

STUDIUL TOXICITĂȚII ACUTE A NANOPARTICULELOR DE ARGINT
Corina Scutari, Veaceslav Gonciar, Rodica Peredelcu, Ivan Pavlovski, Oleg Scutari
Catedra Farmacologie și farmacie clinică, USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

The study of acute toxicity of silver nanoparticles

In experiments on male rats it was determined that the threshold toxic dose (LD₅₀) of colloidal solution of silver nanoparticles in intraperitoneal administration was 100 mg/kg. Toxic changes in animals remaining alive were short-term changes, reversible, more pronounced doses in larger than 200 mg/kg. Therefore, it was found that the colloidal solution of silver nanoparticles refers to a group of less toxic substances.

Rezumat

În experimente pe șobolani masculi s-a constatat că doza toxică de prag (LD₅₀) a soluției coloidale a nanoparticulelor de argint în cazul administrării intraperitoneale constituie 100 mg/kg. Modificările toxice în organismul animalelor rămase în viață sunt de scurtă durată, reversibile, mai pronunțate în doze mai mari de 200 mg/kg. Prin urmare, s-a constatat că soluția coloidală a nanoparticulelor de argint se referă la grupa de substanțe puțin toxice.

Actualitatea

Nanoparticulele din argint sunt particule cu dimensiunea cuprinsă între 1 nm și 100 nm. În prezent, nanoparticulele de argint sunt utilizate în calitate de agenți antibacterieni/antifungici, în biotehnologie și bioinginerie, inginerie textilă, pentru prelucrarea apei, precum și în calitate de produse de larg consum [1]. Prezintă un interes sporit, de asemenea, includerea nanoparticulelor de argint într-o gamă largă de dispozitive medicale, precum matrice pentru oase, instrumente chirurgicale, măști chirurgicale, pansamente pentru plăgi, creme antibacteriene.

Utilizarea nanoparticulelor de argint a inițiat o serie de controverse și dispute privind eficiența acestora, demonstrate în multiple publicații [5]. Nanomaterialele li se pot oferi funcționalități biologice astfel, încât să poată interacționa cu celulele și cu constituenții lor (proteinele, lipidele, ADN-ul etc.) într-un mod specific. Dacă nanomaterialele posedă funcționalități corecte, pot induce sau stopa anumite reacții metabolice. Pornind de la aceste raționamente, pentru elucidarea impactului nanoparticulelor de argint asupra proceselor metabolice, se argumentează necesitatea primordială a studiului toxicității acute, fapt ce a determinat scopul lucrării.

Scopul lucrării

Înregistrarea toxicității acute a soluției coloidale a nanoparticulelor de argint cu determinarea posibilităților de aplicare a ei în practica medicală.

Material și metode

În conformitate cu scopul studiului dat, experimentele au fost efectuate pe 20 șobolani masculi, fără pedigree. 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, pe animale în vârstă de 3-4 luni, cu masa corporală între 180-260 g (șobolani). Animalele au fost obținute din vivariul USMF „Nicolae Testemițanu” și menținute timp de 14 zile în condițiile vivariului (în cutii standarde de masă plastică) pentru aclimatizare. Cutiile cu animale au fost amplasate în încăperi separate. Condițiile de trai și de alimentare au corespuns cerințelor sanitare și normelor de alimentare. Temperatura aerului în încăperea s-a menținut în limitele de +18-20⁰C. Pentru consumarea apei au fost stabilite apeducte. Animalele au primit hrană cu 12 ore înainte de inițierea experimentului.

Rezultatele survenite în urma cercetărilor efectuate vor permite atingerea obiectivelor propuse în studiul dat.

Reieșind din actualitatea problemelor abordate anterior în domeniul nanotehnologiei și din necesitatea studierii toxicității nanoparticulelor, au fost realizate investigații în scopul stabilirii toxicității acute a soluției coloidale a nanoparticulelor de argint.

Rezultate obținute

Toxicitatea acută a nanoparticulelor de argint a fost determinată conform „Recomandărilor metodice pentru studiul toxicității generale a substanțelor farmaceutice”, aprobate de Comitetul Farmacologic de Stat al MS din Rusia în 2005 [7].

