

TOXICITATEA CRONICĂ A NANOPARTICULELOR DE ARGINT

Ivan Pavlovski – master şt. farm.¹, Veaceslav Gonciar – prof. univ., dr. hab. şt. med.¹,

Corina Scutari – confer. univ., dr. şt. med.¹, Ecaterina Pavlovski – medic-rezident¹,

Eduard Borovic – confer. cercet., dr. şt. med.²,

¹USMF „Nicolae Testemiţanu”, Chişinău, Republica Moldova,

²IMSP Institutul de Medicină Urgentă

E-mail: ian_pavlovski@mail.ru Tel: 079304632

Rezumat

Proprietăţile unice fizice şi chimice ale nanoparticulelor de argint le face candidaţi excelenţi pentru o serie de scopuri în domenii diverse, însă ritmul utilizării materialelor nanometrice este într-o creştere rapidă, iar efectele lor ecotoxicologice posibile fiind încă neevaluate cu exactitate. Se necesită determinarea perspectivelor de evoluţie a aplicaţiilor nanoargintului în medicină fiind una dintre cele mai atractive nanomateriale pentru aplicaţii de comercializare. Această lucrare încearcă oferirea unei înţelegeri globale ale efectelor şi posibilelor consideraţii toxicologice ale Ag NP atât pentru animale, cât şi pentru umanitate.

Cuvinte-cheie: toxicitate cronică, nanoparticule de argint, efecte ecotoxicologice

Summary. Chronic toxicity of silver nanoparticles

The unique physical and chemical properties of silver nanoparticles make them excellent candidates for a variety of purposes in various fields, but the rhythm of using nanoscale materials is rapidly growing and possible ecotoxicological effects, are still unrated exactly. It requires determining the prospects for nanosilver applications in medicine as one of the most attractive trading nanomaterials for applications. This paper attempts to provide a comprehensive understanding of the effects and the possible toxicological considerations of the silver nanoparticles both for animals and for humanity.

Key words: chronic toxicity, silver nanoparticles, ecotoxicological effects

Резюме. Хроническая токсичность наночастиц серебра

Уникальные физические и химические свойства наночастиц серебра делают их отличными кандидатами для различных целей в различных областях, но темпы использования наноразмерных материалов являются быстро растущими, а их возможные экотоксикологические эффекты все еще недостаточно точно оценены. Это требует определения перспектив развития применения наносеребра в медицине в качестве одного из наиболее коммерчески привлекательных наноматериалов. Эта статья пробует предоставить всестороннее понимание эффектов и возможных токсикологических аспектов наночастиц серебра, как для животных, так и для человечества.

Ключевые слова: хроническая токсичность, наночастицы серебра, экотоксикологические эффекты

Introducere

În ultimii ani explozia de boli infecţioase emergente a devenit o povară semnificativă asupra economiei globale şi a sănătăţii publice. Transmiterea în comunitate a patogenilor infecţioşi au provocat epidemii de boli cum ar fi: gripa (A / H5N1), diareea (Escherichia coli), holera (Vibrio holera) etc. în întreaga lume. Pentru prevenirea epidemiilor au fost propuse tratamente complexe a mediilor ce conţin agenţi patogeni infecţioşi, folosind nanomateriale dezinfectante avansate. Printre aceste nanomateriale se numără şi nanoparticulele de argint (AgNP) cu proprietăţi unice de activitate antimicrobiană înaltă, ce au atras un interes deosebit din partea oamenilor de ştiinţă.

Proprietăţile medicale ale Ag sunt cunoscute de mai mult de 2000 de ani. În prezent, AgNP sunt utilizate în calitate de agenţi antibacterieni/antifungici/antivirali/antiinflamatori, în biotehnologie şi bioinginerie, inginerie textilă, electronică, bio-sensing, industria alimentară, vopsele, produsele de protecţie

solară, produse cosmetice, dispozitive medicale, în prelucrarea apei, precum şi în calitate de produse de larg consum [1, 6].

