ავტორის სტილი დაცულია

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

მედიცინის ფაკულტეტი

დოქტორანტურის საგანმანათლებლო პროგრამა
„კლინიკური და ტრანსლაციური მედიცინა“

ნინო ქირია

ვერცხლის ნანონაწილაკების ეფექტურობისა და უსაფრთხოების შესწავლა რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის იზოლატებში

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარმოდგენილი
დისერტაცია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი

ლალი შარვაძე, ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელ;მწიფო უნივერსიტეტის ინფექციური დაავადებებისა და კლინიკური იმუნოლოგიის დეპარტამენტის სრული პროფესორი

თბილისი

2025

აბსტრაქტი

პრობლემის აქტუალობა: ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების მიმართ მზარდი რეზისტენტობა სერიოზულ საფრთხეს უქმნის ტუბერკულოზის კონტროლის მომავალს და ქმნის ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების ლანდშაფტის გაფართოების აუცილებლობას ახალი მედიკამენტების სინთეზირებისა და არსებული პრეპარატების ეფექტურობის აღდგენის გზით. ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების მიმართ პათოგენის მდგრადობის გადასალახად ერთ-ერთ პერსპექტიულ მიმართულებას ნანოტექნოლოგიებზე დაფუძნებული სამკურნალწამლო საშუალებების შექმნა წარმოადგენს. სხვადასხვა დაავადების გამომწვევ რეზისტენტული პათოგენების შტამებზე დიდ ექსპერიმენტულ მასალაზე დადასტურებული ვერცხლის ნანონაწილაკების (AgNPs) ბაქტერიციდული აქტივობის მიუხედავად, მწირია მონაცემები AgNPs-ის მოქმედების თავისებურებების შესახებ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიაზე. პრაქტიკულად შეუსწავლელია AgNPs-ის ტუბერკულოზის სამკურნალო ძირითად მედიკამენტთან - რიფამპიცინთან ერთად გამოყენების პერსპექტიული სტრატეგია მისი ეფექტურობის შეფასებითა და ნანოკომპოზიტური პრეპარატის შექმნის შესაძლებლობით.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ოვალური ფორმის 20ნმ მეტალური AgNPs -ის ეფექტურობისა და უსაფრთხოების შესწავლა, აგრეთვე მისი პოტენციალის შეფასება რიფამპიცინის ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღდგენის კუთხით რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის (RR-MTB) იზოლატებზე.

მასალა და მეთოდები: კვლევაში გამოყენებულ იქნა 20 ნმ ზომის, სფერული ფორმის მეტალური AgNPs. ექსპერიმენტი ჩატარდა ფილტვების ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისაგან მიღებულ RR-MTB 105 კულტურაზე. ექსპერიმენტი განხორციელდა თხევად საკვებ ნიადაგებზე BACTEC™ MGIT™ 960 სისტემის მეშვეობით. AgNPs-ის უსაფრთხოება შესწავლილ იქნა ექსპერიმენტულ ცხოველებში (45 ვირთაგვა). სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა IBM SPSS Statistics პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით (ვერსია 29.0.2.0).

შედეგები: კვლევის პირველ ეტაპზე RR-MTB იზოლატებზე AgNPs-ის მაინჰიბირებელი ეფექტის შესასწავლად RR-MTB კლინიკური იზოლატების შემცველ 35 სინჯარას დაემატა AgNPs-ის სუსპენზიის 6 განსხვავებული (0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5%; 10%)კონცენტრაცია. კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ AgNPs -ის 0,25%, 0,5% და 1% სუსპენზიებს არ გააჩნიათ მაინჰიბირებელი ეფექტი RR-MTB იზოლატებზე. მინიმალური მაინჰიბირებელი ეფექტი დაფიქსირდა AgNPs-ის 2,5% სუსპენზიის დამატებისას, ვერცხლის ნანონაწილაკების 5,0% და 10,0% სუსპენზიის ზემოქმედებისას კი დაფიქსირდა RR-MTB შტამების ზრდის სრული ინჰიბირება. ვინაიდან in vitro ჩატარებულმა ბაქტერიულმა კვლევამ დაადასტურა AgNPs-ის 2,5% და 5,0% კონცენტრაციების შესაბამისად მინიმალური მაინჰიბირებელი და ბაქტერიციდული აქტივობა RR-MTB იზოლატების მიმართ, შეფასდა მათი უსაფრთხოების პროფილი ექსპერიმენტულ ცხოველებზე AgNPs-ის 2.5% და 5% კონცენტრაციების მაღალი და ზემაღალი დოზების ერთჯერადი, ასევე 5% AgNPs 500 მგ/კგ-ის მრავალჯერადი გამოყენების შედეგების ანალიზის საფუძველზე. დადგინდა AgNPs-ის სუსპენზიების საკვლევი დოზირებების სრული უსაფრთხოება ცხოველების ბიომეტრულ, ლაბორატორიულ, ფუნქციონალურ და ჰისტო-მორფოლოგიურ პარამეტრებზე. კვლევის მეორე ეტაპზე შესწავლილ იქნა რიფამპიცინის (RIF) სტანდარტული დოზისა და AgNPs-ის 6 სხვადასხვა (0,25%, 0,5%, 1%, 2.5%, 5%, 10%) კონცენტრაციის სუსპენზიის (ნანოკომპოზიტი) გამოყენების ეფექტურობა RR-MTB 70 კლინიკურ იზოლატზე. RR-MTB იზოლატებზე RIF სტანდარტული დოზისა და AgNPs-ის შემცველი ნანოკომპოზიტის (R/AgNPs) დამატებისას დაფიქსირდა RR-MTB კულტურებზე იზოლირებულად AgNPs ზემოქმედებით დადგენილი ზრდის დათრგუნვის იდენტური ტენდენცია: RIF სტანდარტული დოზისა და AgNPs -ის სუსპენზიის 0,25%, 0,5% და 1% კომპოზიტების სრული არაეფექტურობა; RR-MTB შტამის ინჰიბირების ინიცირება R/AgNPs 2,5% სუსპენზიის გამოყენებისას და ზრდის სრული დათრგუნვა R/AgNPs -ის 5% და 10% სუსპენზიის დამატებისას. R/AgNPs 2.5%-იანი კონცენტრაციის შემცველი ნანოკომპოზიტის გამოყენებისას RR-MTB -ის მიმართ ბაქტერიციდული ეფექტის არსებობა დაფიქსირდა შემთხვევების 80%-ში, რაც 10%-ით აღემატება იზოლირებულად მხოლოდ AgNPs დამატებით (70%) მიღებულ ბაქტერიციდულ ეფექტს, რაც ადასტურებს RR-MTB იზოლატებზე AgNPs-ის მაპოტენცირებელი მოქმედებას

