

УДК 616.381-002-092.4-08:546.57-022.532

## ЭФФЕКТЫ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

Чегодарь Д.В.<sup>1</sup>, Кубышкин А.В.<sup>1</sup>, Панасенко В.В.<sup>2</sup><sup>1</sup> Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь<sup>2</sup> ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и городе федерального значения Севастополь», г. Симферополь

### РЕЗЮМЕ

Изучены эффекты раствора наночастиц серебра (линейный размер частиц 10–20 нм) при интраперитонеальном введении интактным животным и моделировании экспериментального перитонита. В качестве маркеров оценки эффектов раствора наночастиц серебра использовали реакции компонентов протеиназ-ингибиторных систем в сыворотке крови и перитонеальном секрете. Установлено, что интраперитонеальное введение раствора наночастиц серебра интактным крысам-самцам линии Wistar приводит к минимальной активизации компонентов протеиназ-ингибиторной системы в сыворотке крови и перитонеальном секрете. Моделирование воспалительного процесса в брюшной полости внутрибрюшинным введением 10%-й фильтрованной каловой взвеси крыс на фоне введения раствора наночастиц серебра сопровождается снижением степени активации протеиназ и сохранением ингибиторного потенциала как на системном, так и на локальном уровне, что может свидетельствовать о наличии противовоспалительных эффектов наносеребра.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** протеиназы, ингибиторы протеиназ, воспаление.

### Введение

На сегодняшний день исследования в сфере нанотехнологий являются одним из самых перспективных направлений науки. В развитии современных нанотехнологий значительную роль играет изучение возможности применения в медицине наночастиц металлов. Наиболее часто используемыми являются наноматериалы на основе серебра, обладающие целым рядом уникальных характеристик [1–3].

Вопросам изучения антибактериальных свойств наносеребра посвящено множество экспериментальных исследований, вместе с тем исследованию противовоспалительных эффектов и возможного токсикологического влияния наночастиц серебра на органы и ткани уделяется недостаточно внимания [4–6].

Наиболее приемлемым для изучения токсикологических аспектов влияния наночастиц серебра на интактные ткани, на наш взгляд, является интраперитонеальный путь введения, в связи с тем что брюшина активно отвечает воспалением на любое воздействие, индуцированное извне, а значит, по изменениям на местном уровне можно судить о возможных побочных

эффектах [7]. Для исследования противовоспалительных эффектов предложена экспериментальная модель калового перитонита, в патогенезе которого одну из ключевых ролей выполняет системная активация протеиназ, связанная с повреждением лизосомальных мембран микробных клеток, экзоцитозом лейкоцитов и повышением проницаемости клеточных мембран [8, 9].

Цель исследования – изучить влияние раствора наночастиц серебра при интраперитонеальном введении на ткани брюшной полости у интактных животных и на фоне экспериментального перитонита с помощью оценки реакций компонентов протеиназ-ингибиторной системы в сыворотке крови и перитонеальном секрете.

### Материал и методы

Экспериментальное исследование было проведено на 56 белых крысах-самцах линии Wistar массой тела 180–210 г, согласно принципам Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986).

Научная работа включала две серии экспериментов. В первой серии изучали действие интраперитонеального введения водного раствора наночастиц серебра на интактные ткани. Лабораторные животные были разде-

✉ Кубышкин Анатолий Владимирович, тел. 8-978-028-0111; e-mail: anatoly2802@gmail.com

лены на три группы. Животным первой (контрольной) группы ( $n = 9$ ) внутривентрально вводили 0,9%-й раствор NaCl, крысам второй (контрольной) группы ( $n = 9$ ) – 0,3%-й раствор альгината натрия, животным третьей (опытной) группы ( $n = 9$ ) – 0,05%-й раствор наночастиц серебра в объеме 2 мл в каждой группе соответственно. Через 24 ч животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом с последующим забором материала для исследования.

Во второй серии экспериментов изучали эффекты водного раствора наночастиц серебра на фоне развивающегося экспериментального калового перитонита. Во всех группах моделирование перитонита осуществлялось введением в брюшную полость 10%-й фильтрованной каловой взвеси крыс по методике, описанной В.А. Лазаренко и соавт. [10]. Через 20 мин после выполнения экспериментальной модели животным 1-й группы ( $n = 9$ ) интраперитонеально вводили изотонический раствор хлорид натрия, крысам второй группы ( $n = 10$ ) – альгинат натрия в концентрации 0,3 г/л, животным 3-й группы ( $n = 10$ ) – раствор наночастиц серебра в концентрации 0,05 г/л в объеме 2 мл для каждой группы соответственно. В качестве контроля использована группа интактных животных ( $n = 9$ ), которым интраперитонеально вводили 2 мл 0,9%-го раствора NaCl. Эвтаназию животных осуществляли через 24 ч после начала эксперимента под эфирным наркозом путем декапитации с последующим забором материала.

