

# ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И КУМУЛЯТИВНЫХ СВОЙСТВ ТОНКОПЛЕНЧНЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ (IN VIVO И IN VITRO)

*Комиссарова Е. В.*

*Научный руководитель: ст. преп. Лепешко П. Н.*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

**Резюме.** Проблема распространения патогенных и условно-патогенных штаммов микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью, признанная ВОЗ глобальной угрозой, требует разработки принципиально новых антимикробных стратегий. Одним из наиболее перспективных направлений в этой области являются нанотехнологии, а именно применение наночастиц, обладающих выраженной антибактериальной активностью. В рамках данного направления в представленной работе изучались токсикологические свойства ультратонких покрытий на основе биополимеров хитозана, пектина и наноразмерного серебра.

**Ключевые слова:** токсичность, кумулятивные свойства, биополимеры, хитозан, пектин, наночастицы серебра.

**Актуальность.** Проблема роста и распространения бактериальных штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) в последние десятилетия усугубляется как бесконтрольным использованием антибиотиков, так и сокращением разработки новых классов антибактериальных препаратов [1]. Эти тревожные тенденции признаются ВОЗ одной из серьезных угроз для глобального общественного здравоохранения. В этой связи повышается актуальность масштабного поиска и изучения новых антимикробных стратегий, альтернативных традиционной антибиотикотерапии.

Революционным инструментом такого подхода стала наномедицина, а именно использование наночастиц (НЧ) в качестве систем контролируемой доставки и самостоятельных терапевтических агентов [2].

Особое внимание в последнее время уделяется наночастицам серебра (НЧ Ag), которые демонстрируют выраженные многовекторные антимикробные эффекты, связанные с взаимодействием с компонентами бактериальной мембраны и индукцией окислительного стресса, что приводит к повреждению клеточной стенки [3]. Однако для их успешного применения в клинической практике критически важны низкая токсичность, биосовместимость и экологичность синтеза. В полной мере этим требованиям отвечают биополимеры хитозан и пектин, выступающие в роли эффективных стабилизаторов для НЧ Ag. При этом, хитозан вносит дополнительный эффект, проявляя собственную активность и усиливая действие антибиотиков [4].

Таким образом, перспективность создания антимикробных

материалов на основе синергитичного комплекса наночастиц серебра с биополимерной матрицей хитозана и пектина обуславливает необходимость их всесторонней доклинической оценки. Настоящее исследование посвящено решению первоочередной задачи в этом направлении – экспериментальному определению показателей острой и подострой токсичности (кумулятивных свойств) данных наноматериалов.

**Цель:** определение острой и подострой токсичности ультратонких покрытий на основе биополимеров хитозана и пектина и наноразмерного серебра.

**Задачи:**

1. Изучить параметры острой токсичности ультратонких покрытий на основе биополимеров хитозана и пектина при разных путях введения.

2. Изучить в подостром эксперименте на лабораторных животных особенности биологического действия ультратонких покрытий на основе биополимеров хитозана и пектина.

3. Сформулировать заключение о перспективах безопасного применения и целесообразности дальнейшей разработки композиционных материалов на основе биополимеров хитозана и пектина.

**Материалы и методы.** Объект для исследований: ультратонкие покрытия на основе биополимера хитозана и наноразмерного серебра:

– (образцы №1 и №2) – Хит4/пект10 и Хит4/пектAg10;

– (образцы №3 и №4) – Хит5/пект10 и Хит5/пектAg10.

Для токсикологических исследований из образцов №1, №2, №3 и №4

готовили модельные растворы (экстракты в дистиллированную воду) согласно рекомендациям, которые изложены в ISO 10993-12:2007. Условия моделирования (экстракции) –  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение  $72 \pm 2$  ч, соотношение массы образца к объему модельной среды (m/V) – 0,1 г/мл. Класс опасности исследуемого нанокомпозита определяли на основании полученных результатов по Согласованной на глобальном уровне системе классификации опасности и маркировки химической продукции СГС (GHS) [5] и ГОСТ 12.1.007-76 [6].

Экспериментальная часть работы выполнена на беспородных белых крысах. Условия содержания животных соответствовали требованиям Санитарных правил и норм 2.1.2.12-18-2006 об устройстве, оборудовании и содержании экспериментально-биологических клиник (вивариев) [7] и содержались на стандартном рационе вивария. Экспериментальные группы животных формировали методом случайной выборки с учетом массы тела в качестве определяющего показателя, при этом разность в массе тела животных составляла не более 10 %. При проведении экспериментов ежедневно наблюдали за общим состоянием животных, а также использовали комплекс физиологических, общеклинических, гематологических и биохимических методов и тестов.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием программы Microsoft Excel, STATISTICA 10,0 и критерия Манна-Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** Однократное внутрижелудочное

введение образцов № 1–4 в дозах 2000 мг/кг, а также однократное внутрибрюшинное введение в дозе 1500 мг/кг белым крысам не вызывали клинических симптомов интоксикации и гибели животных. По окончании эксперимента органы умерщвленных животных при макроскопическом осмотре не имели патологических особенностей и не отличались от таковых у животных контрольной группы.