რიფამპიცინის მიმართ ტუბ.მიკობაქტერიის გამძლეობის დასაძლევად; მიუთითებს AgNPs -ის მიერ RIF-ის მოქმედების პოტენცირებაზე და იწვევს მის მიმართ არსებული რეზისტენტობის დაძლევას.

დასკვნა: კვლევის ძირითადი შედეგი- in vitro AgNPs-ის მეშვეობით ყველაზე ეფექტური ანტიტუბერკულოზური მედიკამენტის- რიფამპიცინის ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღდგენა RR-MTB იზოლატებში, იძლევა შემდგომი გაღრმავებული კვლევების გაგრძელების მეცნიერულად არგუმენტირებულ საფუძველს RIF და AgNPs კომპოზიტური პრეპარატის შესაქმნელად, რაც მნიშვნელოვან წვლილს შეიტანს გლობალურად რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის კონტროლის გაუმჯობესებაში.

Abstract

Introduction: The growing resistance to anti-tuberculosis drugs poses a serious threat to the future of tuberculosis control, creating an urgent need to expand the arsenal of effective treatments. This can be addressed both by synthesizing new drugs and by restoring the efficacy of existing ones. One promising approach to overcoming tuberculosis pathogen resistance is the development of nanotechnology-based therapeutics. Although the bactericidal activity of silver nanoparticles (AgNPs) has been widely demonstrated against various resistant pathogens; data on their specific effects on *Mycobacterium tuberculosis* remain limited. A particularly promising strategy involves the use of AgNPs in combination with rifampicin—the primary drug used to treat tuberculosis. However, the effectiveness of this combination and the potential for developing a nanocomposite formulation remain largely unexplored.

This study aimed to evaluate the efficacy and safety of 20 nm, oval-shaped metallic AgNPs, as well as to assess their potential to restore the anti-tuberculosis activity of rifampicin against rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (RR-MTB) isolates.

Materials and Methods: The research utilized 20 nm spherical metallic AgNPs and was conducted on 105 RR-MTB cultures obtained from the sputum of patients with pulmonary tuberculosis. Experiments were performed in liquid nutrient media using the BACTEC™ MGIT™

960 system. The safety of AgNPs was evaluated in an experimental study involving 45 rats. Statistical analysis was conducted using IBM SPSS Statistics software (version 29.0.2.0). **Results:** In the first stage of the study, the inhibitory effect of AgNPs on RR-MTB isolates was investigated. Six different concentrations of AgNPs suspensions (0.25%, 0.5%, 1%, 2.5%, 5%, and 10%) were added to 35 tubes containing clinical RR-MTB isolates. The results showed that 0.25%, 0.5%, and 1% AgNP suspensions had no inhibitory effect. A minimal inhibitory effect was observed at a concentration of 2.5%, while complete inhibition of RR-MTB growth occurred at 5 % and 10% concentrations. As in vitro study demonstrated minimal inhibitory activity at 2.5% and bactericidal activity at 5%, the safety profile of these concentrations was further assessed in experimental animals. This included a single administration of high and ultra-high doses of the 2.5% and 5% AgNPs suspensions, as well as multiple administrations of the 5% AgNPs at a dosage of 500 mg/kg. The study confirmed the complete safety of the tested AgNPs concentrations based on biometric, laboratory, functional, and histo-morphological parameters in the animal models. At the second stage of the study, the effectiveness of using a standard dose of rifampicin (RIF) and six different concentrations (0.25%, 0.5%, 1%, 2.5%, 5%, 10%) of AgNPs suspension (nanocomposite) on 70 clinical isolates of RR-MTB was studied. When a standard dose of RIF and a nanocomposite containing AgNPs (R/AgNPs) was added to RR-MTB isolates, an identical trend of growth inhibition was observed as in RR-MTB cultures exposed to AgNPs alone: complete ineffectiveness of the standard dose of RIF and the 0.25%, 0.5%, and 1% AgNPs suspension composites. Initiation of growth inhibition of the RR-MTB strain started at 2.5% R/AgNPs suspension. Complete inhibition was demonstrated at 5% and 10% R/AgNPs suspensions. When using a nanocomposite containing 2.5% R/AgNPs, a bactericidal effect against RR-MTB was observed in 80% of cases, which is 10% higher than the bactericidal effect obtained with the addition of AgNPs alone (70%). This confirms the potentiating effect of AgNPs on RR-MTB isolates in overcoming resistance to rifampicin. This indicates that AgNPs potentiate the action of RIF and contribute to overcoming existing resistance.

