменений ткани нервной системы и нейронов сенсомоторной коры при введении исследуемых доз нанокомпозита. 2. Определение функциональных изменений центральной нервной системы на основании изменений поведения животных и основных параметров биоэлектрической активности головного мозга под влиянием исследуемых доз нанокомпозита.

Материалы и методы

Краткое описание синтеза и физико-химическая характеристика наностабилизирующей матрицы и наночастиц.

Важнейшими этапами получения гадолиний-содержащего нанокомпозита были: синтез высокодисперсного хлорида гадолиния методом конденсации посредством сдвига рН

растворов солей-прекурсоров в щелочную область; долговременная стабилизация получаемых частиц гадолиния на наноразмерном уровне; использование арабиногалактана как протективного агента для наноразмерного контроля формирующихся наночастиц гадолиния; гидрофилизация наночастиц и водорастворимость нанокомпозитов, обеспечивающее исключительно путём проведения реакции в среде водного раствора полисахарида арабиногалактана за счёт его уникальных природных свойств [6]. Арабиногалактан синтезировался из водного экстракта древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica*) [7]. Содержание гадолиния в полученных образцах, определённое элементным анализом и рентгеновским энергодисперсионным микроанализом, варьирует в пределах 8,5–11,5%, размеры металлокомплексных наночастиц составляют 1–72 нм [8]. На рис. 1 (см. вклейке) представлены результаты рентгеновского энергодисперсионного анализа образца наночастиц гадолиния. Наличие хлора в результатах объясняется тем, что в качестве исходного соединения гадолиния использовался его хлорид. В ходе синтеза гадолиний превратился в наночастицы Gd(0), а ионы хлора трансформировались в HCl, который полностью вымыт из образца невозможен из-за особенностей арабиногалактана.

Выбор экспериментальных животных и доз введения. Экспериментальные исследования биологических эффектов нанокомпозита гадолиния (Gd-АГ) проведены на 96 беспородных белых крысах-самцах массой 180–240 г. Сформировано три группы животных по 32 особи в каждой. Раствор Gd-АГ вводили внутрижелудочно в течение 10 дней в дозе 500 мкг/кг по гадолинию (опытная группа GdАГ500) и в дозе 5000 мкг/кг по гадолинию (опытная группа GdАГ5000). Указанная минимальная доза была выбрана нами на основе литературных данных и собственных экспериментальных исследований с нанокомпозитами металлов (Ag, Bi, Se и др.), инкапсулированных в матрицу арабиногалактана, как действующая, свидетельствующая о возможности возникновения выраженных и устойчивых изменений или нарушений в организме лабораторных животных [9]. Доза, превышающая действующую в 10 раз (5000 мкг/кг), выбрана с целью выявления токсических патогенетических изменений в системах или органах-мишениях организма. Особям контрольной группы внутрижелудочно вводили 0,5 мл NaCl 0,9%.

Через сутки по окончании экспозиции всем животным был проведен тест «открытое поле» и выполнена электроэнцефалография (ЭЭГ). После этого часть животных (по 16 особей из каждой группы) были оставлены на дождание в течение 6 мес (группы отдалённого периода исследования). Остальных животных умерщвляли путём декапитации под лёгким эфирным наркозом (группа раннего периода исследования). Часть органов была взята для морфологических и морфометрических исследований. Аналогичное исследование было проведено и в отдалённом периоде.

Все экспериментальные животные были получены путём собственного воспроизводства в виварии ФГБНУ «ВСИ-МЭИ» и содержались на стандартном рационе (BioPro, Россия), вода *ad libitum*. Животных содержали при 12/12-часовом цикле света/темноты на вентилируемой полке в условиях контролируемой температуры (плюс 22–25 °C) и влажности 55–60%). На проведение исследований получено разрешение Локального этического комитета (протокол № 8 от 15.12.2023 г.).

Исследование ориентировочно-исследовательской активности в тесте «открытое поле». Тестирование проводили на круглой арене диаметром 40 см с полуупрозрачным полом, стенами высотой 25 см и инвертированным освещением с использованием системы трёхмерного слежения за животными EthoStudio (Россия) [10]. Крыс помещали возле стены и в течение 3 мин автоматически оценивали общее пройденное расстояние (м), время (%) нахождения животного в центральной части арены (время нахождения в центре выражалось в процентах от общего времени наблюдения) и площадь исследуемой арены (расчитывалась как доля арены (%), посещаемая крысой), а число актов фризинга (замирания животного более чем на 3 с) регистрировали вручную. Дополнительно при помощи специализированной программы EthoStudio осуществляли визуализацию активности животных во время тестирования.

