

ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИДРОЗОЛЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ ПЕКТИНОМ, НА ОРГАНИЗМ КРЫС В ПОДОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Василькевич В. М.¹, Михайлова Н. Н.¹, Крыж Т. И.¹,
Богданов Р. В.¹, Гилевская К. С.², Красковский А. Н.²

¹Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь

²Государственное научное учреждение «Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Введение. Приоритетными видами наноматериалов с точки зрения перспективности их применения в медицине, фармацевтической и пищевой промышленности, в сельском хозяйстве, при производстве потребительских товаров являются наночастицы (НЧ) серебра, обладающие антимикробными свойствами и высокой биологической активностью. Многообразие способов получения НЧ с различными стабилизаторами приводит к изменению их физико-химических свойств, что создает новые риски для человека и окружающей среды, которые необходимо учитывать при оценке безопасности.

Цель исследования — изучить токсическое действие гидрозоля НЧ серебра, стабилизированных пектином, в подостром эксперименте.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлся гидрозоль НЧ серебра, стабилизированных пектином ($13,0 \pm 7,0$ нм), которые синтезированы белорусскими учеными с соблюдением принципов «зеленой химии». Эксперименты выполнены на белых крысах при внутрижелудочном введении гидрозоля в дозе 1000 мг/кг в 28-дневном эксперименте. По окончании опыта определяли ряд интегральных и биохимических показателей, характеризующих состояния отдельных систем и органов.

Результаты. На протяжении эксперимента при воздействии НЧ серебра, стабилизированных пектином, внешние признаки интоксикации и гибель животных отсутствовали, что не позволило рассчитать коэффициент кумуляции и свидетельствует об их слабой кумулятивной активности (согласно классификации Л. И. Медведя, 1964 г.). Установлено увеличение активности в сыворотке крови глутатионтрансферазы и глутатионредуктазы на 36,4 и 50,6 % ($p < 0,05$) соответственно. Кроме того, наблюдалось увеличение на 17,5 % ($p < 0,05$) содержания SH-групп, обеспечивающих инактивацию свободных радикалов. На фоне развития изменений со стороны антиоксидантной системы наблюдались отклонения ($p < 0,05$) ряда показателей иммунного ответа: повышение в 2,5 раза уровня специфического лизиса лейкоцитов, величины фагоцитарного резерва и рост в 2,2 раза интенсивности восстановления гранулоцитами нитросинего тетразолия в формазах (НСТ-тест).

Выводы. Гидрозоль НЧ серебра, стабилизированных пектином, в подостром эксперименте при внутрижелудочном 28-дневном введении в дозе 1000 мг/кг не обладает кумулятивными свойствами на уровне смертельных эффектов, но оказывает общетоксическое действие с преимущественными изменениями со стороны глутатионовой антиоксидантной системы и активации фагоцитарной и метаболической активности гранулоцитарно-макрофагальных клеток крови подопытных животных.

Ключевые слова: наночастицы серебра, пектин, подострая токсичность, токсикологические исследования

Введение

В последние годы большое внимание уделяется развитию нанотехнологий, направленных на получение материалов, которые формируются наночастицами (НЧ) размером от 10^{-7} до 10^{-9} м [1]. Высокая химическая и каталитическая активность НЧ, их способность проникать через биологические барьеры и

накапливаться в организме определяет наличие у ряда НЧ токсических свойств, что создает новые риски для человека и окружающей среды, которые необходимо учитывать при оценке безопасности нанотехнологической продукции и их применении [2]. Особое опасение вызывает использование НЧ в медицине, сельском хозяйстве, фармацевтической и пищевой промышленности.

Наиболее перспективными и распространенными с точки зрения прикладного применения являются НЧ серебра, которые широко используются при производстве потребительских товаров, в том числе парфюмерно-косметической продукции, средств бытовой химии, лакокрасочных материалов и др. По данным литературы, годовое производимое количество НЧ серебра в мире составляло в 2011 году свыше 500 т в пересчете на серебро, а в 2015 году могло превысить 1000 т, что соответствует порядка 140 мг/год на каждого жителя Земли [2].