Материалом для исследования в обеих сериях служила сыворотка крови и перитонеальный смыв. Кровь получали из яремной вены. Перитонеальный смыв получали 5-кратным промыванием брюшной полости 10 мл изотонического раствора NaCl в течение 1 мин, с последующей аспирацией с помощью шприца.

В работе использовали 0,1%-й раствор наночастиц серебра с линейным размером 10–20 нм в матрице 0,6% альгината натрия в водной среде (99,3%). Композиция была разработана в Таврическом национальном университете (г. Симферополь) с участием сотрудников Института биологии южных морей (г. Севастополь) [11]. Исходный раствор наночастиц серебра до начала экспериментального исследования был разведен 0,9%-м раствором NaCl в соотношении 1 : 1.

Определение активности компонентов протеиназной ингибиторной системы проводили с использованием энзиматических методов [12] на спектрофотометре Biomat 5 (Великобритания). Метод определения трипсиноподобной активности (ТПА) основан на спектрофотометрическом измерении скорости отщепления N-бензоил-L-аргинина (БА) от синтетического субстрата N-бензоил-L-аргинина этилового эфира (БАЭЭ).

Определение эластазоподобной активности (ЭПА) проводили на основании изучения скорости гидролиза синтетического субстрата N-t-ВОС-аланил-р-нитрофинилового эфира (БАНФЭ). Определение концентрации альфа-1-ингибитора протеиназы (антитриптическая активность, АТА) выполняли на основании торможения расщепления трипсином БАЭЭ. Аналогично определяли активность кислотостабильных ингибиторов (КСИ) после предварительной подготовки материала прогреванием в кислой среде. Белок во всех образцах определяли методом Лоури.

Для оценки патоморфологических изменений готовили серийные срезы брюшины, сальника толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование микропрепаратов проводили при помощи световой микроскопии с использованием светового микроскопа Olympus CX-41 при увеличении 100 и 400.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с применением методов вариационной статистики с вычислением средних величин  $M$ , оценкой вероятности расхождений  $m$ , оценкой достоверности изменений с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. За достоверную принималась разность средних значений при  $p < 0,05$ . Распределение признаков соответствовало нормальному согласно критерию Шапиро–Уилка.

## Результаты

Результаты первой серии экспериментов показали, что при интраперитонеальном введении альгината натрия интактным животным в сыворотке крови наблюдалось достоверное увеличение уровней ТПА (на 60%) и АТА (на 5%) по сравнению с группой контроля. При интраперитонеальном введении раствора наночастиц серебра также наблюдалось статистически значимое повышение уровня ТПА (на 116%) относительно значений этого показателя в контрольной группе. Однако достоверное увеличение АТА на фоне введения раствора наночастиц серебра на 20% по сравнению с величинами в контрольной группе и на 14% – в группе животных, которым вводили альгинат натрия (табл. 1), свидетельствует о значительном усилении ингибиторного потенциала на системном уровне.

На местном уровне в перитонеальном секрете животных контрольной группы и групп с введением альгината натрия и раствора наночастиц серебра существенной активации неспецифических протеаз не наблюдалось (табл. 2), и в целом можно говорить о стабилизации компонентов системы, ингибирующей протеиназы.

При гистологическом исследовании выстилающей сальник брюшины у интактных крыс в контрольной группе с введением 0,9%-го раствора NaCl и группе животных, которым внутрибрюшинно вводили раствор наночастиц серебра, выявлена схожая морфологическая картина, характеризующаяся умеренным отеком тканей (стрелка) с разрыхлением интерстициальных пространств, определялось полнокровие сосудов (стрелка) с явлениями краевого стояния лейкоцитов (рис. 1). При

интраперитонеальном введении интактным животным альгината натрия наблюдалось развитие более выраженной тканевой реакции с наличием очаговых скоплений лимфоцитов и единичными нейтрофилами. Отмечалось утолщение брюшины за счет отека, разволокнение коллагеновых волокон в субперитонеальном пространстве, очаговое полнокровие сосудов микроциркуляции и незначительный эритродиapedез.

Таблица 1

**Изменение показателей протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови интактных животных при внутрибрюшинном введении взвеси наночастиц серебра ( $M \pm m$ )**

Показатель	Группа		
	Контроль (n = 9)	Альгинат натрия (n = 9)	Взвесь наночастиц серебра (n = 9)
Эластазаподобная активность, мкмоль/(мл · мин)	1,49 ± 0,56	1,86 ± 0,64	1,48 ± 0,55
Трипсиноподобная активность, мкмоль/(мл · мин)	0,25 ± 0,03	0,40 ± 0,08 $p_1 < 0,05$	0,54 ± 0,16 $p_1 < 0,05$
Антитриптическая активность, ИЕ/мл	28,06 ± 0,54	29,60 ± 0,50 $p_1 < 0,05$	33,80 ± 0,51 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Кислотостабильные ингибиторы, ИЕ/мл	9,11 ± 0,11	8,41 ± 1,59	8,88 ± 0,70

Примечание.  $p_1$  – достоверность различий по отношению к контролю;  $p_2$  – достоверность различий по отношению к группе с использованием альгината натрия.