Исследование функционального состояния ткани коры головного мозга методом ЭЭГ. Регистрацию ЭЭГ выполняли в переднелобном (FP1-A1) и центральном отведениях (C3-A1) соматосенсорной области коры с применением электроэнцефалографа «Нейрон-Спектр-1/В» («Нейрософт», Россия). Снятие ЭЭГ осуществляли при помощи игольчатых электродов. Референтный электрод закрепляли подкожно в области носовой кости. Заземляющий электрод фиксировали на хвосте. Фоновую запись ЭЭГ выполняли на протяжении 60 с. Параметры фильтров высоких и низких частот составляли 0,5 и 35 Гц; частота квантования 500 Гц. При анализе записи было включено автоматическое удаление артефактов. Чистые эпохи проходили быстрое преобразование Фурье (БПФ) для получения абсолютной мощности спектра в дельта (δ) (0,5–4 Гц), тета (θ) (4–8 Гц), альфа (α) (8–13 Гц), бета-1 (β_1) (13–22 Гц) и бета-2 (β_2) (22–32 Гц) частот. Длительность эпох анализа была равна 10 с. Спектральный анализ выполнен с помощью программы «Нейрон-Спектр.NET» («Нейрософт», Россия). Средняя амплитуда спектра в определённом диапазоне частот (δ -, θ -, α -, β_1 -, β_2 -ритмы) и индекс-ритмов (%) рассчитывали отдельно в каждом конкретном диапазоне исходя из спектра мощности, полученного на основании алгоритма быстрого преобразования Фурье.

Гистологическая и морфометрическая оценка состояния сенсомоторной коры головного мозга. Для выполнения морфологических исследований после декапитации у каждого животного извлекали головной мозг, который фиксировали в нейтральном буферном растворе формалина (10%), обезвоживали этанолом восходящей концентрации (70; 80; 90; 95; 100%) и помещали в гомогенизированную парафиновую среду для гистологических исследований HistoMix (BioVitrum, Россия). Далее приготовленные с помощью микротома MC-1 серийные фронтальные срезы височно-теменной зоны сенсомоторной коры головного мозга толщиной 4–5 мкм на уровне Вregma 6,10 мм, Interaural 3,90 мм окрашивали на обычных гистологических предметных стёклках гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии с разрешением $\times 100$ и $\times 400$.

Морфометрическое исследование проводили с помощью пакета прикладных программ Image Scope M. Подсчитывали следующие показатели: общее число нейронов на единицу площади ($0,2 \text{ mm}^2$), количество дегенеративных нейронов (тёмные деформированные нейроны без чётко различных ядер и цитоплазмы) и количество глиальных клеток, а также число актов нейронофагии.

Математико-статистические методы исследования. Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., США) (лиц. № AXXR004E642326FA). Для принятия решения о виде распределения признаков использовали W -критерий Шапиро – Уилка. Для сравнения несвязанных групп применяли U -критерий Манна – Уитни. Нулевые гипотезы об отсутствии различий между группами отвергали при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха Me (Q_{25} – Q_{75}).

Результаты

Тест «открытое поле». По результатам теста «открытое поле» при анализе паттернов поведения животных (время в центре, исследованная площадь арены, пройденный путь, вертикальная двигательная активность, число заглядываний в норку, число стоек с упором, число актов груминга, число актов дефекации, вертикальная стойка) не было получено статистически значимых значений между группами опыта и контроля в оба срока исследования. Траектории движения животных также не имели статистически значимых отличий в оба срока исследования (рис. 2, см. на вклейке).

Анализ биоэлектрической активности методом ЭЭГ. Данные анализа биоэлектрической активности головного мозга крыс после введения Gd-АГ в исследуемых дозах представлены в таблице.

Сразу после окончания введения и в отдалённом периоде после введения GdAG500 и GdAG5000 в обоих отведениях (Fp1 – A1 и C3 – A1) у крыс не выявили различий по средней амплитуде фоновой ЭЭГ всех ритмов между опытными и контрольными группами. Также отсутствие изменений наблюдалось в обеих группах и при изучении индекса ритмов в переднелобном отведении. Однако в центральном отведении выявлено нарастание в отдалённом периоде значений индексов θ -ритма ($p = 0,025$) при введении GdAG5000 по сравнению с контрольной группой и снижение индекса α -ритма ($p = 0,025$) при дозе GdAG500 как по сравнению с контролем, так и по сравнению с аналогичным показателем в раннем периоде.

Наиболее выраженные в динамике результаты получены при исследовании индекса δ -ритма. Так, в отдалённом периоде наблюдали существенное снижение индекса ($p = 0,029$ и $p = 0,004$ соответственно) при обеих дозах введения по сравнению с ранним периодом.