Современное производство НЧ серебра включает различные физические и химические способы: метод лазерной абляции или электровзрыва металлической мишени, фотокаталитический метод в присутствии поливинилпирролидона, восстановление коллоидного серебра (под действием альдегидов), «биохимического синтеза», получаемое при восстановлении соли серебра кверцетином в присутствии диоктилсульфо-сукцината натрия, и некоторые другие менее распространенные методы. По данным трансмиссионной электронной микроскопии синтезированные НЧ серебра имеют размеры, как правило, от 8–10 нм до 60–80 нм, округлую, реже треугольную или полиэдрическую форму, четкие контуры, высокую электронную плотность. Для сохранения своих физико-химических свойств НЧ серебра необходимо стабилизировать в нанодиапазоне, что достигается использованием различных стабилизирующих оболочек.

Согласно результатам многочисленных экспериментов, представленных в литературе, НЧ серебра могут обладать токсическими эффектами в отношении клеток эукариот в культуре, водных и почвенных организмов, лабораторных животных при ингаляционном, эпикутанном и пероральном введении [2].

Основным механизмом токсического действия НЧ серебра *in vivo* является дозированное высвобождение ими цитотоксичных ионов серебра (Ag^+) под воздействием продуцируемых мононуклеарными клетками эндогенных окислителей (супероксид-анион, перекиси, перокси-нитрит, гипохлорит-ион и др.) в соответствующих органах-мишенях, а также реакция клеток на поверхность самих НЧ [3, 4]. Дальнейшее нарушение функции митохондрий и системы синтеза АТФ клетки инициируют образование свободных радикалов и вторичных продуктов реакций окислительного стресса. Известно, что

ионы серебра проявляют высокое сродство к серо-содержащим белкам и к тиольной группе биомолекул в печени и других органах [3, 5]. При этом печень, почки и селезенка являются основными органами накопления НЧ серебра, что может вызывать изменения их функций, в том числе синтеза ферментов.

Белорусскими учеными с соблюдением принципов «зеленой» химии впервые синтезирован гидрозоль НЧ серебра, стабилизированных пектином, который является природным полисахаридом и обеспечивает устойчивость коллоидной системы. При этом средний диаметр частиц нанокompозита пектин-серебро составляет (13 ± 7) нм; концентрация НЧ серебра в синтезированном гидрозоле составляет 1,65 ммоль/л [6–8].

В ранее проведенных исследованиях установлено, что по параметрам острой токсичности при внутрижелудочном и ингаляционном путях поступления в организм гидрозоль нанокompозита пектин-серебро относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76) и VI классу по классификации Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) при внутрибрюшинном способе введения [6].

Цель исследования — изучить токсическое действие НЧ серебра, стабилизированных пектином, в подостром эксперименте при дозозависимом внутрижелудочном введении белым крысам.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на аутбредных крысах (по 10 особей в группе) с соблюдением общепризнанных принципов гуманного отношения к подопытным позвоночным животным (Хельсинки, 1986 г.). Животным опытной группы внутрижелудочно вводили НЧ серебра, стабилизированные пектином, на протяжении 28 дней в дозе 1000 мг/кг/день согласно рекомендаций OECD (Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents). Контрольные животные получали пектин. Условия содержания, питания, уход за животными соответствовали требованиям Санитарных правил норм 2.1.2.12-18-2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)» [9].