Conclusion: The primary finding of this study - the in vitro restoration of the anti-tuberculosis efficacy of rifampicin, the most effective anti-TB drug, against rifampicin-resistant

Mycobacterium tuberculosis (RR-MTB) isolates through the use of AgNPs - provides a strong scientific foundation for further in-depth research aimed at developing a R/AgNPs composite drug. Such a therapeutic advancement could significantly enhance global efforts to control rifampicin-resistant tuberculosis.

სარჩევი

აბსტრაქტი II

ცხრილების, გრაფიკებისა და სურათების ჩამონათვალი IX

აბრევიატურები XIII

2.0 ძირითადი ნაწილი 1

2.1. შესავალი 1

2.1.1. პრობლემის აქტუალობა 1

2.1.2. კვლევის მიზანი და ამოცანები 3

2.1.3. კვლევის მეცნიერული სიახლე 4

2.1.4. კვლევის პრაქტიკული ღირებულება 5

2.2. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა 5

2.2.1. რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზი- საზოგადოებრივი ჯანდაცვის აქტუალური პრობლემა, თანამედროვე გამოწვევები 5

2.2.2. ვერცხლის ნანონაწილაკები- ახალი პარადიგმა რეზისტენტული ტუბერკულოზის მკურნალობაში 18

2.3. კვლევის დიზაინი და მეთოდები 30

2.3.1. In vitro რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის (RR-MTB) შტამებზე ვერცხლის ნანონაწილაკების (AgNPs) მაინჰიბირებელი ზემოქმედების შესწავლის მეთოდიკა და მასალები 30

2.3.2. ვერცხლის ნანონაწილაკების (AgNPs) უსაფრთხოების შესწავლა ექსპერიმენტულ ცხოველებში 34

2.3.3. კვლევის ეთიკის საკითხები 39

2.4. კვლევის შედეგები და მათი ანალიზი 40

2.4.1. რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის შტამებზე in vitro ვერცხლის ნანონაწილაკების დამთრგუნველი ეფექტის შეფასება 40

2.4.2. 20 ნმ მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების ერთჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შეფასება ექსპერიმენტულ ცხოველებში 45

2.4.3. ვერცხლის ნანონაწილაკების მრავალჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შეფასება ექსპერიმენტულ ცხოველებში.....52

2.4.4. კვლევის შედეგების განხილვა.....56

2.5. დასკვნები 65

2.6 რეკომენდაცია 67

3.0 დასკვნითი ნაწილი..... 68

3.1 ბიბლიოგრაფია.....68

3.2 გამოქვეყნებული ნაშრომების სია 90

3.3 მოხსენებები ნაშრომის თემაზე 91

3.4. დანართები 92

დანართი 1. ბიოქიმიური ტესტების განხორციელების მეთოდიკა და საჭირო მასალები 92

ცხრილების, გრაფიკებისა და სურათების ჩამონათვალი

ცხრილები

ცხრილი 1. RR-MTB ზრდის ინჰიბირება AgNPs-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის დამატებისას 42
ცხრილი 2. RR-MTB ზრდის ინჰიბირება ნანოკომპოზიტის (AgNPs-ის სუსპენზიის სხვადასხვა კონცენტრაცია რიფამპიცინის სტანდარტულ დოზასთან ერთად) დამატებისას 44
ცხრილი 3. სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრები (AST, ALT, GGT, CREA, BUN) AgNPs ერთჯერადი მიღებისას 50
ცხრილი 4. სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრები (CHOLF, TG, HDL, ALB, GLUK) AgNPs ერთჯერადი მიღებისას 50
ცხრილი 5. ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის უსაფრთხოების შესწავლა მისი ერთჯერადი მიღებისას, საკონტროლო და საცდელი ჯგუფის ვირთაგვების წონა. 51
ცხრილი 6. ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის უსაფრთხოების შესწავლა AgNPs 5% ხსნარის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღებისას. საკვლევი და საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვების საწყისი წონა გრამებში 53
ცხრილი 7. სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრები (AST,ALT, GGT,CREA,BUN) AgNPs 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღებისას 54
ცხრილი 8. სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრები (CHOLF,TG, HDL, ALB, GLUK) AgNPs 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღებისას 55

გრაფიკები

გრაფიკი 1. ტუბერკულოზის რეგისტრირებული შემთხვევები საქართველოში 2005-2023 წლები (100 000 მოსახლეზე) 7
გრაფიკი 2. ტუბერკულოზის რეგისტრირებული შემთხვევები საქართველოში 2005-2023 წლები (აბსოლუტური ციფრები) 7
გრაფიკი 3. MDR/RR-TB-ის შემთხვევათა რაოდენობრივი ცვლილებების ტენდენცია 2015-2023 წლებში.....11
გრაფიკი 4. მსოფლიოში რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტობის გავრცელების დინამიკა ტუბერკულოზის ახალ შემთხვევებს შორის 2015-2023 წლებში. 11
გრაფიკი 5. მსოფლიოში რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტობის გავრცელების დინამიკა ტუბერკულოზის წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებს შორის 2015-2023 წლებში 12
გრაფიკი 6. რიფამპიცინზე რეზისტენტობა ფილტვის ახალ და წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებში (საქართველო) 13
გრაფიკი 7. 2012-2012 წლებში MDR/ RR-TB -ით დაავადებულთა მკურნალობის გამოსავლები 16
გრაფიკი 8. MDR/RR-TB მკურნალობის გამოსავლები საქართველოში (2021 წლის კოჰორტა, %).....17
გრაფიკი 9. RR-MTB ზრდის დათრგუნვის % მაჩვენებელი AgNPs-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის დამატებისას 42
გრაფიკი 10. RR-MTB ზრდის დათრგუნვის % მაჩვენებელი AgNPs-ის სუსპენზიის სხვადასხვა კონცენტრაციისა და რიფამპიცინის სტანდარტული დოზის დამატებისას.....44
გრაფიკი 11. RR-MTB-ზე AgNPs-ის სუსპენზიის სხვადასხვა კონცენტრაციისა და R/AgNPs ნანოკომპოზიტის (AgNPs-ის სუსპენზიის სხვადასხვა კონცენტრაცია + RIF სტანდარტული დოზა) მაინჰიბირებელი ეფექტის შედარება.....45
გრაფიკი 12. საკონტროლო და საკვლევი ჯგუფის ვირთაგვების საშუალო წონა(გრ) ექსპერიმენტის დასაწყისში და ექსპერიმენტის დაწყებიდან 45 დღის შემდეგ.....53
გრაფიკი 13. საკონტროლო და საკვლევი ჯგუფის ვირთაგვების საშუალო წონა(გრ) ექსპერიმენტის დასაწყისში და ექსპერიმენტის დაწყებიდან 90 დღის შემდეგ.....54

