

## Оценка токсических и иммуноадъювантных свойств нанокompозитов

Корытов К.М.<sup>1</sup>, Дубровина В.И.<sup>1</sup>, Пятидесятникова А.Б.<sup>1</sup>, Витязева С.А.<sup>1</sup>, Войткова В.В.<sup>1</sup>, Прозорова Г.Ф.<sup>2</sup>, Поздняков А.С.<sup>2</sup>, Иванова А.А.<sup>2</sup>, Балахонов С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия); <sup>2</sup> ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубровина Валентина Ивановна, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

### Резюме

**Актуальность.** В настоящее время актуальным направлением в медицине является поиск и создание иммунобиологических препаратов для повышения эффективности специфической иммунотерапии и иммунопрофилактики, содержащих в своём составе иммуномодуляторы – природные или синтетические вещества, способные оказывать регулирующие действие на иммунную систему. В качестве таких перспективных соединений на данный момент могут выступать водорастворимые органо-неорганические полимерные материалы с наночастицами различных химических веществ, обладающие не только бактерицидными, но и иммуномодулирующими свойствами.

**Цель работы:** изучить острую токсичность полимерных нанокompозитов на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном с наночастицами серебра, золота и селена и их действие на функциональное состояние клеток иммунной системы в условиях *in vitro*.

**Материалы и методы.** Изучение острой токсичности проводили на белых беспородных мышах. Активность супероксиддисмутазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы исследовали у перитонеальных макрофагов морских свинок. Оценка спонтанной и индуцированной нанокompозитами продукции про- (интерферон-γ и фактор некроза опухоли-α) и противовоспалительных (интерлейкин-4) цитокинов клетками крови проводили с использованием клинического материала, полученного от добровольцев, методом твердофазного иммуноферментного анализа.

**Результаты.** Установлено, что нанокompозиты с наночастицами серебра и золота не вызывают гибель белых мышей, повышение у них температуры и снижение массы тела. Определена среднелетальная доза для нанокompозита с наночастицами селена – 1 грамм на килограмм массы животного. Показано, что тестируемые нанокompозиты обладают стимулирующим влиянием на продукцию цитокинов клетками крови человека в условиях *in vitro*. Нанокompозит с наночастицами селена повышает активность супероксиддисмутазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Проведён сравнительный анализ действия изучаемых нанокompозитов с коммерческими препаратами биологического происхождения, обладающими иммуномодулирующими свойствами.

**Заключение.** Полученные данные позволяют обосновать необходимость дальнейшего всестороннего исследования действий нанокompозитов на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном с наночастицами серебра, золота и селена на макроорганизм в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*.

**Ключевые слова:** нанокompозиты, наночастицы, острая токсичность, макрофаги, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, супероксиддисмутазы, клетки крови, цитокины

**Для цитирования:** Корытов К.М., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б., Витязева С.А., Войткова В.В., Прозорова Г.Ф., Поздняков А.С., Иванова А.А., Балахонов С.В. Оценка токсических и иммуноадъювантных свойств нанокompозитов. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 102-109. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.13

## Assessment of Toxic and Immunoadjuvant Properties of Nanocomposites

Korytov K.M.<sup>1</sup>, Dubrovina V.I.<sup>1</sup>, Pyatidesyatnikova A.B.<sup>1</sup>, Vityazeva S.A.<sup>1</sup>, Voitkova V.V.<sup>1</sup>, Prozorova G.F.<sup>2</sup>, Pozdnyakov A.S.<sup>2</sup>, Ivanova A.A.<sup>2</sup>, Balakhonov S.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор (ul. Trilissera 78, Irkutsk 664047, Russian Federation); <sup>2</sup> A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS (ul. Favorskogo 1, Irkutsk 664033, Russian Federation)

Corresponding author: Valentina I. Dubrovina, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

### Abstract

**Introduction.** The current direction in medicine is the creation of immunobiological preparations to increase the effectiveness of specific immunotherapy and immunoprophylaxis, containing immunomodulators in their composition. These natural or synthetic substances can have a regulating effect on the immune system. At present, water-soluble organic-inorganic polymeric materials with nanoparticles of various chemical substances with bactericidal and immunomodulating properties can serve as such promising compounds.

**The aim** of the work is to study the acute toxicity of polymer nanocomposites based on 1-vinyl-1,2,4-triazole copolymer with N-vinylpyrrolidone with silver, gold and selenium nanoparticles and their effect on the functional state of immune system cells *in vitro*.

**Materials and methods.** The study of acute toxicity was performed on outbred white mice. The activity of superoxide dismutase and glucose-6-phosphate dehydrogenase were studied in guinea pig peritoneal macrophages. The study of spontaneous and nanocomposite-induced production of pro- (interferon gamma and tumor necrosis factor alpha) and anti-inflammatory (interleukin-4) cytokines by blood cells was carried out using clinical material obtained from volunteers using the ELISA method.

**Results.** It has been established that nanocomposites with silver and gold nanoparticles do not cause the death of white mice, their temperature increase and body weight decrease. The average lethal dose for a nanocomposite with selenium nanoparticles was determined as 1 gram per 1 kilogram of animal mass. It was shown that the tested nanocomposites have a stimulating effect on the production of cytokines by human blood cells *in vitro*. It was established that a nanocomposite with selenium nanoparticles increases the activity of superoxide dismutase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. A comparative analysis of their actions with the actions of commercial preparations of biological origin, with immunomodulatory properties.