Результаты морфологических и морфометрических исследований. При визуальном осмотре животные выглядели опрятно, телосложение правильное, слизистые оболочки гладкие, блестящие, розовые. Видимых изменений внутренних органов и желёз не наблюдали. Полушария головного мозга симметричные с чётким рисунком извилин и борозд. Мягкая мозговая оболочка умеренно полнокровная, блестящая. Сосудистая стенка артерий белесоватая с гладкой и блестящей интимой. На разрезе ткань мозга блестящая, выраженно полнокровная, с чёткой границей между серым и белым веществом; умеренно расширенные желудочки с блестящей и полнокровной эпендимой. На разрезе ткань мозжечка выраженно полнокровная, с чётким рисунком, без очаговых изменений. Ствол мозга на разрезе полнокровный, без очаговых изменений. Ткань сенсомоторной зоны головного мозга была в норме, без очаговых изменений, не отличалась от контрольных образцов.

В раннем периоде у животных, получавших дозу нанокомпозита гадолиния 500 мкг/кг, отмечали выраженное увеличение общего числа дегенеративно изменённых нейронов на единицу площади по сравнению с контролем (рис. 3).

В отдалённом периоде статистически значимых отличий между исследуемыми морфометрическими показателями не наблюдали (рис. 4).

Показатели фоновой записи ЭЭГ белых крыс после воздействия Gd-АГ, Me (Q₂₅–Q₇₅)Background EEG recording indices in white rats after exposure to Gd-AG, Me (Q₂₅–Q₇₅)

Показатель Index	Ранний период обследования / Early examination period		Отдалённый период обследования / Remote period of examination			
	Индекс ритмов, % / Rhythms index, %					
	Контроль / Control	Gd АГ500	Gd АГ5000	Контроль / Control	Gd АГ500	Gd АГ5000
<i>Переднелобное отведение (Fp1 – AI) / Frontal lead (Fp1 – AI)</i>						
δ	39.2 (36.2–44.7)	37.0 (31.8–41.8)	35.8 (30.6–42.9)	22.6 (21.5–27.3)	26.3 (24.6–29.7)	26.6 (24.5–35.1)
θ	19.2 (18.7–23.0)	21.8 (19.5–24.6)	19.4 (19.1–20.6)	19.3 (17.1–21.2)	18.3 (16.3–20.0)	19.2 (18.4–21.3)
α	21.6 (19.5–25.6)	20.8 (20.3–23.2)	19.3 (18.7–21.5)	20.1 (19.7–20.7)	18.9 (17.8–19.9)	19.5 (17.5–20.0)
β1	9.4 (8.6–9.8)	9.5 (8.8–10.8)	12.2 (10.2–21.9)	11.9 (10.6–12.6)	12.4 (9.8–12.7)	12.9 (9.3–13.2)
β2	7.6 (6.7–8.4)	7.9 (7.7–9.2)	11.4 (9.5–13.7)	26.2 (23.5–27.1)	23.5 (19.9–26.0)	19.6 (11.6–22.7)
<i>Центральное отведение (C3 – AI) / Central lead (C3 – AI)</i>						
δ	37.3 (32.2–41.8)	39.7 (36.0–45.3)	41.4 (38.4–44.7)	33.9 (29.6–35.3)	34.0 (32.0–36.0)*	32.1 (26.1–35.4)*
θ	21.7 (19.6–24.2)	19.2 (18.6–22.9)	19.1 (18.4–20.5)	17.8 (17.1–18.1)	18.3 (17.2–18.9)	19.4 (18.5–21.6)†
α	20.4 (20.0–22.4)	21.4 (19.2–25.5)	20.0 (19.1–22.9)	21.0 (19.6–21.1)	18.5 (17.5–18.7)*†	21.9 (20.9–22.7)
β1	9.3 (8.7–11.2)	9.3 (8.5–9.9)	10.8 (9.3–11.1)	10.4 (9.9–11.3)	11.4 (9.9–11.8)	12.5 (10.8–13.1)
β2	9.4 (7.3–11.2)	8.1 (6.4–8.5)	7.5 (7.0–8.7)	17.6 (17.1–19.5)	19.4 (15.7–19.6)	15.5 (10.2–17.5)

При мечані. * – различия статистически значимы при сравнении опытных групп раннего и отдаленного периодов исследования при $p < 0,05$; # – различия статистически значимы при сравнении опытных и контрольной групп при $p < 0,05$.

Note: * – differences are statistically significant when comparing the experimental groups of the early and late periods of the study at $p < 0.05$; † – differences are statistically significant when comparing the experimental and control groups at $p < 0.05$.