სურათები

სურათი 1. ტუბერკულოზის რეგისტრირებული შემთხვევები 100 000 მოსახლეზე, 2023 წელი 6
სურათი 2. ახალი ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების მოქმედების მექანიზმი.....15
სურათი 3. AgNPs-ის ანტიმიკრობული მოქმედების მექანიზმი.....22
სურათი 4. BACTEC™ MGIT™ 960 სისტემა 32
სურათი 5. AgNPs-ის ფხვნილი 32
სურათი 6. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატის სინჯარა AgNPs-ის სუსპენზიის დამატების შემდეგ 32
სურათი 7. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატის სინჯარები სხვადახვა კონცენტრაციის AgNPs-ის სუსპენზიის დამატების შემდეგ.....33
სურათი 8. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატის სინჯარები რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და სხვადახვა კონცენტრაციის AgNPs-ის სუსპენზიის დამატების შემდეგ.....34
სურათი 9. გულის კუნთის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ 46
სურათი 10. ღვიძლის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ 47
სურათი 11. წვრილი ნაწლავის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ 47
სურათი 12. თირკმელის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ. 48
სურათი 13. ფილტვის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ 49
სურათი 14. პანკრეასის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ 49
სურათი 15. ღვიძლის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღების შემდეგ 56

სურათი 16. თირკმლის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-is 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღების შემდეგ.....56

აბრევიატურები

WHO- ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაცია

M.tuberculosis -ტუბერკულოზის მიკობაქტერია

M. bovis- ხარის ტიპის მიკობაქტერია

M. smegmatis- მიკობაქტერია სმეგმატისი

RR-MTB-რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერია

DR-TB -რეზისტენტული ტუბერკულოზი

MDR/RR–TB-მულტირეზისტენტული/რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზი

preXDR –TB-პრე-ექსტენსიურად რეზისტენტული ტუბერკულოზი

XDR-TB-ექსტენსიურად რეზისტენტული ტუბერკულოზი

RIF-რიფამპიცინი

BDQ -ბედაქილინი

DLM - დელამანიდი

Ag+- ვერცხლის კათიონები

Zn-თუთია

CO_2-ნახშირორჟანგი

AgNPs-ვერცხლის ნანონაწილაკები

R/AgNPs-რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და ვერცხლის ნანონაწილაკების შემცველი ნანოკომპოზიტი

MIC- მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაცია

ROS-რეაქტიული ჟანგბადის სახეობები

AST- ასპარტატამინოტრასფერაზა

ALT-ალანინამინოტრანსამინაზა

GGT -გამაგლუტამილტრანსფერაზა

CREA -კრეატინინი

BUN -შარდოვანა

CHLOF- საერთო ქოლესტერინი

TG - ტრიგლიცერიდები

HDL- მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები

ALB -ალბუმინი

GLUK- გლუკოზა

ტფდეც-ტუბერკულოზის და ფილტვის დაავადებათა ეროვნული ცენტრი

2.0 ძირითადი ნაწილი

2.1. შესავალი

2.1.1. პრობლემის აქტუალობა

XXI საუკუნეში რეზისტენტული ტუბერკულოზი (DR-TB) კვლავ საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს. DR-TB ანტიმიკრობულ რეზისტენტობასთან დაკავშირებული სიკვდილიანობის 13%-ს შეადგენს და განპირობებულია როგორც შეძენილი რეზისტენტობის მუდმივი ზრდით, ასევე მედიკამენტების მიმართ მდგრადი ტუბერკულოზის მიკობაქტერიების დაავადებული ადამიანიდან აეროგენული გზით ტრანსმისიით [1]. მსოფლიოს სხვადასხვა რეგიონში განსხვავებული ეპიდემიოლოგიური მაჩვენებლების მიუხედავად, რეზისტენტული ტუბერკულოზის გავრცელების მხრივ ეპიდემიოლოგიური სიტუაცია გლობალურად კვლავ დაძაბული რჩება. 2023 წელს მსოფლიოში დაფიქსირდა რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის (RR-TB) 540 000 ახალი შემთხვევა, რომელთა 81,5% შეადგინა მულტირეზისტენტული ტუბერკულოზის (MDR-TB) შემთხვევებმა; MDR/RR-TB-ის 6%- კი ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის ექსტენსიურად მდგრადი ფორმებით (XDR-TB) იყო გამოწვეული[2]. DR-TB-ის მკურნალობა რთულია მისი ხანგრძლივობის, წარმატებული მკურნალობის დაბალი მაჩვენებლების, სამკურნალო რეჟიმებში მაღალი ტოქსიური ეფექტის მქონე ძვირადღირებული მედიკამენტების გამოყენების გამო, რაც კოლოსალურ დანახარჯებს უკავშირდება და დიდ ტვირთად აწევს ჯანდაცვის რესურსებს [3.4]; ასევე სერიოზული შეშფოთების მიზეზს წარმოადგენს ყველა არსებული ანტიტუბერკულოზური პრეპარატის მიმართ მდგრადი *M.tuberculosis* შტამების გაჩენა. 2007 წელს იტალიაში პირველად [5], შემდეგ წლებში კი სხვადასხვა კონტინენტზე და მრავალ ქვეყანაში დაფიქსირდა ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების მიმართ ტოტალური რეზისტენტობის შემთხვევები [6]. ორი ახალი მედიკამენტის -ბედაქილინისა (BDQ) და დელამანიდის (DLM) სინთეზირებამ *M. tuberculosis*-ის წინააღმდეგ მოქმედების ახალი, განსხვავებული მექანიზმებით [7.8.9], ასევე რეპროფილირებული (კლოფაზიმინი [10], ლინეზოლიდი[11]) ანტიბიოტიკების გამოყენებამ რეზისტენტული ტუბერკულოზის როგორც ხანმოკლე, ასევე ხანგრძლივ სამკურნალო რეჟიმებში, ბიძგი მისცა რეზისტენტული ტუბერკულოზის