В подостром опыте выбор показателей, отражающих особенности токсического действия НЧ серебра, основывался на имеющихся сведениях о меха-

низме их биологического действия [3–5]. На протяжении эксперимента учитывали внешние признаки интоксикации и гибель животных. По окончании опыта определяли ряд физиологических поведенческих реакций (способность суммировать подпороговые импульсы (СПП), ориентировочные реакции, двигательную координацию, эмоциональную реактивность, норковый рефлекс); гематологических показателей (содержание в периферической крови гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрит); биохимических (содержание общих липидов и белка, мочевины в сыворотке крови, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в сыворотке крови, активность глутатионтрансферазы (ГТ) и глутатионредуктазы (ГР), содержание глутатионфосфат-6-дегидрогеназы (ГФДГ) в гомогенатах печени, а также содержание характеризующих функциональное состояние печени супероксиддисмутазы (СОД), глутатионвосстановленного (ГТ-SH) и SH-групп в гемолизате крови); иммунологических (содержание в сыворотке крови циркулирующих иммунокомплексов (ЦИК), лизоцима, величина фагоцитарного резерва, бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), тест спонтанного восстановления нитро-синего тетразолия в формаза (НСТ-тест) и НСТ-тест гранулоцитов крови (РСНСТ-тест) при их стимуляции НЧ серебра, стабилизированных пектином), показателей антиоксидантной и иммунной систем организма. Функцию почек определяли по показателям суточ-

ного диуреза, содержания белка, мочевины и хлоридов в моче.

Полученные результаты исследований подвергались статистической обработке общепринятыми методами статистического анализа с использованием программы STATISTICA версия 7.0. Межгрупповые различия считали значимыми при уровне вероятности $p < 0,05$ (по критерию U – Манна-Уитни).

Результаты исследования и их обсуждение

На протяжении эксперимента при воздействии НЧ серебра, стабилизированных пектином, внешние признаки интоксикации и гибель животных отсутствовали, что не позволило рассчитать коэффициент кумуляции и свидетельствует о слабой кумулятивной активности гидрозоля НЧ серебра с пектином (согласно классификации Л. И. Медведя, 1964 г. [10]). Однако о наличии такого токсического действия НЧ серебра, как проявление функциональной кумуляции, свидетельствуют изменения ряда изучаемых показателей, выявленные при статистической обработке физиологических, биохимических, гематологических и иммунологических показателей состояния белых крыс (таблица).

Так, со стороны поведенческих реакций, в тесте «открытое поле», установлен спад частоты действий, требующих физических усилий в виде тенденции снижения в 2 раза норкового рефлекса и статистически значимой горизонтальной активности

Таблица

Физиологические, биохимические, гематологические и иммунологические показатели состояния белых крыс при изучении подострой токсичности гидрозоля наночастиц серебра, стабилизированных пектином, Me (P25; P75)

Изучаемый показатель	Контрольная группа	Опытная группа
<i>Физиологические показатели</i>		
СПП, Вольт	1,60 (1,45–1,85)	1,75 (1,65–1,80)
Норковый рефлекс, у. е.	1,0 (0–4,0)	0,5 (0–1,0)
Фризинг, у. е.	1,0 (0–2,0)	1,0 (1,0–2,0)
Вертикальная стойка, у. е.	1,50 (1,0–3,0)	3,0 (2,0–3,0)
Горизонтальная активность, у. е.	11,0 (7,0–16,0)	7,0 (4,0–8,0)*
<i>Относительные коэффициенты массы внутренних органов, кг⁻³/кг</i>		
Печень	30,29 (28,96–32,88)	29,56 (28,90–35,90)
Почки	6,76 (6,13–7,06)	7,04 (6,81–8,09)
Селезенка	4,35 (4,12–4,89)	4,44 (4,16–6,19)
Сердце	3,36 (2,83–3,53)	3,34 (3,26–3,84)
Легкие	7,38 (6,31–8,24)	7,46 (6,95–8,64)