Prezintă interes sporit includerea AgNP într-o gamă largă de dispozitive medicale, precum matrice osoasă (ciment osos), instrumente chirurgicale, măşti chirurgicale, pansamente pentru plăgi, creme antibacteriene, implante cardiovasculare, catetere, materiale dentare, în biodiagnostic.

Nanoparticulele din argint sunt particule cu dimensiunea cuprinsă între 1 nm şi 100 nm. După cum mărimea particulelor scade, raportul suprafaţă la volum al AgNP creşte dramatic, ceea ce conduce la modificări semnificative ale proprietăţilor fizice, chimice şi biologice.

Proprietăţile unice fizice şi chimice ale AgNP le face candidaţi excelenţi pentru o serie de scopuri în domeniul medical, însă ritmul utilizării materialelor nanometrice este într-o creştere rapidă, iar efectele lor ecotoxicologice posibile fiind încă neevaluate cu



Fig. 1. Evaluarea stării patologice a șoricelilor în cadrul administrării AgNP

exactitate, existând studii și rapoarte care sugerează că nanoargintul ar putea provoca efecte adverse asupra oamenilor, precum și a mediului [2].

Deși, aceste studii tind să sugereze că nanoargintul poate induce toxicitate la ființele vii, trebuie de luat în considerație că studiile privind toxicitatea nanoargintului s-au efectuat în condiții *in vitro* care sunt drastic diferite de cele *in vivo* și la concentrații foarte mari ale particulelor de nanoargint.

Obiectivele lucrării. Înregistrarea toxicității cronice a soluției coloidale de AgNP cu determinarea posibilităților de aplicare a ei în practica medicală.

Material și metode de cercetare. Pentru realizarea obiectivelor lucrării a fost proiectat un studiu preclinic, pentru determinarea toxicității cronice a soluției coloidale de AgNP.

Studiile au fost efectuate în cadrul catedrei Farmacologie și Farmacologie Clinică a USMF "Nicolae Testemițanu" și vivariul USMF "Nicolae Testemițanu".

Pentru realizarea compartimentului experimental au fost utilizați pentru determinarea toxicității cronice 30 șoareci albi, femele, în vârstă de 2-2,5 luni, repartizate câte 10 per fiecare grupă. S-au testat următoarele doze: I grupă: $DL_{50} = 30 \text{ mg/kg}$, a II grupă = 10 mg/kg masă corporală, cu introducere intraperitoneală zilnică, a III grupă = de control, cu supravegherea ulterioară a animalelor.

Au fost supuse observărilor modificările apărute. S-a înregistrat timpul apariției fenomenelor de intoxicație și al decesului animalelor. Vizual s-a determinat tabloul clinic al intoxicației. De asemenea s-a determinat influența asupra eritropoiezei și a sângelui periferic (Fig. 1).

Animalele au fost întreținute în condiții apropiate de cele fiziologic optime. Luând în considerație importanța ritmurilor biologice circadiene, sezoniere etc., la modificarea conținutului, structurii și repartiției componentelor intracelulare a diferitor țesuturi, experimentele au fost efectuate în condiții standarde [3,4].

Cercetările au fost efectuate conform „Recomandărilor metodice cu privire la studiul toxicității generale a substanțelor farmacologice”, aprobate de Comitetul Farmacologic de Stat al MS din Rusia (2005) [5].

Rezultate obținute. Determinarea toxicității cronice a avut drept obiectiv stabilirea modificărilor biologice determinate de substanța cercetată în organismul animalelor la administrarea repetată, timp de 21 zile.

Scopul experimentelor toxicologice cronice a constat în caracteristica gradului efectului dăunător al soluției coloidale de nanoparticule de argint în administrarea sa pe termen lung, identificarea celor mai sensibile organe și sisteme, precum și studierea

gradului de reversibilitate a daunelor provocate de aceasta.

Durata de administrare a substanței farmacologice în studiul toxicității cronice depinde de durata preconizată a cererii în clinică.