მართვის ახალი ეპოქის დასაწყისს. აღნიშნული მედიკამენტები ხელს უწყობენ *M.tuberculosis* კულტურის კონვერსიის დროისა და პაციენტთა სიკვდილობის შემცირებას, აუმჯობესებენ მკურნალობის შედეგებს [12]. ეფექტური ვაქცინის არ არსებობის პირობებში, ამ ეტაპზე აღნიშნული მედიკამენტები მაღალი გენერაციის ფტორქინოლონებთან ერთად DR-TB-ის წინააღმდეგ ბრძოლის უკანასკნელ ხაზს წარმოადგენენ [13], თუმცა მათ მიმართ რეზისტენტობის სწრაფი გაჩენა საფრთხეს უქმნის ამ პრეპარატების პოტენციურ გავლენას [14]. სამეცნიერო ლიტერატურაში უკვე გაჩნდა პუბლიკაციები როგორც ცალკეულ ქვეყნებში, ასევე გლობალურად ახალი და რეპროფილირებული ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების მიმართ მზარდი რეზისტენტობის შესახებ [15.16.17.18.19], რაც სერიოზულ საფრთხეს უქმნის ტუბერკულოზის კონტროლის მომავალს და ქმნის ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების ლანდშაფტის გაფართოების აუცილებლობას ახალი მედიკამენტების სინთეზირებისა და არსებული პრეპარატების ეფექტურობის აღდგენის გზით. ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების მიმართ პათოგენის მდგრადობის გადასალახად ერთ-ერთ პერსპექტიულ მიმართულებას ნანოტექნოლოგიებზე დაფუძნებული სამკურნალწამლო საშუალებების შექმნა წარმოადგენს. ნანოტექნოლოგიების გამოყენება მედიცინაში ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი გარღვევაა, რომელიც იძლევა პრეპარატების მიზანმიმართული მიწოდების, მათი დოზისა და არასასურველი ეფექტების შემცირების, მედიკამენტების ხსნადობისა და ბიოშეღწევადობის გაუმჯობესების, საბოლოო ჯამში კი პაციენტის გამოჯანმრთელების პროცესის დაჩქარების შესაძლებლობას [20,21]. უკანასკნელ წლებში ჩატარებული კვლევებით დასტურდება, რომ ნანომატარებლებს, როგორც მდგრადობის ინჰიბიტორებს, აქვთ მედიკამენტების მიმართ რეზისტენტობის გადალახვის უნარი [21,22]. ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, ფთიზიატრიაში იქმნება რეზისტენტული ტუბერკულოზის ქიმიოთერაპიის გაუმჯობესების პერსპექტივა ნანოტექნოლოგიების მეშვეობით არაეფექტური მედიკამენტების ტუბსაწინააღმდეგო მოქმედების აღდგენის შესაძლებლობით. დიდ ექსპერიმენტულ მასალაზე დადასტურებულია ვერცხლის ნანონაწილაკების ბაქტერიციდული აქტივობა სხვადასხვა დაავადების გამომწვევი რეზისტენტული პათოგენების შტამებზე [23,24,25,26,27,28,29,30,31], მაგრამ შედარებით მწირია მონაცემები სხვადასხვა მეთოდით მიღებული განსხვავებული

