

К ВОПРОСУ О ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ КОЛЛОИДНОГО РАСТВОРА

Е.Н. Петрицкая, Л.Ф. Абаева, Д.А. Рогаткин, К.С. Литвинова, М.А. Бобров

ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)

Приводятся результаты экспериментов по определению токсичности коллоидного раствора серебра при пероральном введении экспериментальным животным. Первые итоги указывают на отсутствие токсического воздействия наночастиц серебра. Описаны экспериментальные данные, отражающие состояние здоровья животных, репродуктивную функцию через месяц после начала приема наночастиц.

Ключевые слова: наночастицы, нанотехнологии, токсичность, биологические маркеры, нанопрепараты.

ON THE PROBLEM OF SILVER NANOPARTICLES TOXICITY AFTER ORAL ADMINISTRATION OF COLLOIDAL SOLUTION

E.N. Petritskaya, L.F. Abaeva, D.A. Rogatkin, K.S. Litvinova, M.A. Bobrov

M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)

The results of experiments to determine the toxicity of colloidal silver solution when administered orally to experimental animals are presented in the article. The first findings indicate the absence of toxic effect of silver nanoparticles. The experimental data reflect animal health and their reproductive function a month later the start of nanoparticle administration.

Keywords: nanoparticles, nanotechnology, toxicity, biological markers, nanomedicine.

В настоящее время в мире широко проводятся исследования и ведутся разработки по развитию нанотехнологий. Соответственно, немаловажным является и изучение вопроса потенциальной опасности использования наноматериалов и нанотехнологий, а также определение критериев их безопасности для здоровья человека, особенно рабочих, занятых в производстве наночастиц [6, 10]. Согласно данным литературы, наночастицы, благодаря своим малым размерам, легко проникают в организм человека и животных через защитные барьеры (эпителий, слизистые и пр.), респираторную систему, желудочно-кишечный тракт [5, 7]. Возможные биологические эффекты поступления наноматериалов в организм через желудочно-кишечный тракт изучены пока недостаточно. Имеются данные, свидетельствующие о том, что различные вещества и материалы при переводе их в форму наночастиц значительно изменяют свои физико-химические свойства, что может отразиться на их физиологических эффектах в процессе всасывания [10].

На основе коллоидного серебра выпускаются различные препараты (повиаргол, арговит, аргогель,

аргоника, сиал-С, протаргол) с антибактериальным, противовирусным и противогрибковым действием. Они применяются в медицине как антисептические средства при лечении гнойно-воспалительных и других заболеваний. В настоящее время наночастицы серебра нашли широкое применение в косметической и пищевой промышленности, в различных фильтрах для очистки воды. Коллоидное наносеребро состоит из наночастиц, взвешенных в воде, оно может содержать стабилизатор коллоидной системы. Целью нашего исследования явилось проведение оценки безопасности перорального введения наночастиц коллоидного серебра.

По сравнению с серебром макроразмеров его наночастицы могут потенциально проявлять гораздо большую токсичность. Механизм ее развития может быть связан с окислительным стрессом, нарушением функций митохондрий и увеличением проницаемости мембраны [4]. Однако ингаляционное воздействие наночастицами серебра в концентрации от $1,73 \times 10^4$ до $1,23 \times 10^6$ частиц/см³ ($3,14 \times 10^{-7}$ – $2,23 \times 10^{-5}$ мг/л) в течение месяца не выявило значимых изменений в массе тела и биохимических показателях крови. Это соответству-

ет требованиям американской конференции (ACGIH), установившей предельно допустимую концентрацию наночастиц серебра в воздухе – $2,16 \times 10^5$ частиц/см³ ($3,93 \times 10^5$ мг/л) [10].