**Conclusion.** The data obtained allow us to substantiate the need for further research on the effects of nanocomposites based on 1-vinyl-1,2,4-triazole copolymer with N-vinylpyrrolidone with silver, gold and selenium nanoparticles on the macroorganism in both *in vitro* and *in vivo* conditions.

**Key words:** nanocomposite, nanoparticle, acute toxicity, macrophage, glucose-6-phosphate dehydrogenase, superoxide dismutase, blood cell, cytokine

**For citation:** Korytov K.M., Dubrovina V.I., Pyatidesyatnikova A.B., Vityazeva S.A., Voitkova V.V., Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S., Ivanova A.A., Balakhonov S.V. Assessment of Toxic and Immunoadjuvant Properties of Nanocomposites. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 102-109. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.13

В настоящее время актуальным направлением исследований в медицине является поиск и создание иммунобиологических препаратов с целью повышения эффективности средств специфической иммунотерапии и иммунопрофилактики. Существующие вакцинные препараты содержат различного рода вещества, добавляемые с целью стабилизации, консервации или сорбции антигена, которые могут приводить к тяжёлым последствиям (осложнения и аллергизация привитых). Кроме того, некоторые бактериальные антигены и продукты геномных технологий, используемые при создании таких препаратов, обладают недостаточной иммуногенностью, поэтому возникает необходимость включения в состав вакцин иммуномодуляторов – природных или синтетических веществ, способных оказывать регулирующее действие на иммунную систему. Количество работ, посвящённых изучению свойств иммуномодуляторов, растёт с каждым годом [1–6]. Интерес к веществам данной группы обусловлен тем, что они способны влиять на отдельные звенья иммунного ответа. Такие свойства иммуномодуляторов играют важное значение при создании вакцин с целью повышения их иммуногенности. Однако не все известные иммуномодуляторы могут быть применены в связи с их токсичностью [3, 4, 5]. Данные обстоятельства обуславливают необходимость создания безопасных и эффективных биоорганических комплексов, способных обеспечить иммунный ответ организма с целью снижения инфекционной заболеваемости.

В настоящее время актуальной является разработка новых биологически активных форм синтетических препаратов медицинского назначения в форме наночастиц [7, 8]. В качестве таких перспективных соединений на данный момент могут выступать водорастворимые полимерные материалы и органо-неорганические полимерные наноконпозиты с наночастицами различных химических веществ, обладающие не только бактерицидными, но и иммуномодулирующими свойствами [9–13].

#### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить острую токсичность полимерных наноконпозитов на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном с наночастицами серебра, золота и селена и их действие на функциональное состояние клеток иммунной системы в условиях *in vitro*.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе в качестве объектов исследования использовали полимерные наноконпозиты на основе сополиме-

ра 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона (СПЛ) с наночастицами серебра (НК-Ag, содержание серебра – 0,8 %, размеры наночастиц – 1–5 нм), золота (НК-Au, содержание золота – 2,2 %, размеры наночастиц – 1–5 нм) и селена (НК-Se, содержание селена – 4,0 %, размеры наночастиц – 20–75 нм). СПЛ синтезировали методом радикальной сополимеризации 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном в присутствии инициатора азобисизобутиронитрила [13]. Наноконпозиты НК-Ag, НК-Au и НК-Se синтезировали методом химического восстановления ионов Ag, Au и Se из нитрата серебра ( $\text{AgNO}_3$ ), золотохлористоводородной кислоты ( $\text{HAuCl}_4$ ) и селенистой кислоты ( $\text{H}_2\text{SeO}_3$ ), соответственно, в водных растворах СПЛ с последующей диализной очисткой через мембрану с размером пор 5 КДа (MFPI, Cellu Sep H1) и лиофильной сушкой. Наноконпозиты растворяли в забуференном физиологическом растворе (ЗФР).

Исследования проводили на 30 морских свинках (масса 200–250 г) и 100 белых беспородных мышах (18–20 г) обоих полов, стандартных по условиям содержания, полученных из питомника ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. Животных выводили из эксперимента в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных и Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях ETS N 123 (Страсбург, 1986) [14].

Для изучения острой токсичности было сформировано 10 групп по 10 особей белых мышей в каждой. Экспериментальные препараты (НК-Ag, НК-Au и НК-Se) вводили подкожно однократно в объёме 0,5 мл в дозах 1,0, 0,1 и 0,01 г сухого вещества на килограмм веса животного. Срок наблюдений составлял семь суток. Каждый день проводился осмотр экспериментальных животных (внешний осмотр, взвешивание, измерение температуры тела). При вскрытии павших животных обращали внимание на изменения в паренхиматозных органах и месте введения препаратов. Среднелетальную дозу ( $LD_{50}$ ) определяли по формуле:  $LD_{50} = Dn - \delta(\sum Li - 0,5)$ , где  $n$  – общее число испытанных доз (разведений),  $Dn$  – максимальная доза из испытанных,  $\delta$  – логарифм отношения каждой последующей дозы к предыдущей, т.е. единица кратности разведений,  $Li$  – отношение числа животных, погибших от введения данной дозы к общему числу животных, которым эта доза была введена.