ფორმისა და ზომის ვერცხლის ნანონაწილაკების მოქმედების თავისებურებების შესახებ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიაზე; გარდა ერთეული კვლევებისა, შეუსწავლელია AgNPs-ის კლასიკურ ანტიტუბერკულოზურ პრეპარატებთან ერთად გამოყენების პერსპექტიული სტრატეგია, მაშინ როდესაც ვერცხლის ნანონაწილაკებისა და იზონიაზიდის ნანოკომპოზიტის ეფექტურობის შესწავლამ ექსპერიმენტული წამალთმდგრადი ტუბერკულოზის დროს დაადასტურა ნანონაწილაკების მიერ ქიმიოპრეპარატის (იზონიაზიდის) პოტენცირება რეზისტენტული შტამის მიმართ მედიკამენტის გამძლეობის გადასალახად [32]. ზემოთ აღნიშნული ქმნის ამ მიმართულებით სამეცნიერო კვლევების ინტენსიფიკაციის საფუძველს. განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს რიფამპიცინისა და ვერცხლის ნანოკომპოზიტის ეფექტურობის in vitro შესწავლა MDR/RR-MTB იზოლატებზე, ვინაიდან რიფამპიცინი წარმოადგენს ტუბერკულოზის ძირითად და ყველაზე ეფექტურ სამკურნალო მედიკამენტს, რომლის მიმართ მდგრადობის განვითარება ძირეულად ცვლის დაავადების სამკურნალო ტაქტიკას. In vitro ვერცხლის ნანონაწილაკების მეშვეობით რიფამპიცინის ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღდგენის შესაძლებლობა MDR/RR-MTB იზოლატებზე გახდა ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის საფუძველი. ტუბერკულოზური კერის უჯრედებში შიდამაკროფაგურ დისპონენტობასთან დაკავშირებული მაღალი შეღწევადობა, ძლიერი ანტიმიკრობული მოქმედება, ტოქსიურობის მინიმალური ეფექტი წარმოადგენენ იმ მახასიათებელთა ერთობლიობას, რომელიც გვაძლევს საფუძველს ვერცხლის ნანონაწილაკებისა და რიფამპიცინის კომბინაცია განხილულ იქნას, როგორც მომავალში ანტიტუბერკულოზური მკურნალობის ერთ-ერთი ძირითადი მიმართულება.

2.1.2. კვლევის მიზანი და ამოცანები

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა in vitro სფერული ფორმის 20ნმ მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების ეფექტურობისა და უსაფრთხოების შესწავლა; AgNPs-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის სუსპენზიის პოტენციალის შეფასება რიფამპიცინის ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღდგენის კუთხით რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის (RR-MTB) იზოლატებზე.

ზემოთ აღნიშნული მიზნის მისაღწევად დავისახეთ შემდეგი **ამოცანები:**

1. In vitro კლინიკურ პირობებში ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისაგან მიღებულ რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის იზოლატებზე სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების სხვადასხვა კონცენტრაციის სუსპენზიის მაინჰიბირებელი მოქმედების შესწავლა და შეფასება;
2. RR-MTB-ის იზოლატებზე AgNPs-ის მინიმალური ბაქტერიციდული კონცენტრაციის მქონე სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის ერთჯერადი და მრავალჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების პროფილის შესწავლა ექსპერიმენტულ ცხოველებზე;
3. In vitro ნანოკომპოზიტების (რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და ვერცხლის ნანონაწილაკების განსხვავებული კონცენტრაციების სუსპენზიის) RR-MTB იზოლატების ზრდის დამთრგუნველი ეფექტის შესწავლა;
4. In vitro RR-MTB იზოლატებში სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური AgNPs-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის სუსპენზიის მაპოტენცირებელ მოქმედების შესწავლა და შეფასება.

2.1.3. კვლევის მეცნიერული სიახლე

ჩვენს მიერ პირველად

- წარმოდგენილ ნაშრომში დასაბუთებულია რიფამპიცინზე რეზისტენტულ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის კლინიკურ იზოლატებზე in vitro და ექსპერიმენტულ ცხოველებზე in vivo სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების ეფექტურობა და უსაფრთხოება;
- შესწავლილი და დადგენილია რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალურ ვერცხლის ნანონაწილაკებისგან (R/AgNPs) შემდგარი კომპოზიტის ეფექტურობა RR-MTB იზოლატებზე;

- RR-MTB იზოლატებზე ექსპერიმენტულად დადასტურებულია 20 ნმ ზომის ვერცხლის ნანონაწილაკების მაპოტენცირებელი მოქმედება რიფამპიცინის მიმართ ტუბ. მიკობაქტერიის გამძლეობის დასაძლევად;
- შეფასებულია ვერცხლის ნანონაწილაკების ეფექტურობა რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის კომპლექსურ მკურნალობაში.

2.1.4. კვლევის პრაქტიკული ღირებულება

კვლევის ძირითადი შედეგი - მდგრადობის ინჰიბიტორის ვერცხლის ნანონაწილაკების მეშვეობით ტუბერკულოზის სამკურნალო ყველაზე ძლიერი მედიკამენტის - რიფამპიცინის ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღდგენა რიფამპიცინისადმი მდგრადი ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის იზოლატებში in vitro, იძლევა შემდგომი გაღრმავებული კვლევების გაგრძელების მეცნიერულად არგუმენტირებულ საფუძველს რიფამპიცინისა და ვერცხლის ნანონაწილაკების კომპოზიტური პრეპარატის შესაქმნელად.