Таблица 2

**Изменение показателей протеиназ и их ингибиторов в перитонеальном смыве интактных животных при внутрибрюшинном введении взвеси наночастиц серебра ( $M \pm m$ )**

Показатель	Группа		
	Контроль (n = 9)	Альгинат натрия (n = 9)	Взвесь наночастиц серебра (n = 9)
Эластазаподобная активность, мкмоль/(мл · мин)	68,46 ± 8,71	59,93 ± 8,66	51,49 ± 6,29
Трипсиноподобная активность, мкмоль/(мл · мин)	16,27 ± 6,86	18,91 ± 8,59	7,51 ± 0,70
Антитриптическая активность, ИЕ/мг	61,04 ± 14,39	55,21 ± 13,95	76,78 ± 7,07
Кислотостабильные ингибиторы, ИЕ/мг	25,10 ± 3,30	28,60 ± 4,60	30,60 ± 2,60

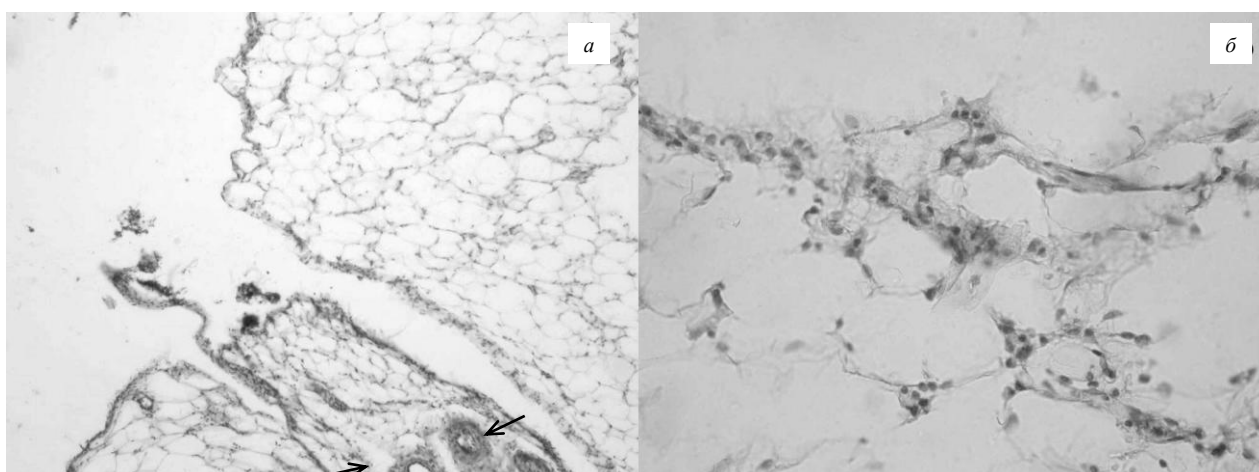


Рис. 1. Гистологическая структура покрывающей сальник брюшины крысы при интраперитонеальном введении раствора наносеребра (а, ув. 100), брюшины и сальника крысы при интраперитонеальном введении альгината натрия (б, ув. 400). Окраска гематоксилином и эозином

Результаты второй серии экспериментов показали, что уже через 24 ч после моделирования перитонита имели место существенные сдвиги в протеиназ-ингибиторной системе. Так, в сыворотке крови было отмечено статистически значимое трехкратное увеличение уровня ЭПА по сравнению со значениями этого показателя в контрольной группе, причем уровень их ингибиторов оставался в пределах значений контрольной группы (табл. 3). В перитонеальном смыве после моделирования перитонита имела место чрез-

мерная активация неспецифических протеаз, что подтверждалось достоверным увеличением уровней ЭПА и ТПА (на 180 и 63% соответственно) по сравнению с контрольными значениями. На фоне существенной активации неспецифических протеаз через 24 ч после моделирования перитонита на местном уровне были отмечены признаки усиления ингибиторного потенциала, о чем свидетельствовало статистически значимое увеличение уровня КСИ на 84%. Показатели АТА оставались на уровне контроля (табл. 4).