Окончание таблицы

Изучаемый показатель	Контрольная группа	Опытная группа
<i>Гематологические показатели периферической крови</i>		
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,71 (7,50–7,90)	8,07 (7,75–8,67)
Гемоглобин, г/л	155,5 (148,0–161,0)	151,5 (142,0–152,0)
Гематокрит	0,42 (0,41–0,43)	0,43 (0,42–0,45)
Лейкоциты, $10^9/л$	14,96 (12,67–17,40)	15,19 (13,76–29,80)
Тромбоциты, $10^9/л$	743,0 (630,0–796,0)	773,5 (375,0–918,0)
Нейтрофилы, $10^9/л$	3,02 (2,48–3,99)	3,70 (3,54–4,27)
Лимфоциты, $10^9/л$	14,56 (12,99–17,70)	14,14 (11,74–15,79)
Моноциты, $10^9/л$	0,88 (0,64–1,38)	1,09 (0,95–1,41)
Эозинофилы, $10^9/л$	0,64 (0,48–0,77)	0,65 (0,55–0,90)
Базофилы, $10^9/л$	0,19 (0,15–0,34)	0,21 (0,20–0,27)
<i>Биохимические показатели крови</i>		
Содержание белка, г/л	65,30 (63,40–68,14)	66,19 (62,50–67,20)
Содержание липидов, г/л	3,05 (2,78–3,14)	3,14 (2,78–3,31)
Активность АЛТ, мкМоль/л	0,01 (0,01–0,015)	0,01 (0,005–0,015)
Активность АСТ, мкМоль/л	0,04 (0,04–0,045)	0,045 (0,04–0,05)
Активность глутатионаредуктазы, мкМоль/л (мкМоль/гНв мин)	3,18 (2,79–3,31)	4,34 (4,18–4,29)*
Активность ГТ, мкМоль/л (мкМоль/гНв мин)	0,77 (0,7–0,88)	1,16 (1,02–1,13)*
Концентрация SH-групп, мкМоль/л	82,57 (69,27–90,43)	70,59 (50,0–88,22)*
Концентрация GT- SH, мкМоль/л	11,64 (9,77–12,75)	9,95 (7,43–12,44)
Активность ГФДГ, мкмоль НАДФН/мин • гНв	80,9 (70,0–85,75)	75,03 (74,04–101)
Концентрация СОД, мкг/мл	28,52 (26,66–32,88)	32,67 (30,38–34,64)
Концентрация мочевины, ммоль/л	5,62 (4,71–6,33)	5,76 (5,32–6,04)
<i>Иммунологические показатели</i>		
ЦИК, у. е.	57,0 (54,0–57,0)	60,0 (56,0–62,50)
Лизоцим, %	62,50 (53,80–64,60)	62,10 (57,55–62,85)
БАСК, %	19,50 (18,40–26,95)	19,10 (17,80–26,40)
Величина фагоцитарного резерва, %	25,90 (22,30–61,90)	65,70 (56,15–103,30)*
Реакция специфического лейколизиса, %	7,35 (6,62–10,38)	18,40 (8,66–20,15)*
НСТ-тест: Спонтанный ур.: – к контр. пр., %	19,0 (14,30–25,40)	7,70 (4,25–25,55)*
Зн-стимулир. ур.: – к контр. пр., % – индекс стим., ед.	51,50 (41,30–76,80) 1,23 (1,19–1,49)	113,30 (95,05–121,70)* 1,95 (1,51–2,01)
РЧНСТ-тест: – отн. уровень, % – индекс стимул., ед.	24,20 (18,20–34,50) 1,01 (0,96–1,13)	24,70 (15,25–27,25)* 1,11 (1,02–1,17)
<i>Показатели функционального состояния почек</i>		
Диурез, л-3/сут.	4,0 (3,75–4,25)	4,20 (4,0–4,35)
pH мочи	6,75 (6,53–6,97)	6,29 (6,11–6,47)
Белок, г/л	0,1 (0,1–0,3)	0,1 (0,1–0,2)
Мочевина, ммоль/л	195,1 (189,3–200,9)	200,5 (195,0–220,5)
Хлориды, ммоль/л	9,19 (9,0–9,41)	10,15 (10,0–11,13)

Примечание. *Статистически значимые различия с контролем по критерию U при $p < 0,05$.

на 36,4 % на фоне отсутствия изменения суммационно-порогового показателя.

Подострое введение НЧ серебра, модифицированных пектином, не приводило к изменениям показателей периферической крови и ее формулы, а также относительных коэффициентов масс внутренних органов.