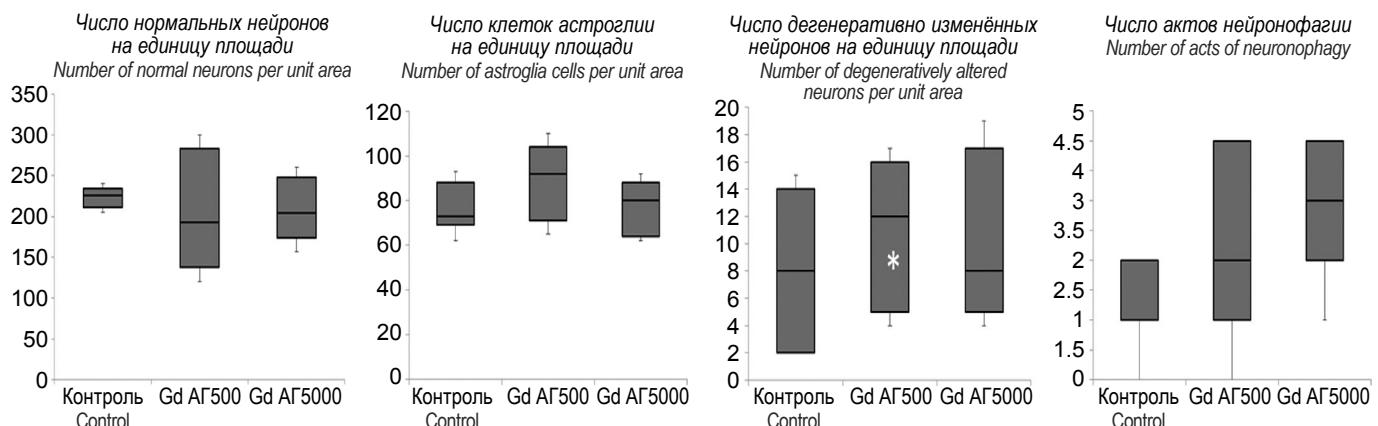


Рис. 3. Морфометрические показатели ткани сенсомоторной коры головного мозга белых крыс при подостром воздействии Gd-АГ в раннем периоде исследования, Me (Q₂₅–Q₇₅).

Fig. 3. Morphometric indices of the sensorimotor cortex tissue of the brain in white rats under subacute exposure to Gd-AG during the early period of examination, Me (Q₂₅–Q₇₅).

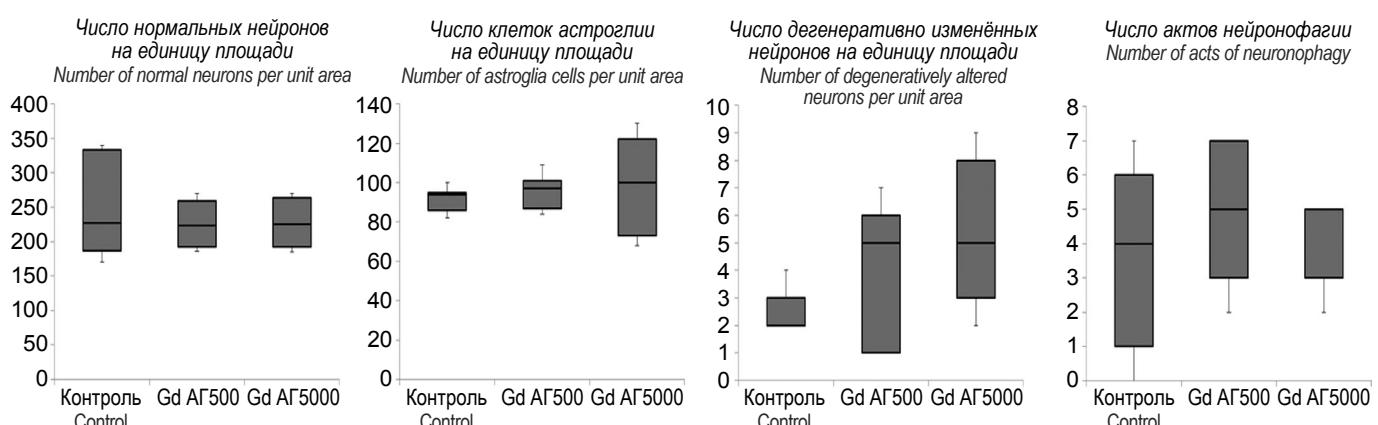


Рис. 4. Морфометрические показатели ткани сенсомоторной коры головного мозга белых крыс при подостром воздействии Gd-АГ в отдалённом периоде исследования, Me (Q₂₅–Q₇₅).

Fig. 4. Morphometric indices of the sensorimotor cortex tissue of the brain in white rats under subacute exposure to Gd-AG during the remote period of examination, Me (Q₂₅–Q₇₅).