Для изучения влияния полимерных наноконпозитов на функциональное состояние клеток морских свинок

получали перитонеальные макрофаги согласно методическим рекомендациям [15]. Концентрацию клеток доводили до 10<sup>6</sup> клеток/мл. Макрофаги в условиях *in vitro* примировали НК-Ag, НК-Au или НК-Se в дозах 10, 20, 30 и 40 мкг/мл, в течение 60 мин при 37 °С в термостате. Контролем служили интактные клетки. В качестве дополнительного контроля использовали коммерческий Lipopolysaccharides from *Escherichia coli* 055:B5 (Sigma-Aldrich, США) (далее по тексту ЛПС *E. coli*) с хорошо изученными свойствами.

Определение суммарной активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД) и супероксиддисмутазы (СОД) проводили спектрофотометрическим методом [15]. Учёт оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc, США) при длине волны 340 нм в случае Г6ФД и 490 нм – для СОД. Об активации ферментов (Г6ФД и СОД) перитонеальных макрофагов судили по индексу стимуляции (ИС), который рассчитывали по формуле ИС = ПО/ПК, где ПО – показатель оптической плотности в опытной группе), ПК – показатели оптической плотности в контрольной группе, значения ИС выражали в условных единицах (у.е.).

При изучении действия экспериментальных препаратов на продукцию клетками крови цитокинов интерферон-γ (IFN-γ), фактор некроза опухоли-α (TNF-α) и интерлейкин-4 (IL-4) использовали кровь от 11 условно-здоровых добровольцев обоих полов в возрасте 28–60 лет.

Исследование спонтанной/индуцированной продукции цитокинов клетками крови человека проводили в группах: 1 – образцы со спонтанной продукцией цитокинов (контроль); 2 – индуцированные конканавалином А; 3 – индуцированные ЛПС *E. coli*; 4 – индуцированные полимерным НК-Ag; 5 – индуцированные НК-Au; 6 – индуцированные НК-Se. Для этого гепаринизированную кровь в объёме 1 мл смешивали со средой RPMI-1640 (Пан-Эко, Россия) в соотношении 1:3. К 1 мл смеси добавляли тестируемые препараты в концентрации 10, 20, 30 и 40 мкг/мл и инкубировали в течение 24 часов при 37 °С в термостате. В качестве положительного контроля использовали коммерческий Т-клеточный митоген конканавалин А (Пан-Эко, Россия) в конечной концентрации 15 мкг/мл, в образцы со спонтанной продукцией добавляли ЗФР. Уровень цитокинов определяли методом твердофазного иммуоферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем (Вектор-Бест, Россия) согласно инструкции производителя, полученные данные выражали в пг/мл.

**Этическая экспертиза**

В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Все участники прошли предварительное анкетирование и подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол утверждён локальным этическим комитетом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский

**Таблица 1**

**Спонтанная и индуцированная конканавалином А, ЛПС *E. coli* и наноконкомпозитами продукция цитокинов (IFN-γ, TNF-α, IL-4) клетками крови, Me (Q25%–Q75%)**

**Table 1**

**Spontaneous and induced by concanavalin A, LPS *E. coli* and nanocomposites production of cytokines (IFN-γ, TNF-α, IL-4) by blood cells, Me (Q25%–Q75%)**

| Наименование препарата | Доза, мкг/мл | IFN-γ, пг/мл     | TNF-α, пг/мл      | IL-4, пг/мл    |
|------------------------|--------------|------------------|-------------------|----------------|
| Референсные значения   | –            | 0–14             | 1–42              | 0–2,4          |
| Контроль               | –            | 180 (100–280)    | 60 (60–550)       | 0 (0–1,0)      |
| Конканавалин А         | 15           | 240 (240–800)*   | 60 (60–1000)      | 0,5 (0–2,0)    |
|                        | 10           | 350 (200–1100)   | 4300 (3550–4450)* | 1 (1,0–1,0)    |
|                        | 20           | 650 (350–950)*   | 3600 (2510–4700)* | 1,3 (1,0–1,5)  |
| ЛПС <i>E. coli</i>     | 30           | 500 (350–800)*   | 2910 (1910–3750)* | 1,3 (0,5–1,5)  |
|                        | 40           | 1100 (650–1100)* | 4450 (4000–4850)* | 1,5 (1,3–1,6)* |
|                        | 10           | 155 (65–250)     | 495 (60–1235)     | 0 (0–1,0)      |
| НК-Ag                  | 20           | 65 (10–230)      | 345 (60–775)      | 1,0 (0,3–2,1)  |
|                        | 30           | 160 (90–200)     | 495 (140–1000)    | 1,8 (1,0–2,3)* |
|                        | 40           | 180 (110–270)    | 345 (100–700)     | 1,0 (0,5–1,3)* |
| НК-Au                  | 10           | 110 (10–300)     | 850 (140–1000)*   | 1,0 (0–1,5)    |
|                        | 20           | 10 (10–200)      | 850 (140–1150)*   | 1,5 (1,0–1,6)* |
|                        | 30           | 10 (10–260)      | 400 (140–1000)    | 1,0 (0,5–1,5)  |
| НК-Se                  | 40           | 110 (10–240)     | 550 (140–850)*    | 1,5 (1,0–2,0)* |
|                        | 10           | 65 (10–130)      | 140 (140–400)     | 0,8 (0–1,3)    |
|                        | 20           | 135 (10–280)     | 350 (140–775)     | 0,5 (0–1,3)    |
| НК-Se                  | 30           | 155 (105–290)    | 650 (140–1600)*   | 1,0 (0,3–1,3)  |
|                        | 40           | 260 (10–380)     | 220 (140–1470)*   | 0,8 (0–1,0)    |

Примечание. \* –  $p < 0,05$  при сравнении с показателем в контроле.  
 Note.  $p < 0.05$  when compared with the indicator in the control.

противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора.

**Статистический анализ**

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» версия 6.1 непараметрическими критериями Крускала – Уоллиса и Манна – Уитни, так как сравниваемые выборки не соответствовали условиям нормальности распределения, оценку которой проводили с помощью W-критерия Шапиро – Уилка. Полученные данные выражали в виде медианы (Me) и диапазона квартильных отклонений (Q25%–Q75%). При этом различия считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

При испытании тестируемых препаратов (НК-Ag, НК-Au) на острую токсичность установлено, что они при однократном подкожном введении в дозах 1,0, 0,1 и 0,01 г сухого вещества на килограмм веса животного

не вызывали гибели белых мышей, а также повышения температуры и уменьшения массы тела по сравнению с исходными значениями. Важно отметить, что при подкожном введении экспериментальным животным НК-Se в дозе 1,0 г/кг массы наблюдалась гибель 50 % особей, у которых при вскрытии отмечалось изменение цвета печени (глинистый цвет), что может указывать на развитие интоксикации. LD<sub>50</sub> для этого препарата составила 1,0 г/кг массы животного.

Согласно полученным результатам статистически значимые различия между спонтанной и индуцированной конканавалином А продукцией цитокинов были установлены лишь в случае IFN-γ (табл. 1), тем не менее в отношении TNF-α и IL-4 можно говорить о тенденции к повышению уровня этих цитокинов под влиянием этого митогена ( $0,1 > p > 0,05$ ).

Экспериментально показано, что НК-Au в дозах 10, 20 и 40 мкг повышал продукцию TNF-α в среднем в 12,3 раза, а в случае с НК-Se в дозах 30 и 40 мк – в 10,8 и 3,7 раза

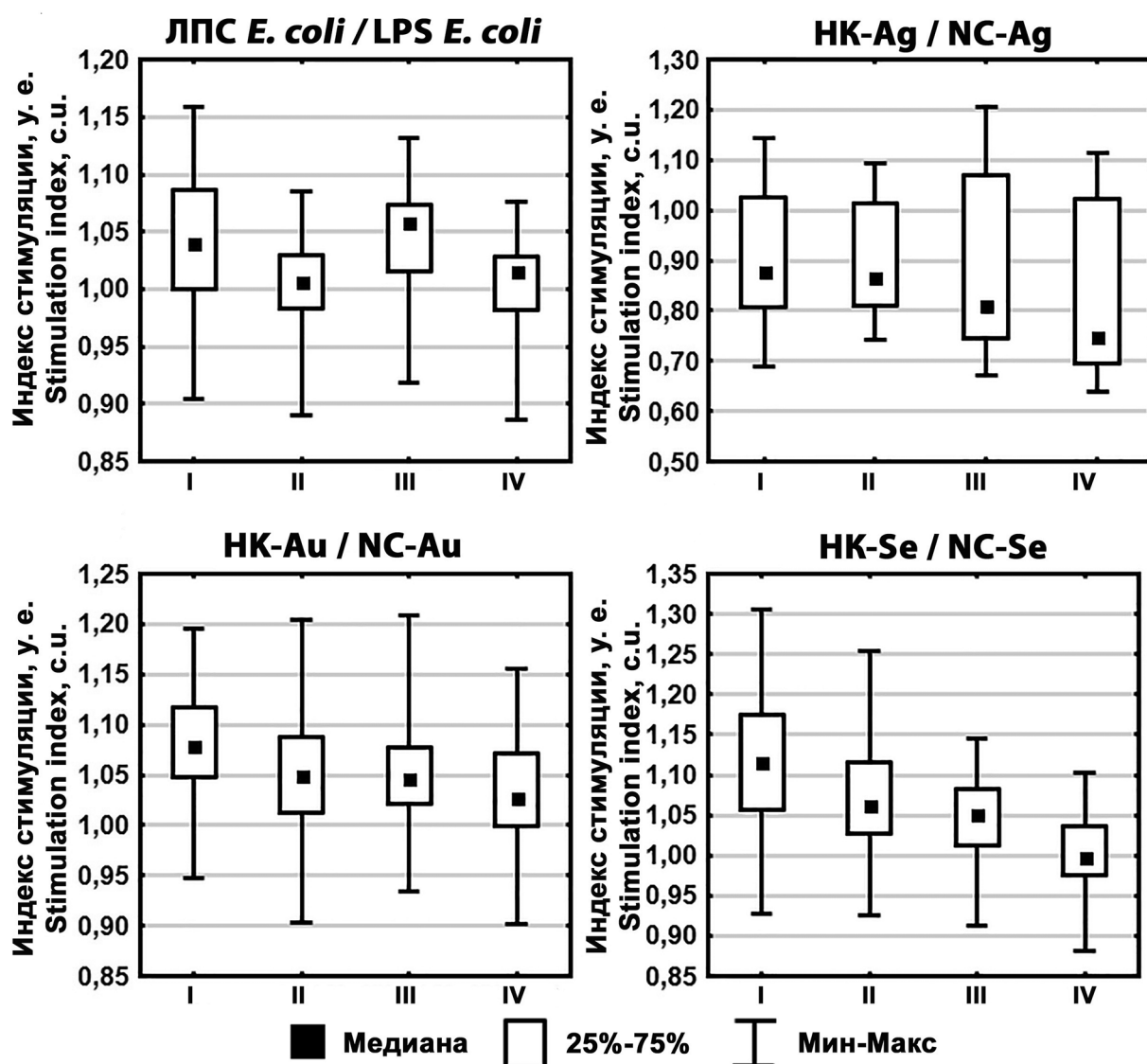


Рис. 1. Индекс стимуляции Г6ФД перитонеальных макрофагов под влиянием ЛПС *E. coli* и нанокompозитов, Me (Q25%–Q75%). I – концентрация 40 мкг/мл, II – концентрация 30 мкг/мл, III – концентрация 20 мкг/мл, IV – концентрация 10 мкг/мл.