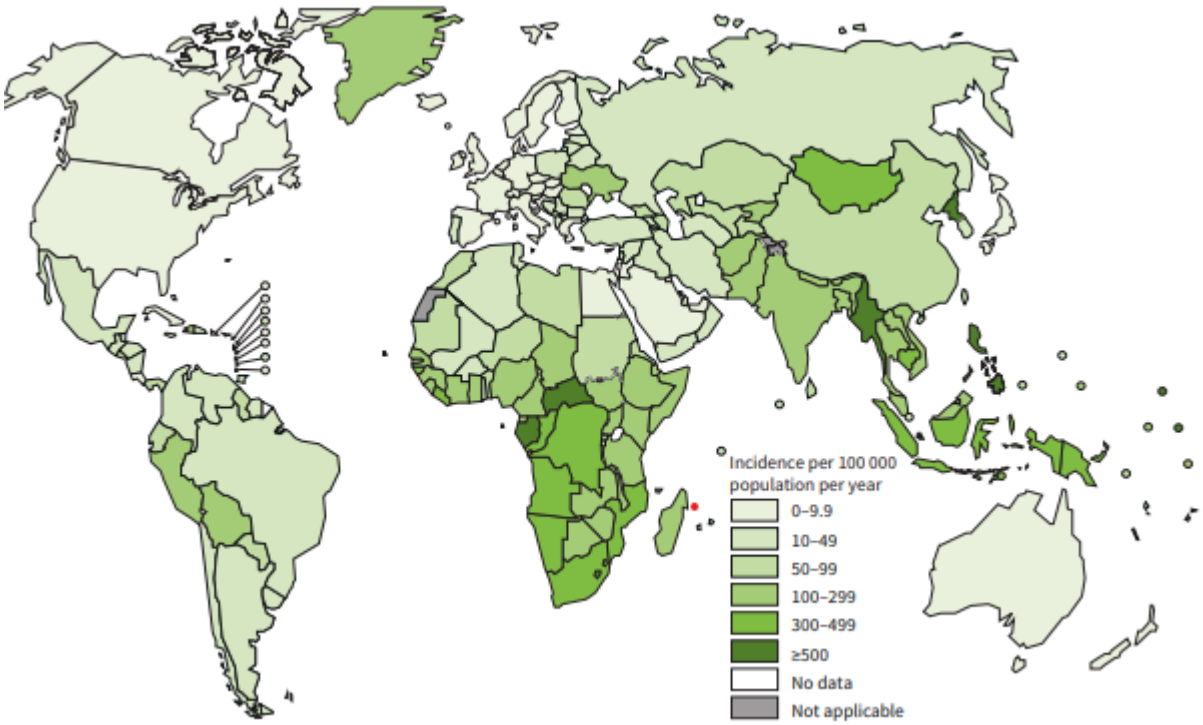
2.2. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

2.2.1. რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზი- საზოგადოებრივი ჯანდაცვის აქტუალური პრობლემა, თანამედროვე გამოწვევები

ფთიზიატრიულ მეცნიერებაში არსებული დიდი მიღწევების (ტუბერკულოზის გამომწვევი მიკობაქტერიის აღმოჩენა 1882 წელს გერმანელი მეცნიერის რობერტ კოხის მიერ და ტუბერკულოზის ინფექციური ბუნების დაადასტურება, ტუბ.მიკობაქტერიის გენომის გაშიფვრა 1998 წელს და ა.შ.) მიუხედავად, XXI საუკუნეში ტუბერკულოზი კვლავ საზოგადოებრივი ჯანდაცვის აქტუალურ პრობლემად რჩება [33,34,35]. მსოფლიოში სიკვდილობის 10 წამყვან მიზეზს შორის ერთ-ერთი ძირითადი ტუბერკულოზია და ყოველწლიურად იგი 1,6 მილიონზე მეტი ადამიანის სიკვდილის მიზეზი ხდება [36,37]. ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით [38], 2023 წელს ტუბერკულოზით დაავადდა 10,8 მილიონი ადამიანი ანუ ყოველ 100 000 მოსახლეზე დაფიქსირდა ტუბერკულოზის 134 შემთხვევა; ტუბერკულოზის შემთხვევათა უმეტესობა

რეგისტრირებული იყო სამხრეთ -აღმოსავლეთ აზიაში (45%), აფრიკაში (24%), წყნარი ოკეანის დასავლეთ ნაწილსა (12%) და ხმელთაშუა ზღვის აღმოსავლეთში (8,6%) მდებარე ქვეყნებში; ამერიკასა და ევროპის კონტინენტებზე კი ტუბერკულოზის რეგისტრირებულ შემთხვევათა რაოდენობამ შესაბამისად შეადგინა 3,2% და 1.2% [38,39] (სურათი1).

სურათი 1. ტუბერკულოზის რეგისტრირებული შემთხვევები 100 000 მოსახლეზე, 2023 წელი

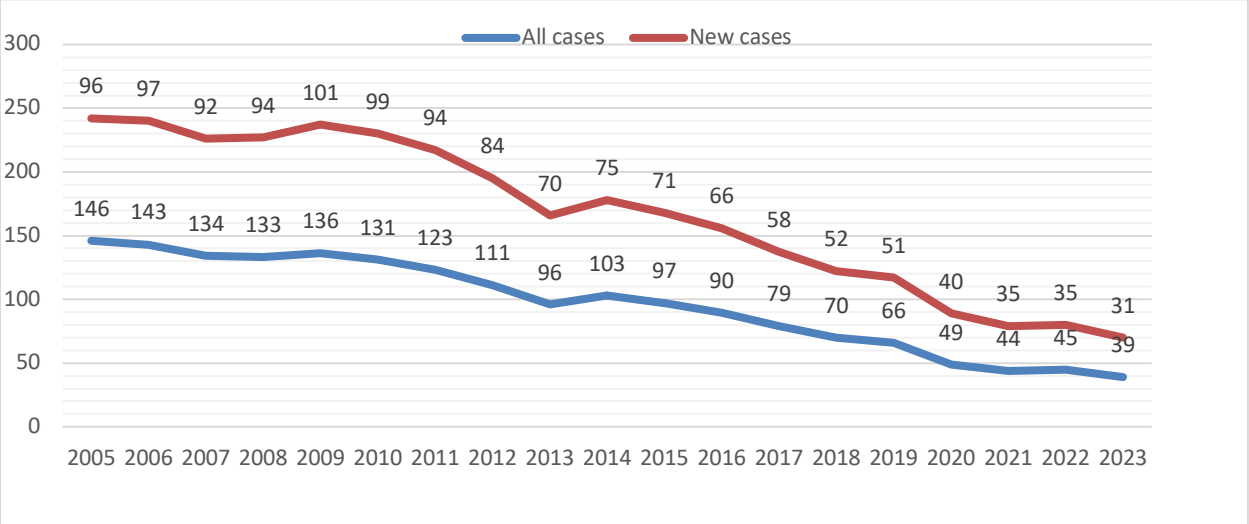


წყარო: ჯანმო ტუბერკულოზის გლობალურ მონაცემთა ბაზა.