Обсуждение

Контрастные вещества на основе гадолиния широко используются в качестве МРТ-агентов для диагностики или мониторинга прогрессирования болезни. Ежегодно во всём мире потребляется более 30 млн доз гадолиний-содержащих контрастирующих агентов (ГСКА), и с момента их введения было введено более 300 млн доз [11]. Все клинически доступные ГСКА при использовании гадолиния в качестве контрастного вещества для МРТ связаны лигандом, поскольку свободный гадолиний высокотоксичен [12]. Токсичность свободных ионов гадолиния для животных обусловлена вмешательством в ряд процессов, зависимых от кальциево-ионных каналов. Исследования токсичности на грызунах показывают, что хелатирование гадолиния (которое также улучшает его растворимость) снижает его токсичность в отношении свободного иона как минимум в 100 раз (то есть хелат Gd относится ко 2-му классу опасности со среднесмертельной дозой (LD_{50}) ≤ 50 мг/кг). По результатам проведённых нами ранее исследований LD_{50} нанокомпозит гадолиния был отнесен к 5-му малоопасному классу (> 2000 мг/кг). Вместе с тем в наших ранних исследованиях при подостром внутрибрюшинном введении нанокомпозита гадолиния в дозе 500 мкг/кг были обнаружены начальные проявления нейродегенеративных изменений в виде снижения количества нормальных нейронов на единицу площади в нервной ткани и увеличения числа актов нейронофагии, а также выраженная компенсаторная реакция печени (возрастание числа звёздчатых макрофагов Купфера в синусоидах) и нарушение функциональной активности почек – снижение площади почечных телец (캡슐ы Шумлянского – Баумена) [13].

Полученные в рамках настоящего эксперимента по пероральному подострому введению наночастиц гадолиния результаты (увеличение общего числа дегенеративно изменённых нейронов в дозе 500 мкг/кг по гадолинию) соотносятся с полученными ранее данными и подтверждают, что способ введения наночастиц не влияет на проявление их токсичности. Также результаты свидетельствуют об отсутствии воздействия наночастиц гадолиния, инкапсулированных в природную матрицу арабиногалактана, на показатели, отражающие ориентировочно-исследовательскую активность и поведение. Животные, получавшие нанокомпозит в обеих дозах и в оба срока исследования, имели обычную вертикальную и горизонтальную локомоторную

активность без повышенного уровня тревожности. Эти данные согласуются с выводами других авторов, которые также не наблюдали нарушений поведенческих реакций у крыс и мышей при введении гадолиния в макроформе [14, 15]. Средняя амплитуда ритмов биоэлектрической активности головного мозга в переднелобном отведении у крыс в динамике не различалась, однако в центральном отведении были выявлены изменения индекса θ -ритма по сравнению с контролем, что можно объяснить негативными отсроченными эффектами Gd-АГ. Известно, что появление медленноволновых θ -ритмов является неблагоприятным признаком, причём чем ниже их частота и выше амплитуда, тем более выражен патологический процесс, который связан с дистрофическими, демиелинизирующими и дегенеративными поражениями головного мозга, снижением активизирующих влияний ствола головного мозга [16]. Известно, что δ -ритм относится к эволюционно старым и доминирует у низших позвоночных. Снижение его в динамике эксперимента при воздействии изучаемых доз нанокомпозита свидетельствует о нарушении функционального состояния центральной нервной системы.

При сравнении результатов воздействия двух кратно отличающихся доз следует отметить отсутствие дозовой зависимости, то есть эффект воздействия не усиливается с увеличением дозы, так как все имеющиеся различия наблюдались либо по сравнению с контролем, либо при сравнении одной и той же дозы в разных периодах исследования. Предположительно, вводимые дозы нанометалла не коррелируют с полученными изменениями, однако подтвердить это возможно лишь дополнительными исследованиями, в частности изучением концентраций нанометалла в тканях головного мозга.

Заключение

Выявленные нами нейродегенеративные изменения соматосенсорной коры головного мозга не повлияли на показатели, отражающие ориентировочно-исследовательскую активность, или лишь частично проявились в показателях ЭЭГ. Таким образом, с учётом установленного низкого класса опасности наночастиц гадолиния можно прогнозировать перспективность их применения при МРТ-диагностике и при условии дальнейшего исследования воздействия наночастиц на основные органы и ткани в разных дозировках и при разных способах введения.

Литература (п.п. 1–7, 9–12, 14, 15 см. References)

8. Сухов Б.Г., Трофимов Б.А. Направленный синтез нанобиокомпозитов с необычным комплексом магнитных, оптических, катализитических и биологических активных свойств. В кн.: *Магнитные материалы. Новые технологии. Тезисы докладов VIII Байкальской международной конференции*. Иркутск: 2018. <https://elibrary.ru/xvwshep>
13. Соседова Л.М., Титов Е.А., Новиков М.А., Вокина В.А., Рукавишников В.С. Оценка токсических эффектов магнитоконтрастирующего диагностического гадолиний-содержащего нанокомпозита. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(10): 1161–5. <https://elibrary.ru/suzsns>
16. Титов Е.А., Соседова Л.М., Капустина Е.А., Якимова Н.Л., Новиков М.А., Лисецкая Л.Г. и др. Анализ токсичности нанокомпозита Cu_2O , инкапсулированного в полимерную матрицу арабиногалактана. *Российские нанотехнологии*. 2021; 16(4): 578–84. <https://doi.org/10.1134/S1992722321040130> <https://elibrary.ru/ubzih0>