Fig. 1. G6PD stimulation index of peritoneal macrophages under the influence of LPS *E. coli* and nanocomposites, Me (Q25%–Q75%). I – concentration 40 μg/ml, II – concentration 30 μg/ml, III – concentration 20 μg/ml, IV – concentration 10 μg/ml.



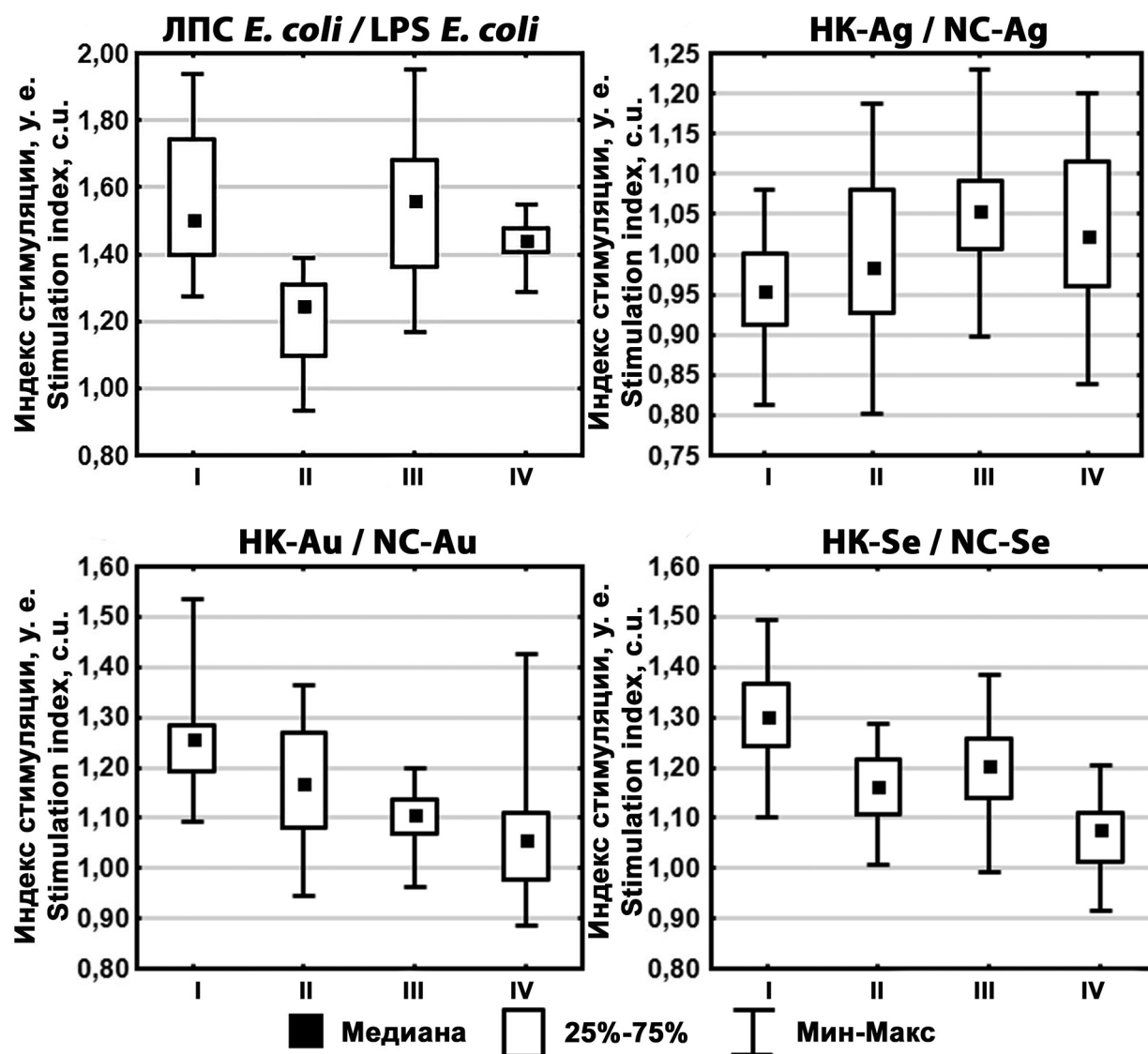


Рис. 2. Индекс стимуляции СОД перитонеальных макрофагов под влиянием ЛПС *E. coli* и нанокompозитов, Me (Q25%–Q75%). I – концентрация 40 мкг/мл, II – концентрация 30 мкг/мл, III – концентрация 20 мкг/мл, IV – концентрация 10 мкг/мл.