Toxicitatea cronică a soluției coloidale de nanoparticule de argint s-a investigat în două doze, în corespondență cu rezultatele obținute în studiile toxicității acute. A fost constituit un grup de control din șoareci ținuti în aceleași condiții ca și subiecții testați. Soluția testată a fost administrată animalelor experimentale 7 zile pe săptămână, timp de 3 săptămâni.

Pe parcursul perioadei de administrare (21 zile), au fost evidențiate devieri în starea generală animalelor într-o măsură variabilă. Șoriceii în mare parte erau în mișcare activă, întrebunțau active hrana și apa. Starea mucoaselor și învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei devia de la culoarea de galben-pal, până la roz cu firicele sangvine. Rezultatele au arătat că șoriceii nu au prezentat modificări semnificative ale greutateii corporale raportate la doza Ag NP în timpul experimentului de 21 de zile.

Administrarea zilnică a preparatului (a soluției coloidale a nanoparticulelor de argint) în doză de 10 mg/kg nu a indus decesul animalelor. Letalitatea șoriceilor în doză de 30 mg/kg a constituit 10% și a survenit în a treia săptămână de administrare a substanței (Tabelul 1).

Tabelul 1

Toxicitatea cronică. Letalitatea șoarecilor albi (femele) pe parcursul experimentului la administrarea intraperitoneală a soluției coloidale de nanoparticule de argint

Grupe	Doze subst. mg/kg	Săptămânile administrării			Decedat	Letalitatea (%)
		1	2	3		
I	30	0	0	1	1	10
II	10	0	0	0	0	0
III	De control	0	0	0	0	0

Influența Ag NP asupra eritropoezei și a sângelui periferic a fost testată de trei ori: la debutul studiului, la a 7-a zi și la 21-a zi a experimentului.

Eritropoeza și sângele periferic au fost evaluate prin următorii indici: conținutul de eritrocite într-o unitate de volum (10.12/L), conținutul total de hemoglobină în sânge (g/l) și indicele hemtocratic (% volumetric de eritrocite în sânge).

Modificarea numărului de eritrocite în sângele periferic este reprezentată în Tabelul 2. În urma analizei datelor prezentate în tabel, administrarea continuă a soluției de AgNP induce unele modificări ale acestui

indice. Astfel, se constată o creștere a numărului de eritrocite în sângele periferic din a doua săptămână, care se menține și la finele experienței.

Însă, AgNP nu influențează esențial conținutul de eritrocite în sângele periferic.

Tabelul 2

Modificarea conținutului de eritrocite în sângele periferic ($10^{12}/L$) la administrarea repetată a soluției de AgNP

Doza administrată	La 1-a zi a studiului	La a 7-a zi a studiului	La a 21-a zi a studiului
I grupă	8,53	9,87	10,01
II grupă	8,71	9,73	9,87
III grupă	8,65	8,58	8,61

Datele obținute la studierea conținutului de hemoglobină în sângele periferic la administrarea soluției de AgNP sunt prezentate în Tabelul 3. S-a constatat o tendință de creștere a conținutului de hemoglobină spre finele experienței – către ziua a 21-a. Creșterea conținutului de hemoglobină corelează cu numărul de eritrocite în sângele periferic.

Tabelul 3

Modificarea conținutului de hemoglobină în sângele periferic (g/L) la administrarea repetată a soluției de AgNP

Doza administrată	La 1-a zi a studiului	La a 7-a zi a studiului	La a 21-a zi a studiului
I grupă	152	155	159
II grupă	145	157	162
III grupă	148	146	150

Datele despre modificarea conținutului total de leucocite în sângele periferic sunt prezentate în Tabelul 4. După cum se observă, AgNP nu influențează esențial numărul total de leucocite, acestea manifestând doar devieri, deși, în descreștere, totuși în limitele diapazonului fiziologic, caracteristic pentru aceste indice. Astfel, toate oscilațiile numărului total de leucocite s-au aflat în limita valorilor de $7 - 15 \times 10^9/L$. AgNP provoacă o scădere nesemnificativă a numărului de leucocite spre finele experienței.