References

1. Hui F.K., Mullins M. Persistence of gadolinium contrast enhancement in CSF: a possible harbinger of gadolinium neurotoxicity? *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2009; 30(1): E1. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A1205>
2. Lersy F., Boulouis G., Clément O., Desal H., Anzionnat R., Berge J., et al. Consensus guidelines of the French society of neuroradiology (SFNR) on the use of Gadolinium-based contrast agents (GBCAs) and related MRI protocols in neuroradiology. *J. Neuroradiol.* 2020; 47(6): 441–9. <https://doi.org/10.1016/j.neurad.2020.05.008>
3. Blasco-Perrin H., Glaser B., Pienkowski M., Peron J.M., Payen J.L. Gadolinium induced recurrent acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2013; 13(1): 88–9. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2012.12.002>
4. Akgun H., Gonlusen G., Cartwright J. Jr., Suki W.N., Truong L.D. Are gadolinium-based contrast media nephrotoxic? A renal biopsy study. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2006; 130(9): 1354–7. <https://doi.org/10.5858/2006-130-1354-AGCMNA>
5. Lesnichaya M.V., Aleksandrova G.P., Feoktistova L.P., Sapozhnikov A.N., Fadeeva T.V., Sukhov B.G., et al. Silver-containing nanocomposites based on galactomannan and carrageenan: synthesis, structure, and antimicrobial properties. *Russ. Chem. Bull.* 2010; 59: 2323–8. <https://doi.org/10.1007/s11172-010-0395-6>
6. Novikov M.A., Titov E.A., Sosedova L.M., Rukavishnikov V.S., Vokina V.A., Lakhman O.L. Comparative assessment of silver nanocomposites' biological effects on the natural and synthetic matrix. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(24): 13257. <https://doi.org/10.3390/ijms222413257>
7. Babkin V.A. Theoretical and practical development of new drugs for medicine based on larch biomass extracts. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2015; 41: 679–85. <https://doi.org/10.1134/S1068162015070031>

8. Sukhov B.G., Trofimov B.A. Directed synthesis of nanocomposites with an unusual complex of magnetic, optical, catalytic and biologically active properties. In: *Magnetic Materials. New Technologies. Abstracts of the VIII Baikal International Conference [Magnitnye materialy. Novye tekhnologii. Tezisy dokladov VIII Baikal'skoi mezhdunarodnoi konferentsii]*. Irkutsk; 2018. <https://elibrary.ru/xvwuep> (in Russian)
9. Rukavishnikov V.S., Novikov M.A., Titov E.A., Sosedova L.M., Vokina V.A., Yakimova N.L. Estimation of toxic properties of nanocomposites containing nanoparticies of bismuth, gadolinium, and silver. *Trace Elem. Electroly.* 2018; 35(4): 203–6. <https://doi.org/10.5414/TEX0155408> <https://elibrary.ru/yokibr>
10. Kulikov A.V., Tikhonova M.A., Kulikov V.A. Automated measurement of spatial preference in the open field test with transmitted lighting. *J. Neurosci. Methods.* 2008; 170(2): 345–51. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.01.024>
11. Gulani V., Calamante F., Shellock F.G., Kanal E., Reeder S.B. Gadolinium deposition in the brain: summary of evidence and recommendations. *Lancet Neurol.* 2017; 16(7): 564–70. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30158-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30158-8)
12. Rogosnitzky M., Branch S. Gadolinium-based contrast agent toxicity: a review of known and proposed mechanisms. *Biometals.* 2016; 29: 365–76. <https://doi.org/10.1007/s10534-016-9931-7>
13. Sosedova L.M., Titov E.A., Novikov M.A., Vokina V.A., Rukavishnikov V.S. Evaluation of toxic effects of magnetic contrast diagnostic gadolinium-containing nanocomposite. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2019; 98(10): 1161–5. <https://elibrary.ru/suzsns> (in Russian)
14. Akai H., Miyagawa K., Takahashi K., Mochida-Saito A., Kurokawa K., Takeda H., et al. Effects of gadolinium deposition in the brain on motor or behavioral function: a mouse model. *Radiology.* 2021; 301(2): 409–16. <https://doi.org/10.1148/radiol.2021210892>
15. Ayers-Ringler J., McDonald J.S., Connors M.A., Fisher C.R., Han S., Jakaitis D.R., et al. Neurologic effects of gadolinium retention in the brain after gadolinium-based contrast agent administration. *Radiology.* 2022; 302(3): 676–83. <https://doi.org/10.1148/radiol.210559>
16. Titov E.A., Sosedova L.M., Kapustina E.A., Yakimova N.L., Novikov M.A., Lisetskaya L.G., et al. Analysis of the toxicity of a Cu₂O nanocomposite encapsulated in a polymer matrix of arabinogalactan. *Rossiiskie nanotekhnologii.* 2021; 16(4): 578–84. <https://doi.org/10.1134/S1992722321040130> <https://elibrary.ru/ubzhi> (in Russian)