Таблица 3

**Изменение показателей протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови через 24 ч после внутрибрюшинного введения взвеси наночастиц серебра на фоне перитонита ( $M \pm m$ )**

Показатель	Группа			
	Контроль (n = 9)	Перитонит + изотонический хлорид натрия (n = 9)	Перитонит + альгинат натрия (n = 10)	Перитонит + взвесь наночастиц серебра (n = 10)
Эластазаподобная активность, мкмоль/(мл · мин)	1,49 ± 0,56	4,52 ± 0,45	3,03 ± 0,35 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$	1,53 ± 0,25 $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
Трипсиноподобная активность, мкмоль/(мл · мин)	0,25 ± 0,01	0,33 ± 0,05	0,46 ± 0,06 $p_1 < 0,001$	0,28 ± 0,04 $p_3 < 0,01$
Антитриптическая активность, ИЕ/мл	28,06 ± 0,54	29,40 ± 0,65	33,78 ± 5,24	38,56 ± 2,21 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Кислотостабильные ингибиторы, ИЕ/мл	9,11 ± 0,11	8,42 ± 0,63	10,13 ± 1,15	11,61 ± 1,26 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примечание. Здесь и в табл. 4:  $p_1$  – достоверность различий по отношению к контролю;  $p_2$  – достоверность различий по отношению к группе с использованием изотонического раствора хлорида натрия на фоне перитонита;  $p_3$  – достоверность различий по отношению к группе с использованием альгината натрия на фоне перитонита.

Таблица 4

**Изменение показателей протеиназ и их ингибиторов в перитонеальном смыве через 24 ч после внутрибрюшинного введения взвеси наночастиц серебра на фоне перитонита ( $M \pm m$ )**

Показатель	Группа			
	Контроль (n = 9)	Перитонит + изотонический хлорид натрия (n = 9)	Перитонит + альгинат натрия (n = 10)	Перитонит + взвесь наночастиц серебра (n = 10)
Эластазаподобная активность, мкмоль/(мл · мин)	68,46 ± 8,71	192,12 ± 9,45 $p_1 < 0,001$	207,07 ± 23,61 $p_1 < 0,001$	103,39 ± 12,24 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$
Трипсиноподобная активность, мкмоль/(мл · мин)	10,90 ± 0,69	26,48 ± 2,40 $p_1 < 0,001$	24,77 ± 3,68 $p_1 < 0,001$	16,27 ± 2,86 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,05$
Антитриптическая активность, ИЕ/мг	61,04 ± 14,39	59,53 ± 7,46	70,51 ± 6,88	99,80 ± 9,10 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
Кислотостабильные ингибиторы, ИЕ/мг	25,10 ± 3,30	46,18 ± 4,95 $p_1 < 0,001$	49,60 ± 4,50 $p_1 < 0,001$	70,98 ± 4,25 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Интраперитонеальное введение альгината натрия на фоне перитонита также характеризовалось острой воспалительной реакцией как на системном, так и на локальном уровне. В сыворотке крови наиболее значительные изменения были отмечены со стороны неспецифических протеаз, о чем свидетельствовало достоверное увеличение уровня ЭПА (на 103%) и ТПА (на 84%) по сравнению с группой контроля, в то время как показатели ингибиторов протеолитических ферментов характеризовались лишь тенденцией к росту (см. табл. 3). В перитонеальном смыве животных группы с введением альгината натрия на фоне перитонита наблюдалась острофазная реакция компонентов системы протеолиза со статистически значимым увеличением уровня ЭПА (на 202%) и ТПА (на 127%) по сравнению с контрольной группой. Со стороны ингибиторов протеолитических ферментов отмечалось увеличение уровня КСИ на 98% по сравнению с контрольной группой, однако по сравнению с группой животных, которым при перитоните вводили изотонический раствор хлорида натрия, существенных отличий не наблюдалось (табл. 4).

В группе животных, которым интраперитонеально вводили раствор наночастиц серебра на фоне перитонита, на системном и на местном уровне также наблюдались признаки активации компонентов протеиназ-ингибиторной системы, характерные для воспалительного процесса, однако по сравнению с группами животных с введением физиологического раствора и альгината натрия при перитоните степень этой активации была существенно меньше. Так, в сравнении с группой животных, которым вводили физиологический раствор при перитоните, степень активации ЭПА была достоверно ниже на 66%, а по сравнению с группой животных с введением альгината натрия меньше на 49%, причем показатели ЭПА и ТПА в группе с введением раствора наночастиц серебра при перитоните практически соответствовали контрольной группе. В то же время на фоне введения раствора наночастиц серебра в сыворотке крови отмечалось существенное усиление ингибиторного потенциала, о чем свидетельствовало статистически значимое увеличение уровня АТА (на 37%) и КСИ (на 27%) по сравнению с контрольной группой, а по сравнению с группой животных, которым вводили физиологический раствор, уровень АТА и КСИ был достоверно выше на 31 и 38% соответственно (см. табл. 3).

В перитонеальном смыве животных, которым вводили раствор наночастиц серебра при перитоните,

в свою очередь, были отмечены признаки активации неспецифических протеиназ, о чем свидетельствовало статистически значимое увеличение уровня ЭПА (на 5%) и ТПА (на 49%) по сравнению с группой контроля. Тем не менее на фоне введения раствора наночастиц серебра уровень ЭПА был достоверно ниже на 46% по сравнению с группой животных с введением физиологического раствора и на 50% по сравнению с группой крыс, получавших альгинат натрия. Уровень ТПА характеризовался снижением на 38% по сравнению с группой с введением физиологического раствора и на 34% – с введением альгината натрия.