При анализе биохимических показателей обнаружены наиболее выраженные изменения со стороны глутатионопосредованной антиоксидантной системы. Так, произошло увеличение активности в сыворотке крови ГТ и ГР на 36,4 % и 50,6 % ($p < 0,05$) соответственно, которые являются взаимосвязанными ферментами, влияющими на уровень глутатиона. Небольшие колебания уровней соотношения активности ГТ и ГР в опытной группе (0,27) по сравнению с контрольной (0,24) указывают на адекватное функционирование данного звена глутатионопосредованной защиты клетки. Кроме того, наблюдалось увеличение на 17,5 % ($p < 0,05$) содержания SH-групп, обеспечивающих инактивацию свободных радикалов.

В опытной группе животных при внутрижелудочном введении НЧ серебра, стабилизированных пектином, в дозе 1000 мг/кг на фоне развития изменений со стороны антиоксидантной системы наблюдались статистически значимые изменения ряда показателей иммунного ответа: повышение в 2,5 раза уровня специфического лизиса лейкоцитов, величины фагоцитарного резерва и усиление бактерицидной функции гранулоцитов крови (увеличение в 2,2 раза НСТ-теста). Активация зимозанстимулированного уровня кислородного мета-

болизма в гранулоцитах (НСТ-тест стимулированный) и в целом возрастание величины их фагоцитарного резерва, по-видимому, свидетельствует о стимуляции фагоцитарной и бактерицидной активности гранулоцитов крови.

При многократном введении НЧ серебра с пектином активность ферментов АСТ и АЛТ, содержание общего белка и липидов в сыворотке крови подопытных крыс статистически значимо не отличались от контрольных животных, как и показатели функционального состояния почек (диурез, рН, содержание белка, мочевины и хлоридов в моче).

Выводы

Гидрозоли НЧ серебра, стабилизированных пектином, в подостром эксперименте при внутрижелудочном 28-дневном введении в дозе 1000 мг/кг не обладает кумулятивными свойствами на уровне смертельных эффектов, но оказывает общетоксическое действие с преимущественным нарушением антиоксидантной системы и иммунологической реактивности организма подопытных животных, что является функциональными проявлениями ответной реакции организма животных на НЧ серебра как чужеродный объект. При этом, необходимо отметить, что полученные результаты согласуются с литературными данными о способности НЧ серебра вызывать окислительный стресс, когда генерация свободных радикалов вызывает активацию и напряжение, а нередко и превышает способность антиоксидантной защиты организма к воздействию чужеродного соединения [2–5].

Литература

1. Наночастицы металлов, подходы и методы оценки их токсичности. И. М. Трахтенберг и др. IV Съезд токсикологов России (Москва, 6–8 нояб. 2013 г.): сб. тр. Москва, 2013. С. 479–482.

2. Гмошинский И. В., Шипелин В. А., Хотимченко С. А. Наноматериалы в пищевой продукции и ее упаковке: сравнительный анализ рисков и преимуществ. *Анализ риска здоровью*. 2018. № 4. С. 134–138. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.4.16.eng>.

3. Сравнительный анализ влияния нано- и ионной форм серебра на биохимические показатели лабораторных животных. Ю. А. Рахманин и др. *Гигиена и санитария*. 2014. № 1. С. 45–50.

4. Ковалева Н. Ю., Раевская Е. Г., Рощин А. В. Проблемы безопасности наноматериалов: нанобезопасность, нанотоксикология, наноинформатика. *Химическая безопасность*. 2017. Т. 1, № 2. С. 44–87.

5. Tiwari D. K., Jin T., Behari J. Dose-dependent *in-vivo* toxicity assessment of silver nanoparticle in Wistar rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2011. V. 21, № 1. P. 13–24. <https://doi.org/10.3109/15376516.2010.529184>.

6. О токсических свойствах гидрозоля наночастиц серебра, стабилизированных пектином. В. М. Василькевич, Н. Н. Михайлова, К. С. Гилевская, В. И. Куликовская. *Химическая безопасность*. 2019. Т. 3, № 2. С. 67–77.