Tabelul 4

Modificarea conținutului de leucocite în sângele periferic ($10^9/L$) la administrarea soluției de AgNP

Doza administrată	La 1-a zi a studiului	La a 7-a zi a studiului	La a 21-a zi a studiului
I grupă	10,02	8,42	7,04
II grupă	10,20	8,93	7,71
III grupă	9,95	10,21	10,04

Conform datelor din tabel, cele mai notabile modificări suferă neutrofilele (**Tabelul 5**) și limfocitele. Legitatea generală proprie a AgNP este micșorarea conținutului procentual de neutrofile cu creșterea concomitentă a procentului de limfocite.

Tabelul 5

Modificarea conținutului absolut de neutrofile în sângele periferic (%) la administrarea soluției de AgNP

Doza administrată	La 1-a zi a studiului	La a 7-a zi a studiului	La a 21-a zi a studiului
I grupă	4,19	3,50	1,92
II grupă	4,10	2,90	1,13
III grupă	4,00	4,21	4,12

Dintre leucocitele mononucleare, modificări esențiale suferă doar limfocitele (**Tabelul 6**). Administrarea AgNP provoacă o creștere a procentului de limfocite în sângele periferic, care se menține pe tot parcursul experienței.

Tabelul 6

Modificarea conținutului absolut de limfocite în sângele periferic (%) la administrarea soluției de AgNP

Doza administrată	La 1-a zi a studiului	La a 7-a zi a studiului	La a 21-a zi a studiului
I grupă	75,7	77,9	78,8
II grupă	75,8	76,3	78,1
III grupă	75,6	75,8	75,7

Creșterea procentului de limfocite în sângele periferic concomitent cu mărirea numărului absolut de limfocite ar fi o consecință a stimulării regenerării și mobilizării în sânge a limfocitelor din țesutul limfoid. Aceasta ar sugera faptul, că AgNP posedă un rol stimulant pentru limfocitopoieză și imunitatea specifică.

Discuții. Deși, există multe mecanisme ce ar explica activitatea nanoparticulelor de argint, acestea nu sunt pe deplin înțelese și, prin urmare nu pot fi ge-

neralizate acționând în diferite organisme în diferite moduri. În cazul toxicității cronice rezultatele obținute ne sugerează doar o relativă inofensivitate a AgNP, necesitându-se o continuare a studiilor în domeniu.

Concluzii:

1) În baza datelor din literatură nanoparticulele de argint sunt agenți excelenți pentru o serie de scopuri, în special și cel medical, fiind utilizați pe scară largă pentru diagnostic, tratament, livrare de substanțe medicamentoase, drept acoperire a dispozitivelor medicale, în pansamente, în textile medicale și dispozitive contraceptive.

2) Administrarea zilnică a preparatului (a soluției coloidale de nanoparticule de argint) în doză de 10 mg/kg nu a indus decesul animalelor. Letalitatea șoricilor în doză de 30 mg/kg a constituit 10% și a survenit în a treia săptămână de administrare a substanței.

3) Ag NP posedă multiple proprietăți biologice: stimulează sinteza și mărește conținutul total de hemoglobină în sânge; inhibă migrarea și micșorează conținutul de leucocite neutrofile în sângele periferic; stimulează limfocitopoieza și mărește conținutul de limfocite în sângele periferic.

Bibliografie

1. Ahmed M., Al Salhi M.S., Siddiqui M.K. *Silver nanoparticle applications and human health*. Clin Chim Acta. 2010; 14(411):23-24, 1841-1848.
2. Quang H.T., Van Quy N., Anh-Tuan L. *Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives*. Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol. 2013;4:2043–6262.
3. Șteflea D. *Reflecări cronobiologice în medicină*. București. Ediție medicală. 1984:182 p.
4. Комаров Ф.И. *Хронобиология и хрономедицина*, Москва. 1989: с.232
5. Хабриев Р.У. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Москва. Медицина. 2005: с.828
6. Wikipedia, the free encyclopedia. *Silver nanoparticles*. 2015: http://en.wikipedia.org/wiki/Silver_nanoparticles