Fig. 2. SOD stimulation index of peritoneal macrophages under the influence of LPS *E. coli* and nanocomposites, Me (Q25%–Q75%). Note: I – concentration 40 μg/ml, II – concentration 30 μg/ml, III – concentration 20 μg/ml, IV – concentration 10 μg/ml.

соответственно, по сравнению со спонтанными пробами ( $p < 0,05$ ). ЛПС *E. coli* в аналогичных дозах значительно, в среднем в 63,6 раза ( $p < 0,05$ ), увеличивал продукцию TNF-α клетками крови человека в сравнении с показателями в контроле. Вместе с этим, выявлено отличие ЛПС *E. coli* от T-клеточного митогена конканавалина А. Так, показатели концентрации цитокина у первого препарата статистически значимо выше ( $p < 0,05$ ), в среднем в 63,6 раза, чем в случае конканавалина А. Стоит отметить, что достоверных различий эффектов действия нанокompозитов с наночастицами серебра, золота и селена при сравнении друг с другом независимо от дозы обнаружено не было.

При анализе продукции IFN-γ (табл. 1) было показано, что конканавалин А достоверно повышал концентрацию данного цитокина в 1,3 раза, в случае ЛПС *E. coli* в дозах 20, 30 и 40 мкг – в 3,6, 2,7 и 6,1 раза соответственно ( $p < 0,05$ ) в сравнении с показателями в контроле. Отличий между спонтанной и индуцированной нанокompозитами с на-

ночастицами серебра, золота и селена продукцией IFN-γ выявлено не было, однако имела место тенденция к повышению концентрации данного цитокина в сравнении с показателями в контроле ( $0,1 > p > 0,05$ ).

Установлено, что ЛПС *E. coli* вызывал достоверное повышение синтеза IL-4 лишь в дозе 40 мкг ( $p < 0,01$ ), в случае НК-Ag в дозах 30 и 40 мкг и НК-Au – 20 и 40 мкг ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем. Стоит отметить, что у всех тестируемых препаратов при сравнении их действия на продукцию IL-4 с показателями в контроле отмечалась тенденция к повышению концентрации данного цитокина ( $0,1 > p > 0,05$ ).

Согласно результатам непараметрического дисперсионного анализа (критерий Крускала – Уоллиса) статистически значимых различий показателей концентраций цитокинов (TNF-α, IFN-γ, IL-4) клетками крови при действии нанокompозитов и коммерческих препаратов (конканавалином А и ЛПС *E. coli*) не было выявлено ( $p > 0,05$ ).

Активность ГбФД перитонеальных макрофагов, примированных ЛПС *E. coli* в дозах 10, 20, 30 и 40 мкг, статистически значимо выше, чем в пробах с интактными клетками ( $p < 0,05$ ). При этом достоверных различий между выборками с разными дозами выявлено не было (рис. 1). В случае с НК-Ag также не установлены различия между дозами, тем не менее ИС статистически значимо ниже, чем НК-Au и НК-Se ( $p < 0,01$ ). Стоит отметить, что НК-Se в дозе 40 мкг обладал самым высоким стимулирующим влиянием на активность ГбФД перитонеальных макрофагов морских свинок среди всех тестируемых препаратов ( $p < 0,01$ ).

Показано, что ЛПС *E. coli* стимулирует активность СОД независимо от дозы, превышая показатели в контроле в среднем в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ). Сходным действием обладали нанокompозиты с наночастицами золота и селена в высокой дозе 40 мкг, тем самым повышая активность СОД в 1,3 и 1,2 раза соответственно ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

Таким образом, при испытании тестируемых препаратов НК-Ag и НК-Au на острую токсичность  $LD_{50}$  для белых мышей не установлена. При однократном подкожном введении этих препаратов в дозах 1,0, 0,1 и 0,01 г сухого вещества на килограмм веса животного повышение температуры и уменьшение массы тела не выявлено. Следует отметить, что ранее нами было отмечено развитие некроза и яркое окрашивание в чёрный цвет подлежащей ткани при введении экспериментальным животным НК-Au (содержание золота 8,3 %, размеры наночастиц – в диапазоне 1–14 нм, из них преимущественное количество наночастиц золота (90 %) имеют размеры 1–4 нм) в дозах 1,0 и 0,1 г/кг, а также патоморфологическое изменение печени в случае применения НК-Au в дозе 1,0 г/кг [9]. В настоящем исследовании подобных изменений не было зарегистрировано, что возможно связано со снижением содержания металлов в НК (НК-Au, содержание золота 2,2 %, размеры наночастиц – 1–5 нм). Для препарата НК-Se установлена  $LD_{50}$  – 1,0 г/кг массы животного, что указывает на токсичность данного препарата в указанной дозе.

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют, что тестируемые нанокompозиты с наночастицами серебра, золота и селена обладали способностью стимулировать продукцию про- и противовоспалительных цитокинов клетками крови человека в условиях *in vitro*. Так, НК-Ag и НК-Au достоверно повышали концентрацию IL-4, а НК-Au и НК-Se – TNF- $\alpha$ , тем не менее у всех тестируемых препаратов независимо от дозы показана тенденция к увеличению синтеза IL-4, что подтверждает ранее проведённые исследования [9].