Помимо существенного уменьшения степени активации неспецифических протеиназ, интраперитонеальное введение раствора наночастиц серебра при перитоните на местном уровне характеризовалось значительным усилением ингибиторного потенциала, о чем свидетельствовало достоверное увеличение уровня АТА и КСИ (на 63 и 182% соответственно) по сравнению с контрольной группой. В сравнении с группой животных, которым при перитоните вводили физиологический раствор, уровень АТА был значимо выше (на 68%), а в сравнении с группой крыс, получавших альгинат натрия, выше на 41%, при этом уровень КСИ был достоверно ( $p < 0,001$ ) выше средних показателей в группе с введением физиологического раствора на 54% и на 43% больше, чем в группе с применением альгината натрия (см. табл. 4).

Выявленные сдвиги компонентов протеиназ-ингибиторной системы при моделировании перитонита сопровождались характерными морфологическими изменениями в тканях брюшной полости, которые характеризовались существенными воспалительно-деструктивными изменениями. Так, морфологическая картина выстилающей сальник брюшины на фоне перитонита в группах с введением изотонического раствора хлорида натрия или альгината натрия свидетельствовала о развитии неспецифического воспалительного процесса со всеми характерными его проявлениями: массивный отек, диффузная инфильтрация нейтрофильными гранулоцитами, десквамация мезотелиальных клеток, массивное скопление на поверхности брюшины фибрина (стрелка) (рис. 2).

Интраперитонеальное введение раствора наночастиц серебра при моделировании перитонита приводило к уменьшению воспалительной реакции и дистрофически-деструктивных изменений. При гистологическом исследовании отмечалось набухание мезотелиоцитов, без их десквамации с базальной мембраны и нарушения их целостности, фибрин на по-

верхности брюшины не обнаруживался. Но, также как и в контрольном наблюдении, отмечался отек ткани и

полнокровие сосудов, очаговые, преимущественно периваскулярные, лейкоцитарные инфильтраты.

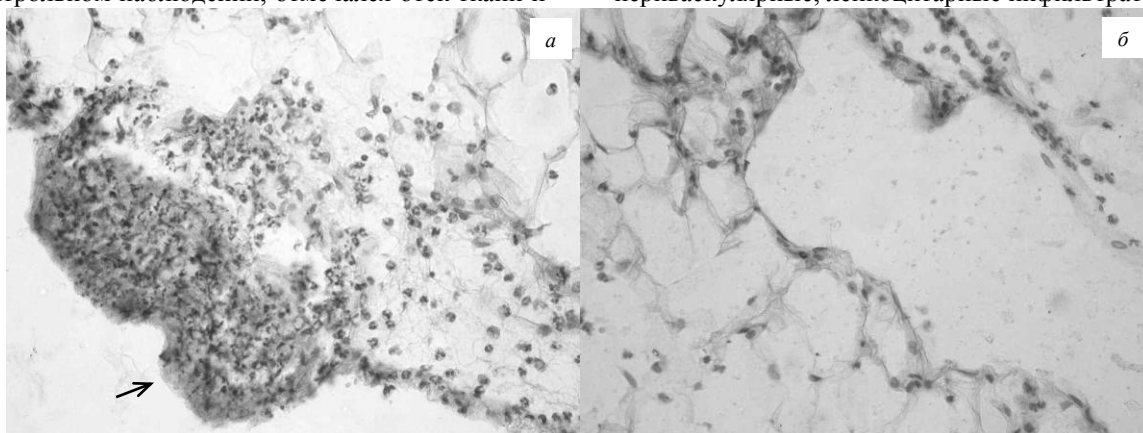


Рис. 2. Брюшина крысы при моделировании острого перитонита (а) и острого перитонита на фоне интраперитонеального введения раствора наносеребра (б). Ув. 400. Окраска гематоксилином и эозином

## Обсуждение

Следует отметить, что коллоидные препараты серебра, такие как колларгол и протаргол, в течение длительного времени применяются в медицине как антисептическое и противовоспалительное средство благодаря антибактериальной активности [3]. Вместе с тем с появлением нанотехнологий появились новые возможности для разработки более эффективных фармакологических средств, содержащих наночастицы серебра [13]. Установлено, что серебро в наноразмерном диапазоне обладает более выраженным антимикробным действием за счет большей удельной поверхности наночастиц, что увеличивает площадь контакта наносеребра с бактериями. Следовательно, применение серебра в виде наночастиц позволяет в сотни раз снизить концентрацию металла при сохранении всех его бактерицидных свойств [14].