7. 'Green' approach for obtaining stable pectin-capped silver nanoparticles: physico-chemical characterization and antibacterial activity. K. Hileuskaya et al. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2020. V. 585. Art. 124141. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.124141>.

8. Получение в водных растворах пектинов стабильных золь наночастиц серебра и их свойства.

Muhanna K. A. Al-Muhanna и др. *Коллоидный журнал*. 2015. Т. 77, № 6. С. 683–690. <https://doi.org/10.1134/S1061933X15060022>.

9. Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев): СанПиН 2.1.2.121-18-2006: утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 31.10.2006 г.

№ 131. Сборник официальных документов по коммунальной гигиене. Ч. 9. Минск, 2006. С. 4–23.

10. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ: инструкция 1.1.11-12-35-2004: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.2004. Минск, 2004. 38 с.

Василькевіч В. М.¹, Міхайлова М. М.¹, Криж Т. І.¹, Богданов Р. В.¹, Гілевська К. С.², Красковський А. Н.² ОЦІНКА ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ ГІДРОЗОЛЕЙ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА, СТАБІЛІЗОВАНИХ ПЕКТИНОМ, НА ОРГАНІЗМ ШУРІВ У ПІДГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТІ

¹Республіканське унітарне підприємство «Науково-практичний центр гігієни», м. Мінськ, Республіка Білорусь

²Державна наукова установа «Інститут хімії нових матеріалів Національної академії наук Білорусі», м. Мінськ, Республіка Білорусь

Вступ. Пріоритетними видами наноматеріалів з точки зору перспективності їхнього застосування в медицині, фармацевтичній і харчовій промисловості, у сільському господарстві, при виробництві споживчих товарів є наночастинки (НЧ) срібла, що мають антимікробні властивості і високу біологічну активність. Різноманіття способів отримання НЧ з різними стабілізаторами призводить до зміни їхніх фізико-хімічних властивостей, що створює нові ризики для людини та навколишнього середовища, які необхідно враховувати при оцінці безпеки.

Мета дослідження – вивчити токсичну дію гідрозолу НЧ срібла, стабілізованих пектином, у підгострому експерименті.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження був гідрозоль НЧ срібла, стабілізованих пектином ($13,0 \pm 7,0$ нм), які синтезовані білоруськими вченими з дотриманням принципів «зеленої хімії». Експерименти виконані на білих щурах при внутрішньошлунковому введенні гідрозолу в дозі 1000 мг/кг в 28-денному експерименті. Після закінчення експерименту визначали ряд інтегральних, гематологічних, імунологічних та біохімічних показників, що характеризують стан окремих систем і органів.

Результати. Протягом експерименту при впливі НЧ срібла, стабілізованих пектином, зовнішні ознаки інтоксикації та загибель тварин були відсутні, що не дозволило розрахувати коефіцієнт кумуляції й свідчить про слабку кумулятивну активність гідрозолу НЧ срібла з пектином (відповідно до класифікації Л. І. Медведя, 1964 р.). Встановлено збільшення активності в сироватці крові глутатіонтрансферази та глутатіонредуктази на 36,4 % і 50,6 % ($p < 0,05$) відповідно. Крім того, спостерігалось збільшення на 17,5 % ($p < 0,05$) вмісту SH-груп, що забезпечують інактивацію вільних радикалів. На тлі розвитку змін з боку антиоксидантної системи спостерігалися відхилення ($p < 0,05$) ряду показників імунної відповіді: підвищення в 2,5 разу рівня специфічного лізису лейкоцитів, величини фагоцитарного резерву та зростання в 2,2 разу інтенсивності відновлення гранулоцитами нітросинього тетразолію у формазан (НСТ-тест).