Установлено, что достоверному увеличению активности антиоксидантного фермента СОД и ГбФД (главного фермента пентозофосфатного пути) перитонеальными макрофагами морских свинок способствовал только препарат НК-Se в высокой дозе (40 мкг/мл). Следует отметить, что активность СОД также стимулировал НК-Au в дозе 40 мкг, но в гораздо меньшей степени, чем было продемонстрировано ранее [9], что также объясняется снижением содержания металла в составе нанокompозита.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом данное исследование продемонстрировало способность нанокompозитов с наночастицами серебра,

золота и селена стимулировать функциональную активность перитонеальных макрофагов и клеток крови. Тем не менее цитокиновый статус (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), активность СОД и ГбФД, а также токсические свойства НК-Ag и НК-Au зависят от содержания металлов в составе сополимера 1-винилтриазола с N-винилпирролидоном, что подтверждается ранее полученными данными при изучении металлосодержащих нанокompозитов [6].

Полученные данные позволяют обосновать необходимость дальнейшего всестороннего исследования действий полимерных нанокompозитов на основе сополимера 1-винилтриазола с N-винилпирролидоном с наночастицами серебра, золота и селена в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*.

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Немировская Т.И., Ковтун В.П., Абрамцева М.В., Александрова Н.В., Тарасов А.П., Салахова Р.Д., Волков В.А., Меркулов В.А. Иммуномодуляторы бактериальной природы, зарегистрированные в Российской Федерации. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2014; (3): 19-26.
2. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. *Современные иммуномодуляторы. Классификация. Механизм действия*. М.: ФАРМАРУС ПРИНТ; 2005.
3. Романцов М.Г., Шульдякова О.Г., Коваленко А.Л. Иммуномодуляторы с противовирусной активностью: опыт применения метилглюкамина акридоната в педиатрической практике. *Фундаментальные исследования*. 2004; 1: 29-33.
4. Смирнов В.С. *Профилактика и лечение гриппа и острых респираторных вирусных инфекций*. СПб.: АЙСИНГ; 2012.
5. Bascones-Martinez A, Mattila R, Gomez-Font R, Meurman JH. Immunomodulatory drugs: Oral and systemic adverse effects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014; 19(1): 24-31.
6. Балахонов С.В. (ред.) *Иммуномодулирующее действие металлосодержащих нанокompозитов*. Иркутск: Мегаринт; 2017.
7. Broz P. *Polymer-Based Nanostructures: Medical Applications*. RSC Publishing, Cambridge; 2010.
8. Jones CF, Grainger DW. In vitro assessments of nanomaterial toxicity. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 61 (6): 438-456. doi.org/10.1016/j.addr.2009.03.005
9. Дубровина В.И., Витязева С.А., Корытов К.М., Пятидесятникова А.Б., Войткова В.В., Прозорова Г.Ф., Поздняков А.С., Иванова А.А., Балахонов С.В. Функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы под действием сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и металлосодержащих нанокompозитов. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(5): 132-136. https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.19
10. Прозорова Г.Ф., Коржова С.А., Поздняков А.С., Емельянов А.И., Ермакова Т.Г., Дубровина В.И. Иммуномодулирующие свойства серебросодержащего нанокompозита на основе поливинилтриазола. *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2015; 64(6): 1437-1439.
11. Dallas P, Zboril R, Sharma VK. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives.

*Adv Colloid Interface Sci.* 2011; 166(1-2): 119-135. doi.org/10.1016/j.cis.2011.05.008

12. Dubrovina VI, Balakhonov SV, Voitkova VV, Vityazeva SA, Starovoitova TP, Korytov KM, Prozorova GF, Aleksandrova GP, Kolesnikov SI. Effect of metal-containing nanocomposites on functional status of the thymus in experimental animals. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 162(5): 666-670. doi.org/10.1007/s10517-017-3683-4

13. Поздняков А.С., Иванова А.А., Емельянов А.И., Ермакова Т.Г., Прозорова Г.Ф. Наноконпозиты с наночастицами серебра на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном. *Известия Академии наук. Серия химическая.* 2017; (6): 1099-1103.

14. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В. (ред.) *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях.* М.: Профиль; 2010.

15. Дубровина В.И., Коновалова Ж.А., Колесникова О.Б. *Методические рекомендации по определению функционального состояния фагоцитов в качестве показателя неспецифической защиты организма.* Иркутский НИПЧИ; 2008.

#### REFERENCES

1. Nemirovskaya TI, Kovtun VP, Abramtseva MV, Alexandrova NV, Tarasov AP, Salakhova RD, Volkov VA, Merkulov VA. Immunomodulators of bacterial origin registered in the Russian Federation. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie.* 2014; (3): 19-26. (In Russ.)

2. Khaitov RM, Pinegin BV. *Modern immunomodulators. Classification. Mechanism of action.* М.: FARMARUS PRINT; 2005. (In Russ.)

3. Romantsov MG, Shuldyakova OG, Polyakov VK, Kovalenko AL. Immunomodulators with antiviral activity: methylglucamine acridoneacetate in pediatrics. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2004; 1: 29-33. (In Russ.)

4. Smirnov VS. *Prevention and treatment of influenza and acute respiratory viral infections.* Sankt-Peterburg: AYSING; 2012. (In Russ.)

5. Bascones-Martinez A, Mattila R, Gomez-Font R, Meurman JH. Immunomodulatory drugs: Oral and systemic adverse effects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014; 19(1): 24-31.

6. Balakhonov SV. (ed.) *Immunomodulatory effects of metal-containing nanocomposites.* Irkutsk: Megaprint; 2017. (In Russ.)