Результаты проведенных исследований, посвященных изучению влияния наночастиц серебра на интактные ткани крыс при внутрибрюшинном введении, свидетельствуют о том, что на системном и локальном уровне не наблюдается существенных сдвигов компонентов протеиназ-ингибиторной системы. Таким образом, можно заключить, что раствор наночастиц серебра в использованных дозах практически не обладает провоспалительными эффектами при действии на брюшину и другие органы брюшной полости либо эти эффекты минимальны.

С другой стороны, при моделировании острого перитонита применение раствора наночастиц серебра способно уменьшить проявления воспалительного процесса. Показано, что при развитии острого экспериментального перитонита происходят как классические

морфологические изменения, так и развивается локальная и системная острофазная реакция компонентов системы протеолиза. На фоне внутрибрюшинного введения раствора наночастиц серебра развитие перитонита сопровождается существенно более низким уровнем активации неспецифических протеиназ с одновременным усилением ингибиторного потенциала, что свидетельствует о способности раствора наночастиц серебра уменьшать выраженность воспалительной реакции.

Противовоспалительные эффекты наночастиц серебра, скорее всего, связаны с антибактериальным действием. Известно, что его антибактериальный эффект связан с адсорбцией наночастиц серебра на поверхности микробной клетки, повреждением целостности клеточной мембраны, проникновением внутрь клетки и нарушением ее функции [14, 15]. В качестве причин разрушения мембраны и гибели микробных клеток рассматриваются как прямое действие наночастиц, так и опосредованное через активацию перекисного окисления липидов при адсорбции наночастиц на поверхности клетки [16]. Подавление микробного фактора наночастицами серебра способствует уменьшению инфильтрации очага воспаления фагоцитарными клетками, что ведет к уменьшению выделения протеиназ из микробных и фагоцитирующих клеток на местном уровне. Снижение активности протеиназ способствует сохранению относительно высокого антипротеиназного потенциала, что приводит к уменьшению воспалительных проявлений при перитоните.

## Заключение

Экспериментально показано, что интраперитонеальное введение раствора наночастиц серебра интактным животным характеризуется минимальными реак-

циями компонентов протеиназ-ингибиторной системы как на системном, так и на местном уровне, что свидетельствует об отсутствии провоспалительной активности раствора наночастиц серебра. На фоне воспалительного процесса в брюшной полости интраперитонеальное введение раствора наночастиц серебра приводило к достоверному снижению активации неспецифических протеиназ и увеличению ингибиторного потенциала, особенно выраженному на местном уровне. Инактивация протеиназ, усиление протеиназ-ингибирующих систем и уменьшение выраженности морфологических признаков воспаления при применении раствора наночастиц серебра указывают на наличие у исследуемой композиции локальных противовоспалительных эффектов, что требует дальнейшего изучения для обоснования возможности его практического использования.

#### Литература

- Zhang L., Gu F.X., Chan J.M., Wang A.Z., Langer R.S., Farokhzad O.C. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments // *Clin. Pharmacol. Ther.* 2008. V. 83, № 5. P. 761–769.
- Chen X., Schlusener H.J. Nanosilver: nanoparticle in medical application // *Toxicol. Lett.* 2008. V. 176, № 1. P. 1–12.
- Чекман И.С., Мовчан Б.А., Загородный М.И., Гапонов Ю.В., Куратов Ю.А., Крушинская Л.А., Кардаш М.В. Наносеребро: технологии получения, фармакологические свойства, показания к применению // *Искусство лечения.* 2008. № 5. С. 32–34.
- Чекман И.С., Прискока А.О., Бабий В.Ф., Антоненко О.В., Загородный М.И. Медицинское применение наночастиц серебра: токсикологический аспект // *Современные проблемы токсикологии.* 2010. № 4. С. 10–13.
- Bidgoli S.A., Mahdavi M., Rezayat S.M., Korani M., Amani A., Ziarati P. Toxicity Assessment of Nanosilver Wound Dressing in Wistar Rat // *Acta Medica Iranica.* 2013. V. 51, № 4. P. 203–208.
- Cheraghi J., Hosseini E., Hoshmandfar R., Reza Sahraei, Abbas Farmany. In vivo effect of Silver Nanoparticles on serum ALT, AST and ALP activity in male and female mice // *Adv. Environ. Biol.* 2013. V. 7, № 1. P. 116–122.
- Суковатых Б.С., Блинков Ю.Ю., Фролова О.Г. Механизмы развития распространенного перитонита // *Вестн. эксперим. и клинич. хирургии.* 2012. Т. 5, № 2. С. 470–478.
- Ермола Ю.А., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В. Локальные и системные изменения показателей неспецифических протеиназ и их ингибиторов при экспериментальном перитоните // *Укр. мед. альманах.* 2012. Т. 15, № 5. С. 80–82.
- Babanin A.A., Kubyshkin A.V., Ermola Yu.A., Chegodar D.V., Yurkova I.N., Fedosov M.I. Changes of nonspecific proteinases and free-radical oxidation processes in treatment of experimental peritonitis with the nanobiosilver solution // *The New Armenian Medical Journal.* 2014. V. 8, № 1. P. 46–51.
- Лазаренко В.А., Лунатов В.А., Блинков Ю.Ю., Скориков Д.В. Экспериментальная модель распространенного калового перитонита // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2008. № 4. С. 128–132.
- Патент UA Украина № 10539, МКИ 7 А61К33/38, А61К31/715. Способ получения водорастворимой бактерицидной композиции, которая содержит наночастицы серебра / И.Н. Юркова, В.Р. Эстрелла-Льопис, В.И. Рябушко, Л.И. Рябушко. № 200500475; заявл. 13.05.05; опубл. 15.11.05. Бюл. № 11.
- Методы определения активности неспецифических протеиназ и их ингибиторов в сыворотке крови и биологических жидкостях (методические рекомендации) / А.В. Кубышкин, В.З. Харченко, П.Ф. Семенец, Л.Л. Алиев, И.И. Фомочкина, Л.В. Анисимова. Киев, 2010. 28 с.
- Чекман И.С. Нанофармакология: взгляд на проблему // *Вестник НАН Украины.* 2012. № 7. С. 21–25.
- Рыбачук А.В., Чекман И.С. Противомикробные свойства наносеребра // *Укр. науч.-мед. молодеж. журн.* 2009. № 2. С. 32–36.
- Melaiye A., Sun Z., Hindi K., Milsted A., Ely D., Reneker D.H., Tessier C.A., Youngs W.J. Silver(I)-imidazole cyclophane gem-diol complexes encapsulated by electrospun tectophilic nanofibers: formation of nanosilver particles and antimicrobial activity // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. V. 127, № 7. P. 2285–2291.
- Егорова Е.М., Кубатиев А.А., Швец В.И. Биологические эффекты наночастиц металлов. М.: Наука, 2014. 350 с.