Висновки. Гідрозоль НЧ срібла, стабілізованих пектином, у підгострому експерименті при внутрішньошлунковому 28-денному введенні в дозі 1000 мг/кг не має кумулятивних властивостей на рівні смертельних ефектів, але спричиняє загальнотоксичну дію з переважними змінами з боку глутатіонової антиоксидантної системи й активацією фагоцитарної та метаболічної активності гранулоцитарно-макрофагальних клітин крові піддослідних тварин.

Ключові слова: наночастинки срібла, пектин, підгостра токсичність, токсикологічні дослідження

Vasilkevich V. M.¹, Mikhailova N. N.¹, Kryzh T. I.¹, Bogdanov R. V.¹, Hileuskaya K. S.², Kraskovski A. N.² EVALUATION OF THE TOXIC INFLUENCE OF HYDROZOL OF SILVER NANOPARTICLES STABILIZED BY PECTIN ON THE RAT ORGANISM IN A SUBSYSTEM EXPERIMENT

¹Republican Unitary Enterprise «Scientific and Practical Centre of Hygiene», Minsk, Republic of Belarus

²State Scientific Institution «Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Republic of Belarus

Introduction. The priority types of nanomaterials from the point of view of the prospects of their use in medicine, pharmaceutical and food industries, in agriculture, in the production of consumer goods are silver nanoparticles with antimicrobial

properties and high biological activity. The variety of methods for producing nanoparticles with various stabilizers leads to the change of their physicochemical properties, which creates new risks for humans and the environment, which should be taken into account when assessing their safety.

The aim of the study was to study the toxic effect of hydrosol of silver nanoparticles stabilized by pectin in a subacute experiment.

Materials and research methods. The object of the study was hydrosol of silver nanoparticles stabilized by pectin ($13,0 \pm 7,0$ nm), which were synthesized by Belarusian scientists in compliance with the principles of «green chemistry». The experiments were performed on white rats with intragastric administration of hydrosol at a dose of 1000 mg/kg in a 28-day experiment. At the end of the experiment, a number of integral and biochemical indicators characterizing the state of separate systems and organs were determined.

Results. In the experiment, when exposed to silver nanoparticles stabilized by pectin, there were no external signs of intoxication and animal death, which did not allow to calculate a cumulation coefficient and indicates a their weak cumulative activity (according to the Classification by L. I. Medved, 1964). The increase in serum activity of glutathione transferase and glutathione reductase by 36,4 % and 50,6 % ($p < 0,05$), respectively, was established. In addition, there was the increase in the content of SH-groups by 17, 5 % ($p < 0,05$), providing inactivation of free radicals. Against the background of development of changes in the antioxidant system, deviations ($p < 0,05$) of a number of indicators of the immune response were observed: 2,5-fold increase in the level of specific leukocyte lysis, the value of the phagocytic reserve, and 2,2-fold increase in the rate of restoration of granulocytes of nitro blue tetrazolium to formazan (HCT test).

Conclusions. Hydrosol of silver nanoparticles stabilized by pectin in a subacute experiment with 28-day intragastric administration at a dose of 1000 mg/kg does not show any cumulative properties at the level of lethal effects, but causes a general toxic effect with primary changes in the glutathione antioxidant system and in activation of phagocytic and metabolic activity of granulocyte macrophage blood cells of experimental animals.

Key words: silver nanoparticles, pectin, subacute toxicity, toxicological studies