Studiul s-a efectuat pe 20 șobolani masculi, repartizați câte 5 la fiecare doză conform masei corporale.

Pentru stabilirea dozelor toxice la administrarea enterală s-au testat următoarele doze: 60, 80, 100, 200, 300 mg/kg masă corporală, cu supravegherea ulterioară a animalelor timp de 7 – 14 zile.

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. S-a supravegheat starea generală a animalelor, particularitățile lor de comportare, intensitatea și caracterul activității motorii, frecvența și profunzimea respirației, starea învelișului cutanat și a mucoasei, întrebuințarea hranei și apei. Monitorizarea stării animalelor a decurs timp de 14 zile. În baza rezultatelor obținute s-a calculat LD₅₀ după V. B. Prozorovskii [8].

Substanța a fost testată după 4 clase de toxicitate conform recomandărilor OMS și clasificării după Hodge și Sterner (Tab. 1).

Tabelul 1

Gradul de toxicitate (după Hodge și Sterner)

Gradul de toxicitate	Termin	LD ₅₀ unică i/v și i/p șobolani (mg/kg)
1	Extrem de toxic	<0,1
2	Toxicitate înaltă	0,1-50
3	Toxicitate moderată	5-50
4	Puțin toxic	50-500
5	Practic netoxic	500-1500
6	Relativ inofensiv	>1500

Peste 2 ore după administrarea soluției coloidale intraperitoneal în toate dozele la șobolani au apărut simptome de inhibare, moliciune, somnolență, lipsa poftei de mâncare și lipsa setei. Șobolanii erau ghemuiți cu blana zburlită. S-a intensificat respirația. Aceste simptome erau mai exprimate la animalele, care au primit soluția coloidală în doze mari – 200-300 mg/kg masă corporală. În următoarele 6-8 ore starea generală a animalelor cărora li s-a administrat substanța în dozele 60-100 mg/kg treptat se normaliza și peste 24 ore simptomele de intoxicație dispăreau și starea generală se stabiliza. Acesta animale au supraviețuit.

Letalitatea șobolanilor în doză de 300 mg/kg a constituit 100% și a survenit la a 2-5-a zi după administrarea substanței.

Letalitatea șobolanilor în doză de 200 mg/kg a constituit 50% și a survenit la a 7-8-a zi după administrarea substanței (Tab. 2).

Pe parcursul perioadei de supraveghere (14 zile), nu au fost evidențiate devieri în starea generală a animalelor. Șobolanii erau în mișcare activă, întrebuințau activ hrană și apă. Starea mucoaselor și învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galbenă deschisă. În baza rezultatelor experimentale s-a calculat doza letală medie.

Tabelul 2

Letalitatea șobolanilor albi (masculi) pe parcursul experimentului la administrarea intraperitoneală a soluției coloidale a nanoparticulelor de argint

Nr. animale	Doze subst. mg/kg	Zilele supravegherii														Decedat	Letalitatea (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
4	60															0	0
4	80															0	0
4	100															0	0
4	200							1	1							2	50
4	300		1	1	2											4	100

Determinarea toxicității acute a preparatului s-a efectuat după metoda aritmetică Karber, prezentată în continuare:

$$LD_{50} = DL_{100} - \sum \frac{a \cdot b}{n}$$

în care:

DL₁₀₀ – doza letală, adică doza cea mai mică la care mor toate animalele.

a – diferența între două doze succesive de substanță administrată;

b – numărul mediu de animale în două loturi succesive;

n – numărul de animale dintr-un lot.

Administrarea zilnică a preparatului (a soluției coloidale a nanoparticulelor de argint) per os în doze de 60, 80, 100 mg/kg nu a indus decesul animalelor. În cazul lipsei decesului animalelor determinarea LD₅₀ este imposibilă.

Întrucât toți șobolanii au murit doar la administrarea preparatului în doză de 200-300 mg/kg, s-a calculat LD₅₀ pentru această doză.

Rezultatele obținute denotă veridicitatea investigațiilor efectuate și corespund datelor literaturii de specialitate [8].

Concluzii

1) Letalitatea șobolanilor masculi în doză de 300 mg/kg a constituit 100% și a survenit la a 2-5-a zi după administrarea substanței medicamentoase.