Поступила в редакцию 27.01.2015 г.

Утверждена к печати 15.04.2015 г.

**Чегодарь Денис Владимирович** – ассистент кафедры общей и клинической патофизиологии КГМУ им. С.И. Георгиевского (г. Симферополь).

**Кубышкин Анатолий Владимирович** (✉) – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общей и клинической патофизиологии КГМУ им. С.И. Георгиевского (г. Симферополь).

**Панасенко Валентина Владимировна** – зав. бактериологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и городе федерального значения Севастополь» (г. Симферополь).

✉ **Кубышкин Анатолий Владимирович**, тел. 8-978-028-0111; e-mail: anatoly2802@gmail.com

## EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES IN EXPERIMENTAL PERITONITIS

**Chegodar D.V.<sup>1</sup>, Kubyshkin A.V.<sup>1</sup>, Panasenko V.V.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Crimea State Medical University named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Center of hygiene and epidemiology in the Crimea Republic and federal city of Sevastopol, Simferopol, Russian Federation*

#### ABSTRACT

In our research we have investigated the effect of intraperitoneal introduction of silver nanoparticles solution (linear particle size of 10–20 nm) into intact animals and in the simulation of experimental peritonitis. We have evaluated the indices of nonspecific proteinases and their inhibitors in blood serum and peritoneum lavage. The intraperitoneal introduction of silver nanoparticles solution to intact animals leads to the minimal reaction of proteinase-inhibitor systems components in blood serum and peritoneum lavage. When modeling inflammatory process in peritoneum cavity by intraperitoneal injection of 10% filtered fecal suspension of rats, application of silver nanoparticles solution is accompanied by decrease in extent of activation of proteinases and preservation of inhibitory potential, both at systemic and local level, which can indicate antiinflammatory effects of nanosilver.