7. Broz P. *Polymer-Based Nanostructures: Medical Applications.* RSC Publishing, Cambridge; 2010.

8. Jones CF, Grainger DW. In vitro assessments of nanomaterial toxicity. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009; 61(6): 438-456. doi.org/10.1016/j.addr.2009.03.005

9. Dubrovina VI, Vityazeva SA, Korytov KM, Pyatidesyatnikova AB, Voytkova VV, Prozorova GF, Pozdnyakov AS, Ivanova AA, Balakhonov SV. Action of 1-Vinyl-1,2,4-Triazole Copolymer with N-Vinylpyrrolidone and Metal-Containing Nanocomposites on Functional State of Phagocytic Cells. *Acta biomedica scientifica.* 2018; 3(5): 132-136. doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.19 (In Russ.)

10. Prozorova GF, Korzhova SA, Pozdnyakov AS, Emelyanov AI, Ermakova TG, Dubrovina VI. Immunomodulatory properties of silver-containing nanocomposite on the basis of polyvinyltriazole. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya.* 2015; 64(6): 1437-1439. (In Russ.)

11. Dallas P, Zboril R, Sharma VK. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Adv Colloid Interface Sci.* 2011; 166(1-2): 119-135. doi.org/10.1016/j.cis.2011.05.008

12. Dubrovina VI, Balakhonov SV, Voitkova VV, Vityazeva SA, Starovoitova TP, Korytov KM, Prozorova GF, Aleksandrova GP, Kolesnikov SI. Effect of metal-containing nanocomposites on functional status of the thymus in experimental animals. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 162(5): 666-670. doi.org/10.1007/s10517-017-3683-4

13. Pozdnyakov AS, Ivanova AA, Emelyanov AI, Ermakova TG, Prozorova GF. Nanocomposites with silver nanoparticles based on copolymer of 1-vinyl-1,2,4-triazole with N-vinylpyrrolidone. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya.* 2017; (6): 1099-1103. (In Russ.)

14. Karkishchenko NN, Grachev SV. (Ed.) *Guidelines to work with laboratory animals and alternative models in biomedical technologies.* М.: Профиль; 2010. (In Russ.)

15. Dubrovina VI, Konovalova ZA, Kolesnikova OB. *Guidelines for determining the functional state of phagocytes as an indicator of nonspecific protection of the organism.* Irkutskiy NIPChI; 2008. (In Russ.)

#### Сведения об авторах

**Корытов Константин Михайлович** – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

**Дубровина Валентина Ивановна** – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: [dubrovina-valya@mail.ru](mailto:dubrovina-valya@mail.ru), ORCID <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

**Витязева Светлана Александровна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии чумы, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-0959-4987>

**Пятидесятникова Анна Борисовна** – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

**Войткова Валентина Владимировна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-0685-7625>

**Прозорова Галина Фирсовна** – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, e-mail: [prozorova@iioch.irk.ru](mailto:prozorova@iioch.irk.ru), ORCID <http://orcid.org/0000-0003-3833-9002>

**Поздняков Александр Сергеевич** – кандидат химических наук, заведующий лабораторией функциональных полимеров, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-9365-3697>

**Иванова Анастасия Андреевна** – аспирант, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-4738-8906>

**Балахонов Сергей Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: [adm@chumin.irkutsk.ru](mailto:adm@chumin.irkutsk.ru), ORCID <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

**Information about the authors**

**Konstantin M. Korytov** – Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. ORCID <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

**Valentina I. Dubrovina** – Dr. Sc. (Biol.), Head of Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: [dubrovina-valya@mail.ru](mailto:dubrovina-valya@mail.ru), ORCID <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

**Svetlana A. Vityazeva** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Department of Plague Microbiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. ORCID <http://orcid.org/0000-0003-0959-4987>

**Anna B. Pyatidesyatnikova** – Junior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

**Valentina V. Voitkova** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-0685-7625>

**Galina F. Prozorova** – Dr. Sc. (Chem.), Leading Research Officer, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, e-mail: [prozorova@iriocch.irk.ru](mailto:prozorova@iriocch.irk.ru), ORCID <http://orcid.org/0000-0003-3833-9002>

**Aleksandr S. Pozdnyakov** – Cand. Sc. (Chem.), Head of the Laboratory of Functional Polymers, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-9365-3697>

**Anastasiya A. Ivanova** – Graduate Student, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-4738-8906>

**Sergey V. Balakhonov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: [adm@chumin.irkutsk.ru](mailto:adm@chumin.irkutsk.ru), ORCID <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

**Информация о вкладе авторов**

Корытов К.М. – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи

Дубровина В.И. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи

Витязева С.А. – планирование и проведение эксперимента на острую токсичность препаратов, учёт и анализ результатов, написание раздела статьи по острой токсичности препаратов

Пятидесятникова А. Б. – постановка реакций, учёт результатов

Войткова В.В. – планирование эксперимента, анализ результатов, оформление статьи

Прозорова Г.Ф. – получение экспериментальных нанокомпозитов, участие в оформлении раздела «Материалы и методы»

Поздняков А.С. – получение экспериментальных нанокомпозитов, участие в оформлении раздела «Материалы и методы»

Иванова А.А. – получение экспериментальных нанокомпозитов

Балахонov С.В. – планирование научной темы, оформление статьи

Статья получена: 01.04.2019. Статья принята: 29.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.  
Received: 01.04.2019. Accepted: 29.04.2019. Published: 26.06.2019.