Тем не менее, вопрос о токсичности наночастиц серебра остается открытым. Экспериментальные данные, полученные различными авторами об их влиянии, довольно противоречивы. Нет пояснения, каким путем, какое время и какую концентрацию наночастиц серебра вводили животным. Так, одни авторы утверждают, что LD50 для мышей должна быть 3000 мг/кг, другие – 11600 мг/кг, третьи – 4500 мг/кг [2, 8]. Ряд исследователей [5, 8] отмечали, что у подопытных животных происходило накопление наночастиц серебра в тканях организма при получении его с питьевой водой в дозах 20-50 мг/л. По данным А.П. Ильина и соавт. [3], LD100 при внутрибрюшном введении мышам (2 мл) составляет 500 мг/кг. По данным В.А. Бурмистрова [2], при внутрибрюшинном введении мышам растворов арговита и протаргола максимально предельная доза составляла для арговита 200 мг/кг, протаргола – 50 мг/кг, а LD50 – 700 мг/кг и 180 мг/кг соответственно. Поэтому мы решили оценить токсичность коллоидного раствора наночастиц серебра применительно к его пероральному введению животным.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В нашем исследовании были использованы наночастицы серебра, полученные импульсным электродуговым методом. В эксперименте применялось коллоидное серебро «Серебряный щит» производства ООО «Фрактал-М» с концентрацией наночастиц 25, 50 и 100 мг/л. Определение формы и размера наночастиц серебра проводили оптическим методом и различными видами микроскопии на предприятии-изготовителе (ООО «Фрактал-М»). К коллоидному раствору наночастиц серебра выдвигались следующие требования:

- известная начальная концентрация;

- устойчивость этой концентрации на время проведения эксперимента;
- отсутствие других примесей в растворе.

Опытным путем было установлено, что максимальная концентрация раствора, удовлетворяющая данным требованиям и имеющая седиментационную и агрегативную устойчивость более 5 месяцев, составляет 50 мг/л. С помощью оптических методов установлено, что концентрация раствора в 50 мг/л за полгода уменьшается не более чем на 10%. За тот же период концентрация 100 мг/л падает более чем на 40%, поэтому длительность нашего эксперимента была 4 недели. Уменьшение концентрации происходит из-за образования агломератов и выпадения их в осадок. Причем этот процесс развивается тем интенсивнее, чем больше концентрация и, соответственно, меньше расстояние между наночастицами в растворе. Добиться устойчивых растворов с концентрацией более 100 мг/л можно с помощью добавления различных поверхностно-активных веществ. Однако такие вещества могут внести ошибку в эксперимент по определению токсичности наночастиц для мышей.

Ставилась задача – оценить токсичность данного раствора серебра в разных концентрациях при ежедневном его приеме лабораторными животными вместо питьевой воды в течение месяца. Для этого на первом этапе исследования (спустя 1 месяц) оценивалось состояние здоровья животных (внешний вид, вес, аппетит, поведение) и газы крови. Второй этап исследования включал изучение репродуктивной функции и здоровья потомства.

Исследование токсичности наночастиц серебра проводили на трехнедельных нелинейных мышамсамках ICR весом 11-13 г. Животные были разделены на четыре группы: в первой из них использовали концентрацию 100 мг/л, во второй – 50 мг/л, в третьей – 25 мг/л, четвертая группа была контрольной. В каждой группе было по 5 мышей. Раствор наночастиц серебра давали вместо питьевой воды в течение месяца (рис. 1), ежедневно регистрируя вес и количество выпитой жидкости во всех трех группах.



Рис. 1. Экспериментальные мыши

Одна мышь в среднем выпивала за день 2,36 мл без достоверной разницы между группами, что соответствует физиологической норме. Животные получали суточные нормы кормовых продуктов. В среднем первая группа животных получила 8,125, вторая – 16,75, третья – 32 мг наночастиц серебра в течение месяца, что соответствует поглощенной дозе 54,1; 111,6 и 213,3 мг/кг на 1 кг веса животного (в пересчете на одну мышь – 1,8; 3,7 и 7,1 мг/кг в день). По окончании эксперимента всех животных забивали с помощью эфира. Извлекали сердце, печень, почки и селезенку, определяли их массу. Затем органы фиксировали в параформине для дальнейшего гистологического анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о нормальном приросте массы тела животных во всех четырех группах на 13-16 г (до 24-30 г) (рис. 2).