**KEY WORDS:** proteinases, proteinase inhibitors, inflammation.

*Bulletin of Siberian Medicine*, 2015, vol. 14, no. 2, pp. 67–74

### References

- Zhang L., Gu F.X., Chan J.M., Wang A.Z., Langer R.S., Farokhzad O.C. Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2008, vol. 83, no. 5, pp. 761–769.
- Chen X., Schlusener H.J. Nanosilver: nanoparticle in medical application. *Toxicol. Lett.*, 2008, vol. 176, no. 1, pp. 1–12.
- Chekman I.S., Movchan B.A., Zagorodny M.I., Gaponov Yu.V., Kurapov Yu.A., Krushinskaya L.A., Kardash M.V. Nanosrebro: tehnologii poluchenija, farmakologicheskie svojstva, pokazanija k primeneniju [Nanosilver: technologies of production, pharmacological properties, indications to application]. *Iskusstvo lechenija*, 2008, no. 5, pp. 32–34.
- Chekman I.S., Priskoka A.O., Babij V.F., Antonenko O.V., Zagorodny M.I. Medicinskoe primenenie nanochastich srebra: toksikologicheskij aspekt [Medical applications of silver nanoparticles: toxicological aspect]. *Sovremennye problemy toksikologii*, 2010, no. 4, pp. 10–13.
- Bidgoli S.A., Mahdavi M., Rezayat S.M., Korani M., Amani A., Ziarati P. Toxicity Assessment of Nanosilver Wound Dressing in Wistar Rat. *Acta Medica Iranica*, 2013, vol. 51, no. 4, pp. 203–208.
- Cheraghi J., Hosseini E., Hoshmandfar R., Reza Sahraei, Abbas Farmany. *In vivo* effect of Silver Nanoparticles on serum ALT, AST and ALP activity in male and female mice. *Adv. Environ. Biol.*, 2013, vol. 7, no. 1, pp. 116–122.
- Sukovatykh B.S., Blinkov Yu.Yu., Frolova O.G. Mehanizmy razvitija rasprostranennogo peritonita [Mechanisms of the diffuse peritonitis development]. *Vestnik jeksperimental'noj i klinicheskoy hirurgii – Bulletin of Experimental and Clinical Surgery*, 2012, vol. 5, no. 2, pp. 470–478.
- Yermola Yu.A., Fomochkina I.I., Kubyschkin A.V. Lokal'nye i sistemnye izmenenija pokazatelej nespecificeskikh proteinaz i ih ingibitorov pri jeksperimental'nom peritonite [Local and systemic changes of nonspecific proteases and their inhibitors in experimental peritonitis]. *Ukrainskij medicinskij al'manah*, 2012, vol. 15, no. 5, pp. 80–82.
- Babanin A.A., Kubyschkin A.V., Ermola Yu.A., Chegodar D.V., Yurkova I.N., Fedosov M.I. Changes of nonspecific proteinases and free-radical oxidation processes in treatment of experimental peritonitis with the nanobiosilver solution. *The New Armenian Medical Journal*, 2014, vol. 8, no. 1, pp. 46–51.
- Lazarenko V.A., Lipatov V.A., Blinkov Yu.Yu., Skorikov D.V. Jeksperimental'naja model' rasprostranennogo kalovogo peritonita [Experimental model of diffuse fecal peritonitis]. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik "Chelovek i ego zdorov'e" – Kurskiy Scientifically-Practical Herald "Persons and his health"*, 2008, no. 4, pp. 128–132.
- Yurkova I.M., Estrella-Lopys V.R., Ryabushko V.I., Ryabushko L.I. *The patent of the invention no 10539, MCI 7 A61K33/38, A61K31/715*. A method for producing a water-soluble bactericidal composition comprising silver nanoparticles. No 200500475; Appl. 13.05.05; publ. 15.11.05; Bulletin no. 11. (in Russia).
- Kubyschkin A.V., Kharchenko V.Z., Semenec P.F., Aliev L.L., Fomochkina I.I., Anisimova L.V. Metody opredelenija aktivnosti nespecificeskikh proteinaz i ih ingibitorov v syvorotke krovi i biologicheskikh zhidkostjakh (Metodicheskie rekomendacii) [Methods of determination of the nonspecific proteinases and their inhibitors activity in blood serum and biological fluids (Methodical recommendation)]. Kiev, 2010. 28 p.
- Chekman I.S. Nanofarmakologija: vzgljad na problemu [Nanopharmacology: view at the problem]. *Vestnik NAN Ukrainy*, 2012, no. 7, pp. 21–25.
- Rybachuk A.V., Chekman I.S. Protivomikrobnnye svojstva nanosrebra [Antimicrobial properties of nanosilver]. *Ukrainskij nauchno-medicinskij molodezhnyj zhurnal – The Ukrainian scientifically-medical youth magazine*, 2009, no. 2, pp. 32–36.
- Melaiye A., Sun Z., Hindi K., Milsted A., Ely D., Reneker D.H., Tessier C.A., Youngs W.J. Silver(I)-imidazole cyclophane gem-diol complexes encapsulated by electrospun tefophilic nanofibers: formation of nanosilver particles and antimicrobial activity. *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, vol. 127, no. 7, pp. 2285–2291.
- Egorova E.M., Kubatiev A.A., Shvec V.I. *Biologicheskie jeffekty nanochastich metallov* [Biological effects of metal nanoparticles]. Moscow, Nauka Publ., 2014, 350 p.

**Chegodar Denis V.**, Crimea State Medical University named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Russian Federation.

**Kubyschkin Anatoly V.** (✉), Crimea State Medical University named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Russian Federation.

**Panasenko Valentina V.**, Center of hygiene and epidemiology in the Crimea Republic and federal city of Sevastopol, Simferopol, Russian Federation.

✉ **Kubyschkin Anatoly V.**, Ph.: +7-978-028-0111, e-mail: anatoly2802@gmail.com