Сведения об авторах

Новиков Михаил Александрович, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665826, Ангарск, Россия. E-mail: novik-imt@mail.ru

Титов Евгений Алексеевич, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665826, Ангарск, Россия. E-mail: g57097@yandex.ru

Якимова Наталья Леонидовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665826, Ангарск, Россия. E-mail: ynl-77@list.ru

Вокина Вера Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665826, Ангарск, Россия. E-mail: vokina.vera@gmail.com

Панкова Анна Александровна, мл. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665826, Ангарск, Россия. E-mail: nyuta.pankova.96@mail.ru

Скрынник Анна Станиславовна, мл. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665826, Ангарск, Россия. E-mail: annaskrynnik675@gmail.com

Лизарев Александр Викторович, мл. науч. сотр. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665826, Ангарск, Россия. E-mail: lis_lu154@mail.ru

Соседова Лариса Михайловна, доктор мед. наук, профессор, зав. лаб. биомоделирования и трансляционной медицины ФГБНУ ВСИМЭИ, 665826, Ангарск, Россия. E-mail: sosedlar@mail.ru

Information about the authors

Mikhail A. Novikov, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Biomodelling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-6100-6292> E-mail: novik-imt@mail.ru

Evgeny A. Titov, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Biomodelling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-0665-8060> E-mail: g57097@yandex.ru

Natalia L. Yakimova, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Biomodelling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-9686-3841> E-mail: ynl-77@list.ru

Vera A. Vokina, PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Biomodelling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-8165-8052> E-mail: vokina.vera@gmail.com

Anna A. Pankova, Junion Researcher, Laboratory of Biomodelling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-6012-0173> E-mail: nyuta.pankova.96@mail.ru

Anna S. Skrynnik, Junion Researcher, Laboratory of Biomodelling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-5349-9867> E-mail: annaskrynnik675@gmail.com

Aleksander V. Lizarev, Junion Researcher, Laboratory of Biomodelling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8238-7189> E-mail: lis_lu154@mail.ru

Larisa M. Sosedova, DSc (Medicine), Professor, Head of Laboratory of Biomodelling and Translational Medicine, East-Siberian Institute of Medical and Ecological Research, Angarsk, 665826, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-1052-4601> E-mail: sosedlar@mail.ru

К статье М.А. Новикова и соавт.
To the article by Mikhail A. Novikov et al.