Подострое внутрижелудочное введение нанокompозита (образец № 2) в максимальной дозе 1000 мг/кг/день (28 введений) не вызывало у животных развития клинических признаков интоксикации. По окончании эксперимента у животных контрольной и опытной групп проведено изучение комплекса клинико-диагностических показателей, представленных в таблице 1.

**Табл. 1.** Клинико-диагностические показатели лабораторных животных по изучению кумулятивной активности

Исследуемые показатели	Контрольная группа	Опытная группа	Исследуемые показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Тест «открытое поле»					
Количество актов дефекации, усл. ед.	1,0 (0–1,25)	1,0 (0,25–1,0)	Количество эпизодов фризинга, усл. ед.	0 (0–1,0)	1,0 (0–1,0)
Количество случаев груминга, усл. ед.	2,0 (1,75–2,0)	1,0 (0,25–1,0)	Количество вертикальных стоек, усл. ед.	1,0 (0–2,0)	7,0 (5,25–9,75)*
«Норковый» рефлекс, усл. ед.	1,0 (1,0–1,5)	2,0 (0,25–3,0)	Горизонтальная активность, усл. ед.	5,50 (2,0–6,5)	18,0 (13,0–22,0)*
Биохимические показатели крови					
Альбумин, г/л	28,70 (27,30–30,80)	28,70 (26,60–31,10)	Глюкоза, моль/л	8,00 (7,65–8,49)	8,355 (7,935–8,89)
Щелочная фосфатаза, Ед/л	377,30 (318,20–428,90)	379,35 (331,90–454,60)	Железо, мкмоль/л	30,68 (24,82–34,96)	32,75 (26,21–40,23)
АЛТ, Ед/л	78,00 (70,20–81,80)	84,90 (81,05–90,70)	Лактатдегидрогеназа, Ед/л	1870,00 (1697,00–2203,00)	2173,50 (2072,50–2265,00)
АСТ, Ед/л	290,40 (249,20–336,60)	308,10 (300,45–332,70)	Общий белок, г/л	74,40 (71,30–77,60)	77,80 (74,15–82,05)
Билирубин общий, ммоль/л	6,10 (5,10–6,50)	3,60 (3,20–4,10)*	Триглицериды, ммоль/л	1,784 (1,650–2,157)	1,984 (1,856–2,108)
Кальций, ммоль/л	2,78 (2,67–3,13)	2,715 (2,46–2,945)	Мочевина, ммоль/л	4,96 (4,48–5,07)	5,27 (4,71–6,05)
Холестерин, ммоль/л	1,29 (1,17–1,42)	1,55 (1,35–1,715)	Мочевая кислота, ммоль/л	32,00 (21,00–71,00)	86,00 (66,50–170,50)*

Продолжение таблицы 1

Изучаемые показатели	Контрольная группа	Опытная группа	Изучаемые показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Креатинин, мкмоль/л	34,10 (21,70–35,30)	33,95 (31,05–37,25)			
Гематологические показатели крови					
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	15,90 (14,60–19,40)	18,80 (15,05–19,95)	Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	11,80 (10,50–14,10)	12,60 (10,70–14,45)
Лимфоциты, %	72,20 (68,00–75,30)	69,90 (66,85–74,40)	Моноциты, 10 <sup>9</sup> /л	1,60 (1,40–1,90)	2,25 (2,00–2,55)
Моноциты, %	10,80 (7,70–11,50)	13,45 (11,20 - 14,55)*	Гранулоциты, 10 <sup>9</sup> /л	3,10 (2,40–3,70)	3,00 (2,75–3,70)
Гранулоциты, %	18,70 (17,00–21,00)	15,70 (14,40–19,55)	Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	7,54 (7,22–7,95)	7,66 (7,37–8,19)
Гемоглобин, г/л	149,00 (147,0–153,0)	148,50 (146,5–159,5)	Гематокрит, л/л	0,3920 (0,383–0,395)	0,3865 (0,383–0,412)
Показатели общего анализа мочи					
Билирубин, мг/100 мл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	Глюкоза, мг/дл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
Уробилиноген, мг/100 мл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	Кровь, в 1 мкл	10,0 (10,0-20,0)	10,0 (7,5-20,0)
Кетон, мг/100 мл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	Нитриты, мг/100 мл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-1)
Аскорбиновая кислота, мг/100 мл	0,0 (0,0-0,0)	20,0 (15,0-25,0)*	Лейкоциты, в 1 мкл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
pH мочи, ед. pH	6,0 (6,0-6,0)	6,0 (6,0-6,0)	Относительная плотность, ед.	1,022 (1,021-1,023)	1,021 (1,020-1,023)
Белок, мг/дл	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)			
* статистически значимые различия с контролем по критерию U при p < 0,05					

Со стороны поведенческих показателей наблюдалось увеличение количества вертикальных стоек и горизонтальной активности в тесте «открытое поле» на фоне контроля в 7,0 и 3,2 раза, соответственно, при  $p < 0,05$ .