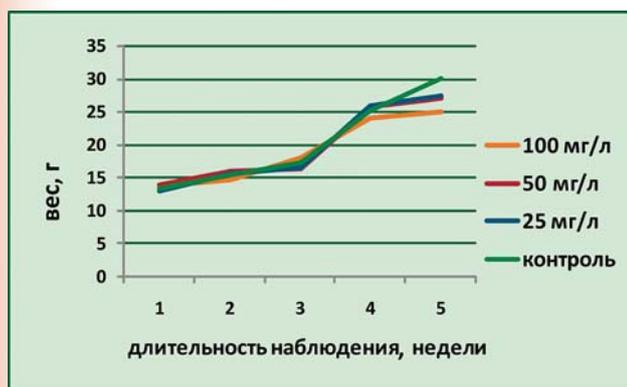


Рис. 2. Набор веса у контрольных и опытных мышей после приема наночастиц серебра с разными концентрациями

Внешний вид и поведение экспериментальных и контрольных животных практически не различались. Во второй и третьей группе в конце месяца было отмечено небольшое снижение рН крови в сторону ацидоза, уменьшение pO_2 и насыщения крови кислородом на 10% с повышением pCO_2 . Содержание гемоглобина при этом оставалось без изменений. При повышении уровня pCO_2 снижается насыщение крови кислородом, что можно объяснить фактором уменьшения сродства гемоглобина к кислороду в условиях падения рН. Нарушение кислотно-щелочного равновесия можно расценить и как токсическое влияние наночастиц серебра на почки, которые в основном регулируют это равновесие в организме путем выведения избытка органических и неорганических кислот. В основе токсического действия наночастиц серебра, по данным литературы [5, 8], лежит интенсификация процессов перекисного окисления липидов. Это объясняется, в первую очередь, взаимодействием наночастиц се-

ребра с остатками двух канонических аминокислот в составе ряда белков и пептидов, в результате чего нарушаются функции митохондрий и увеличивается проницаемость мембраны [5].

На втором этапе исследования проводилось изучение влияния наночастиц серебра на репродуктивную функцию самок, состояние здоровья и количество полученного потомства в группах животных, получавших наночастицы. Надо отметить, что во всех четырех группах не выявлено достоверного различия по количеству и состоянию здоровья приплода (в среднем от 7 до 9 детенышей) в первом и втором потомстве. Внешний вид и поведение животных не отличались от приплода в контрольной группе. Приросты массы тела подопытных животных в первом и втором поколениях различались незначительно (рис. 3 и 4).



Рис. 3. Набор веса у животных первого поколения

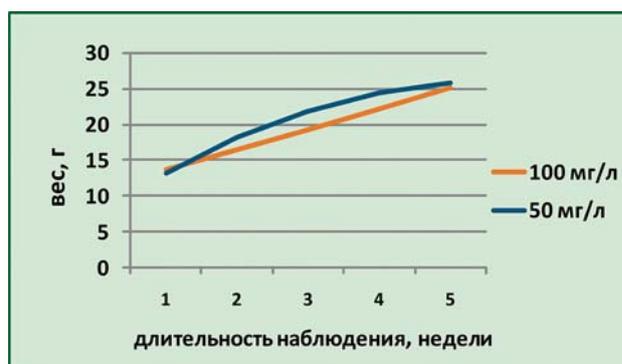


Рис. 4. Набор веса у животных второго поколения

При анализе гистологических препаратов сердца, печени, почек и селезенки животных никаких патологических изменений не отмечено. Анализ перечисленных выше органов показал отсутствие достоверных изменений в контрольной и экспериментальных группах. В качестве примера на рис. 5 представлены гистологические препараты печени мышей контрольной и экспериментальной групп.

Таким образом, полученные данные о влиянии коллоидного наносеребра на организм экспериментальных животных указывают на отсутствие его токсич-