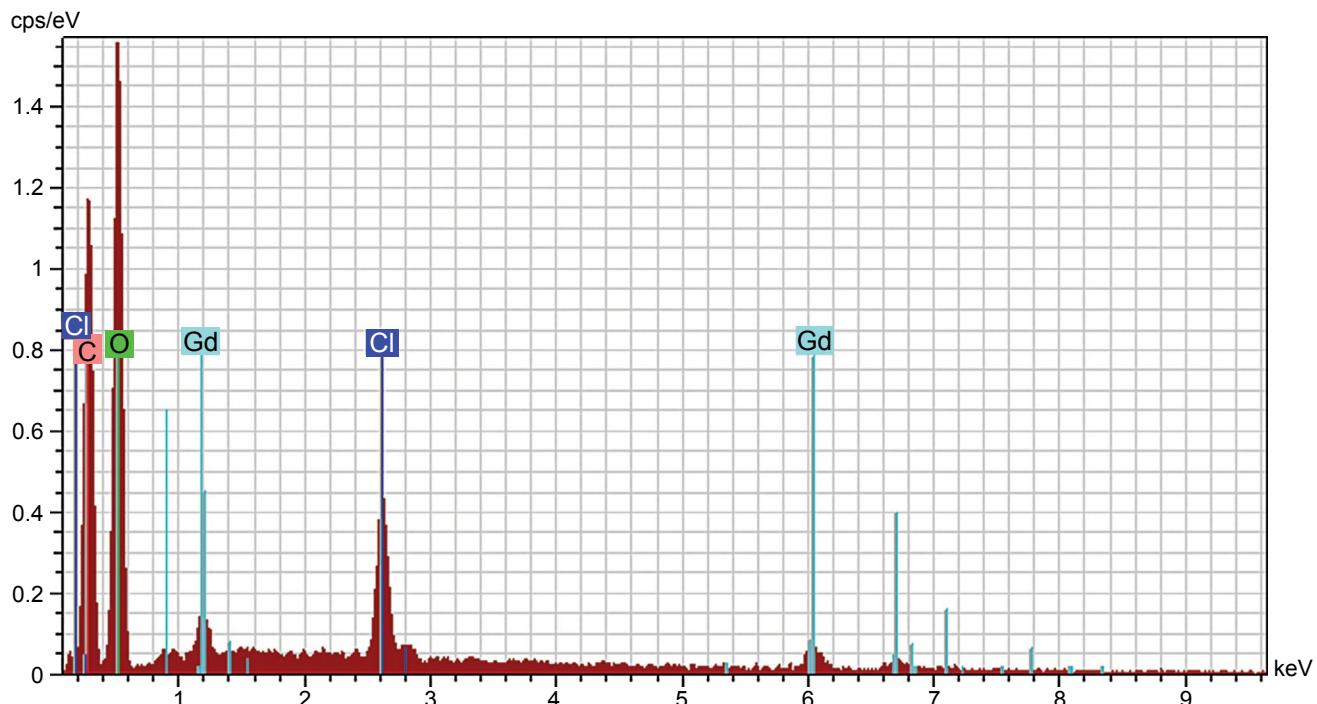


Рис. 1. Результаты рентгеновского энергодисперсионного микроанализа образца наночастиц гадолиния, использованного для проведения исследования.

Fig. 1. Results of energy dispersive X-ray microanalysis of the gadolinium nanoparticle sample used for the study.

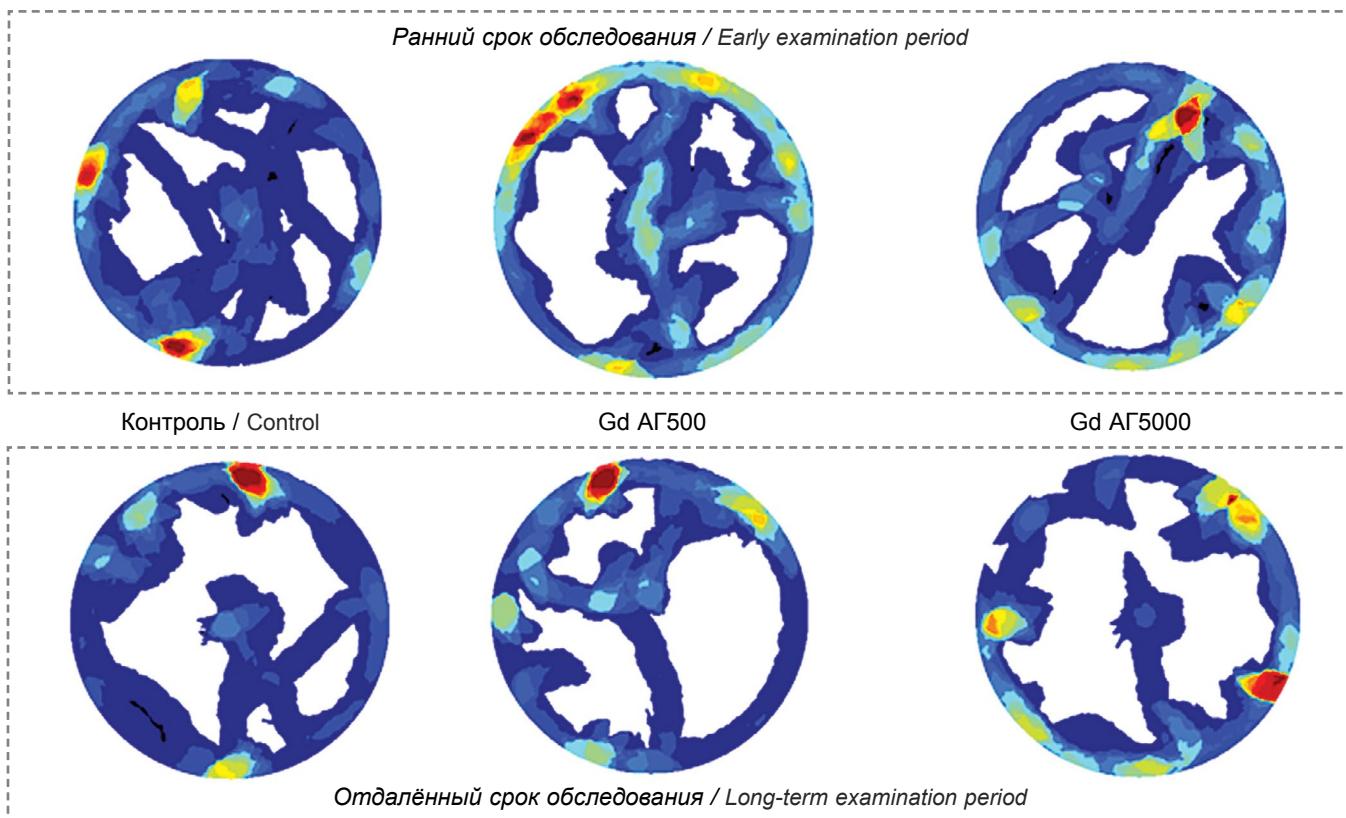


Рис. 2. Репрезентативная визуализация активности животных во время тестирования (красный – самая высокая активность; синий – самая низкая активность).

Fig. 2. Representative visualization of animal activity during testing (red – highest activity; blue – lowest activity).