При изучении состава периферической крови выявлено статистически значимое увеличение процентного содержания моноцитов ( $p < 0,05$ ).

Воздействие образца № 2 характеризовалось ростом концентрации

общего билирубина в сыворотке крови лабораторных животных (в 1,69 раза в сравнении с контрольной группой животных, при  $p < 0,05$ ) и концентрации мочевой кислоты (в 2,7 раза, при  $p < 0,05$ ). Статистически значимых изменений показателей общего анализа мочи у лабораторных животных не выявлено.

#### Выводы:

1. Изученные нанокompозиты (образцов № 1–4) при однократном

внутрижелудочном введении в максимальной дозе не вызывали гибели животных и признаков интоксикации; не требуют классификации и маркировки согласно требований СГС (GHS) как опасная химическая продукция по степени воздействия на организм человека при данном пути поступления; по классификации ГОСТ 12.1.007-76 могут быть отнесены к веществам малоопасным (IV класс опасности);

2. Тестирование нанокompозитов при однократном внутрибрюшинном введении в дозе 1500 мг/кг не приводило к гибели и признакам интоксикации животных, что позволяет отнести изученные нанокompозиты по степени токсичности к относительно безвредным (VI класс токсичности) по ТКП 125-2008 (02040) [8];

3. Подострое внутрижелудочное введение нанокompозита (образец № 2) в максимальной дозе 1000 мг/кг/день не вызывало у животных

случаев гибели на протяжении всего эксперимента (28 введений), что указывает на слабую кумулятивную активность.

4. Кумуляция на уровне функциональных токсических эффектов проявилась изменениями поведенческой активности подопытных животных, также установлены статистически значимое увеличение массы, рост сывроточной концентрации общего билирубина. Данные изменения в ответ на высокодозовое повторное воздействие нанокompозита можно расценивать как незначительные и принимать за адаптивные проявления общетоксического характера.

5. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о перспективах безопасного применения композиционных материалов на основе биополимеров хитозана и пектина.

### Литература

1. Lawrowa, A. D. Antibiotikaresistenz als globales Problem des 21. Jahrhunderts / A. D. Lawrowa, E. E. Mazkewitsch // 28 ноября 2024 года. – P. 255-258.
2. Андрюков, Б. Г. Нанотехнологии в свете современных антибактериальных стратегий (обзор) / Б. Г. Андрюков // Здоровье населения и среда обитания. – 2021. – № 5. – С. 67–77.
3. Букина, Ю. А. Антибактериальные свойства и механизм бактерицидного действия наночастиц и ионов серебра / Ю. А. Букина, Е. А. Сергеева // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т. 15, № 14. – С. 170–172.
4. Selective antimicrobial activity of chitosan on beer spoilage bacteria and brewing yeasts / G. Gil [et al.] // Biotechnol. Lett. – 2004. – Vol. 26, № 7. – P. 569–574.
5. Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://unece.org/transport/standards/transport/dangerous-goods/ghs-rev9-2021>. – Дата доступа: 11.11.2025.
6. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности : ГОСТ 12.1.007-76. – Введ. 01.01.77 // Система стандартов безопасности труда. Ч. 1. – Минск, 2008. – С. 183–187.
7. Об утверждении Санитарных норм и правил «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: Microsoft Word - viv\_SanPin 2.1.2.12.-18-2006 Постановление Министерства

Здравоохранения Республики Беларусь, 31 октября 2006 г № 131//Национальный правовой интернет-портал Республики Беларусь. Дата доступа 11.11.2025

8. Надлежащая лабораторная практика : ТКП 125-2008 (02040). – Введ. 01.05.2008 // Сборник нормативных документов. – Минск, 2011. – 35 с.

## **STUDY OF ACUTE TOXICITY AND CUMULATIVE PROPERTIES OF THIN-FILM ANTI-BACTERIAL MATERIALS IN A TOXICOLOGICAL EXPERIMENT (IN VIVO AND IN VITRO)**

*Komissarova E. V.*

*Tutor: senior lecturer Liapioshka P. N.*

*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Resume.** The problem of the spread of pathogenic and conditionally pathogenic strains of microorganisms with multiple drug resistance, which is recognized by the WHO as a global threat, requires the development of fundamentally new antimicrobial strategies. Nanotechnology, in particular, the use of nanoparticles with pronounced antibacterial activity, is a promising area. In this work, the toxicological properties of ultra-thin coatings based on the biopolymers chitosan, pectin, and nanosized silver were studied.

**Keywords:** toxicity, cumulative properties, biopolymers, chitosan, pectin, silver nanoparticle.