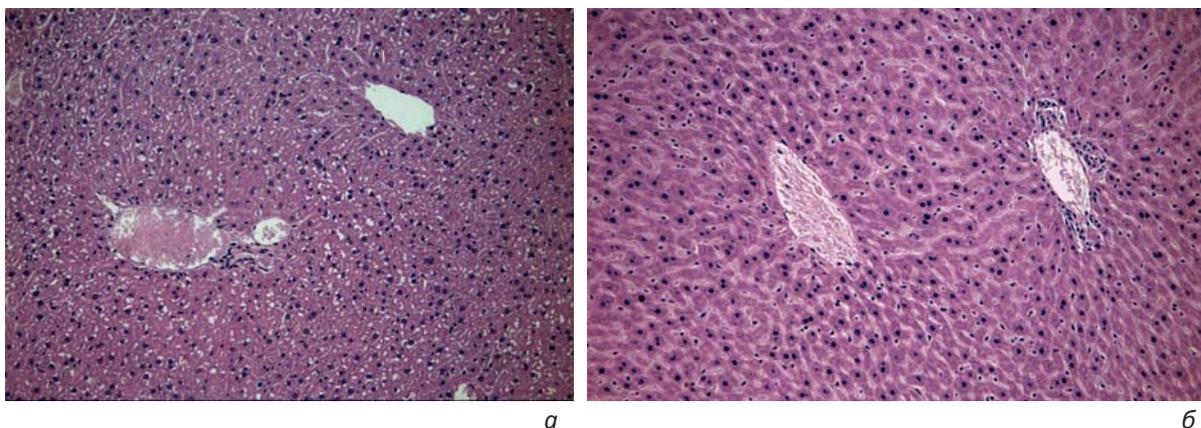


Рис. 5. Гистология клеток печени: а – контроль; б – экспериментальная группа

ческого воздействия. Следует отдельно отметить, что поглощенные дозы наночастиц серебра в нашем эксперименте (54,1; 111,6 и 213,3 мг/кг) резко отличаются от больших доз, указанных в литературе (от 3000 до 11600 мг/кг) [1, 7]. Для достижения таких больших дозировок при пероральном введении животные должны были бы пить исследуемый раствор 3-3,5 года, так как у мыши желудок вмещает только 1-1,5 мл жидкости, а средняя продолжительность ее жизни – 1,5-2,5 года. Раствор коллоидного серебра более высокой концентрации получить можно, однако он будет седиментационно и агрегативно неустойчив на время проведения эксперимента, или же при изготовлении раствора необходимо будет использовать поверхностно-активные вещества, которые могут повлиять на эксперимент и исказить токсичность. Поэтому непонятно, как можно достичь указанных дозировок при пероральном введении [1, 7]. Кроме того, такие дозировки оказываются неактуальными для человека, так как невозможно реально представить себе ситуацию постоянного потребления человеком внутрь концентрированных растворов коллоидного серебра на протяжении длительного времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Александрова Г.П., Грищенко Л.А., Фадеева Т.В. и др.* Дизайн наноразмерных биоконструкций серебра для создания новых антимикробных средств // *Вестн. рос. военно-мед. академии.* СПб., 2008. С.484-485.
2. *Бурмистров В.А.* Кластерное серебро // *Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины: Материалы науч.-практ. конф.* Новосибирск, 2007. С.65.
3. *Ильин А.П., Коршунов А.В., Толбанова Л.О. и др.* Биологическая активность нанопорошковых металлов, полученных с помощью электрического взрыва проводников // *Журн. прикл. химии.* 2002. №3. С.359.
4. *Козлов В.И., Гурова О.А., Литвин Ф.Б. и др.* Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке ритмов колебаний кровотока в системе микроциркуляции // *Полупроводниковые и твердотельные лазеры в медицине 2000: Тез. докл. III междунар. симпозиума.* СПб., 2000. С.123.
5. *Мосин О.В.* Физиологическое воздействие наночастиц серебра на организм человека // *NanoWeek.* 2008. №3. С.34-37.
6. *Петрицкая Е.Н., Абаева Л.Ф., Розаткин Д.А. и др.* Проблемы токсичности наночастиц серебра при пероральном введении коллоидного раствора // *Альманах клинической медицины.* М., 2010. №22.
7. *Allsopp M., Walters A., Santino D.* Nanotechnologies and nanomaterials in electrical and electronic goods: A review of uses and health concerns // *Greenpeace research laboratories.* London, 2007.
8. *Alt V., Bechert Th., Steinrücke P. et al.* An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement // *Biomaterials.* 2004. V.25, Issue 18. P.4383-4391.
9. *Ji J.H.* Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats // *Inhal. Toxicol.* 2007. V.19, Issue 10. P.857-871.
10. *Lewinski N., Colvin V., Drezek R.* Cytotoxicity of Nanoparticles // *Small J.* 2008. V.4, No.1. P.26-49.