2) Doza toxică de prag (LD₅₀) a substanței în cazul administrării unice constituie pentru șobolani 100 mg/kg.

3) Modificările toxice în organismul animalelor rămase în viață sunt de scurtă durată, reversibile, mai pronunțate în doze mai mari de 200 mg/kg.

4) Prin urmare, s-a constatat că soluția coloidală a nanoparticulelor de argint se referă la grupa de substanțe puțin toxice (cu LD₅₀ – 50-500 mg/kg).

Bibliografie

1. Chappel J.B., Greville G.D. Effect of silver ions on mitochondrial adenosinetriphosphates. Nature (London). 2004, v. 174, p. 930-931.

2. Pedahzur Rami, Lev Ovadia, Fattal Badri. The interaction of silver ions and hydrogen peroxide in the inactivation of E. coli: a preliminary evaluation of a new long acting residual drinking water disinfectant// Water Science and Technology, 2005, v. 31, nr. 5-6, p. 123-129.

3. Rentz Eric J. Historic Perspectives on Clinical Use and Efficacy of Silver. Senin, 2009.

4. Shahverdy A.R., Fakhimi Ali, Minaian Sara. Synthesis and effect of silver nanopraples on the antibacterial activity of different antibiotics against Staphylococcus and Escherichia coli. Nanomedicine-Nanotechnology biology and medicine, 2007, 3(2), p. 168-171.

5. Безлепко А.В., Гуща И. А. Инструкция по медицинскому применению ионного и коллоидного серебра.

6. Брызгунов В.С., Липин В.Н., Матросова В.Р.. Сравнительная оценка бактерицидных свойств серебряной воды и антибиотиков на чистых культурах микробов и их ассоциациях// Научн.тр.Казанского мед.ин-та, 2006, т.14, с. 121–122.
7. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия фармакологических средств // Москва, МЗРФ, 2005.
8. Прозоровский И.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности // Фармакология и токсикология. №1, 1962.
9. Родимин Е.. Приготовление целебных медно-серебряных растворов и металлоионотерапия <http://www.rem.org.ru/book.htm>.
10. Савадян Э.Ш., Мельникова В.М., Беликова Г.П.. Современные тенденции использования серебросодержащих антисептиков. Антибиотики и химиотерапия, 2009, N.11, с. 874–878.
11. Таранов Л., Филиппова И. Серебряная вода, Метод Таранова. Диля, 2001, с. 25-30.
12. Чекман І.С. Нанофармакологія // Задруга, 2011, 424 с.

ACTIVITATEA ANTIMICROBIANA A ENOXILULUI IN CONDITII CLINICE

Sergiu Cerlat

Catedra Farmacologie și Farmacie clinică, USMF "N. Testemitanu"

Summary

Antimicrobial activity of enoxil in clinical conditions

The use of Enoxil (grape seed extract) to combat the pathogenic flora of smears taken from patients with thermal burns was effective in 45% of cases, being active in various proportions to agencies: *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris*.

Rezumat

Utilizarea Enoxilului (extract din semințe de struguri) în combaterea florei patogene din frotiurile recoltate de la pacienții cu combustii termice s-a dovedit eficace în 45% cazuri, fiind activă în diferite proporții față de agenții: *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus vulgaris*.

Actualitate

Orice medicație contemporană a plăgilor de diferită genă este inadmisibilă fără o antisepsie eficientă, ceea ce face o necesitate obținerea unor antiseptice noi care să corespundă cerințelor impuse. Elaborarea unor preparate antiseptice autohtone reprezintă o direcție științifică importantă, deoarece în acest domeniu Republica Moldova este în mare parte dependentă de importurile efectuate. Poziționarea Enoxilului ca antiseptic și cercetarea activității antibacteriene în condiții clinice este importantă pentru determinarea capacității bactericide și bacteriostatice a preparatului în practica medicală.

Scopul

Evaluarea acțiunii antibacteriene a Enoxilului în condiții clinice asupra microflorei din frotiurile plăgilor combustionale a pacienților Centrului Republican de Leziuni Termice.

Materiale și metode