References

1. Trakhtenberg I. M. (2013), Nanochastitsy metallov, podkhody i metody otsenki ikh toksichnosti [Metal nanoparticles, approaches and methods for assessing their toxicity], In: Collection of papers, IV Congress of toxicologists of Russia, Moscow, Russia.
2. Gmoshinsky I. V., Shipelin V. A., Khotimchenko S. A. (2018), «Nanomaterials in food products and their packaging: a comparative analysis of risks and benefits», *Analiz riska zdorov'yu*, 4, 134–138. <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.4.16.eng>.
3. Rakhmanin Yu. A. et al. (2014), «Comparative analysis of the effect of nano- and ionic forms of silver on the biochemical parameters of laboratory animals», *Gigiyena i sanitaria*, 1, 45–50.
4. Kovalyeva N. Yu., Rayevskaya E. G., Roshchin A. V. (2017), «Safety issues of nanomaterials: nanosafety, nanotoxicology, nanoinformatics», *Khimicheskaya bezopasnost*, 1 (2), 44–87.
5. Tiwari D. K., Jin T., Behari J. (2011), «Dose-dependent *in-vivo* toxicity assessment of silver nanoparticle in Wistar rats», *Toxicology Mechanisms and Methods*, 21 (1), 13–24. <https://doi.org/10.3109/15376516.2010.529184>.
6. Vasilkevich V. M., Mikhailova N. N., Hileuskaya K. S., Kulikovskaya V. I. (2019), «On the toxic properties of the hydrosol of silver nanoparticles stabilized by pectin», *Khimicheskaya bezopasnost*, 3 (2), 67–77.
7. Hileuskaya K. et al. (2020), «Green' approach for obtaining stable pectin-capped silver nanoparticles: physico-chemical characterization and antibacterial activity», *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 585. Art. 124141. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.124141>.
8. Muhanna K. A., Al-Muhanna. (2015), «Obtaining stable sols of silver nanoparticles in aqueous pectin solutions and their properties», *Kolloidnyi zhurnal*, 77 (6), 683–690. <https://doi.org/10.1134/S1061933X15060022>.
9. Ministry of Health of Belarus. (2006), The device, equipment and maintenance of experimental biological clinics (vivariums), Sanitary rules and norms (SanPiN 2.1.2.121-18-2006), approved by the Resolution of the Ministry of Health of Belarus, No. 131, In: Collection of official documents on communal hygiene, Part 9, 4–23, Minsk, Belarus.
10. Ministry of Health of Belarus. (2004), Trebovaniya k postanovke eksperimental'nykh issledovaniy dlya pervichnoy toksikologicheskoy otsenki i gigiyenicheskoy reglamentatsii veshchestv [Requirements for the formulation of experimental studies for the initial toxicological assessment and hygienic regulation of substances], Instructions 1.1.11-12-35-2004, Approved on 14.12.2004, Minsk, Belarus.

ORCID ID соавторов и их вклад в подготовку и написание статьи:

Василькевич В. М. (ORCID ID 0000-0002-6461-0655) — постановка цели, задачи, выбор методов исследования, анализ и интерпретация результатов исследований, формулирование выводов, написание статьи;

Михайлова Н. Н. (ORCID ID 0000-0002-8643-1260) — написание введения, поиск и оформление литературных источников, проведение иммунологических исследований, статистическая обработка экспериментальных данных, оформление их в статье в виде таблицы, написание реферата;

Крыж Т. И. (ORCID ID 0000-0003-1174-6863) — проведение физиологических, биохимических и иммунологических исследований, оформление первичных данных, статистическая обработка данных;

Богданов Р. В. (ORCID ID 0000-0003-3655-4155) — анализ и интерпретация результатов исследования, формулирование выводов;

Гилевская К. С. (ORCID ID 0000-0002-3121-0014) — постановка цели и задач, написание введения;

Красковский А. Н. (ORCID ID 0000-0002-4626-4533) — написание введения, подготовка статьи к печати.

Информация об источниках финансирования исследования: исследование выполнено в рамках ОНТП

«Гигиеническая безопасность», задание 02.03 «Разработать метод токсикологического изучения и оценки опасности наноразмерных объектов и структур на основе металлов и их соединений», № госрегистрации 20191607.

Надійшла: 3 лютого 2020 р.

Прийнята до друку: 28 лютого 2020 р.

Контактна особа: Василькевич Вадим Михайлович, кандидат медичних наук, лабораторія промислової токсикології, республіканське унітарне підприємство «Науково-практичний центр гігієни», буд. 8, вул. Академічна, м. Мінськ, Республіка Білорусь, 220012. Тел.: + 37517284 13 91. Електронна пошта: sabas2004@mail.ru