მსოფლიოში ტუბერკულოზის შემთხვევათა კლების საშუალო წლიური მაჩვენებელი 2015-2023 წლებში იყო 8,3%, რაც საკმაოდ დაბალია 2025 წლისათვის ჯანმო-ს მიერ დაგეგმილ სამიზნე მაჩვენებელთან (50%) შედარებით.

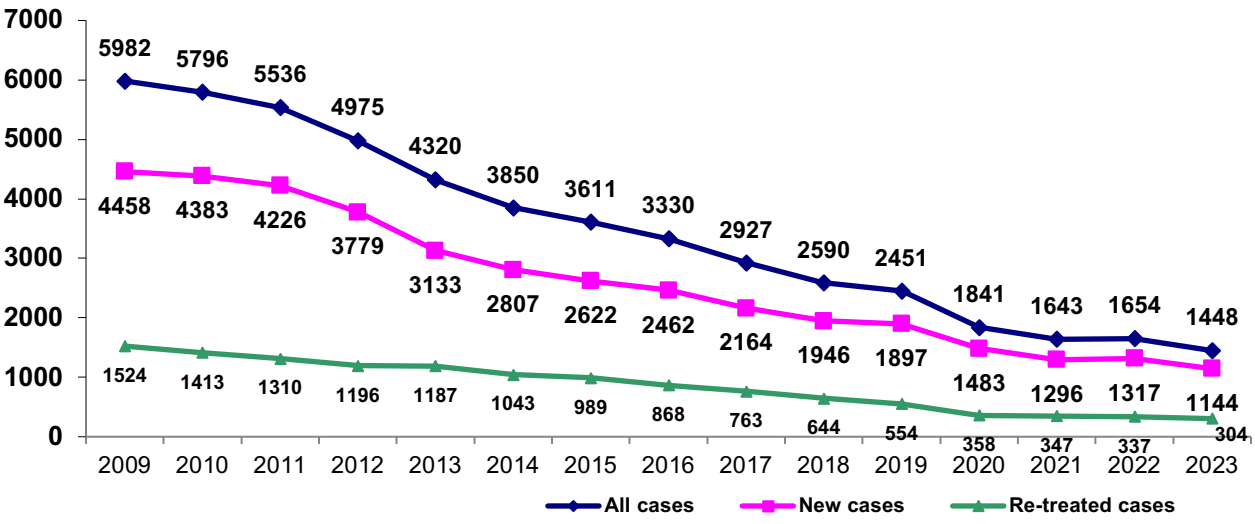
უკანასკნელ წლებში მიღწეული არსებითი პროგრესის მიუხედავად, საქართველოში ტუბერკულოზით გამოწვეული ტვირთი კვლავაც სოლიდური რჩება. ბოლო 15 წლის განმავლობაში საქართველოში აღინიშნა ტუბერკულოზის ყველა ფორმის რეგისტრირებული შემთხვევების შემცირება წელიწადში საშუალოდ 6.6% და 2023 წელს შეადგინა 39 შემთხვევა 100 000 მოსახლეზე [38,40,41] (იხ.გრაფიკი 1,2).

გრაფიკი 1. ტუბერკულოზის რეგისტრირებული შემთხვევები საქართველოში 2005-2023 წლები (100 000 მოსახლეზე)



წყარო: ჯანმო, ტფდეც მონაცემები

გრაფიკი 2. ტუბერკულოზის რეგისტრირებული შემთხვევები საქართველოში 2005-2023 წლები (აბსოლუტური ციფრები)



წყარო: ჯანმო, ტფდეც მონაცემები

ანტიმიკრობული რეზისტენტობა XXI საუკუნის საზოგადოებრივი ჯანდაცვის გლობალურ გამოწვევას წარმოადგენს [42,43,44,45]. 2021 წელს 4 700 000 ადამიანის სიკვდილი

ასოცირებული იყო ანტიმიკრობულ რეზისტენტობასთან, ხოლო 1 140 000 ადამიანის სიკვდილის უშუალო მიზეზი სწორედ მედიკამენტების მიმართ რეზისტენტული პათოგენებით გამოწვეული ინფექციები გახდა. აქტუალურია რეზისტენტობის პრობლემა ფთიზიატრიაშიც [38,46,47,48,49].

ანტიტუბერკულოზური მედიკამენტების მიმართ მდგრადობის განვითარების ისტორიას საფუძველი დაუდო XX საუკუნის 40 -იანი წლებიდან განვითარებულმა მზარდმა რეზისტენტობამ სტრეპტომიცინის მიმართ (გამოწვეულმა სტრეპტომიცინით ტუბერკულოზის მონოთერაპიით). XX საუკუნის დასასრული მსოფლიოს მასშტაბით აღინიშნა რიფამპიცინზე რეზისტენტული/მულტირეზისტენტული ტუბერკულოზის (RR/MDR-TB) შემთხვევების კატასტროფული ზრდით. XXI საუკუნის ერთ-ერთ ძირითად პრობლემას კი პრე-ექსტენსიური ტუბერკულოზი (preXDR-TB) წარმოადგენს [50].

ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების მიმართ ტუბ.მიკობაქტერიის მგრძნობელობის მიხედვით განირჩევა ტუბერკულოზის სენსიტიური (რეგულარული ანუ პირველი რიგის ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების - იზონიაზიდი, რიფამპიცინი, ეტამბუტოლი, პირაზინამიდი - მიმართ მგრძნობიარე შტამით გამოწვეული) და რეზისტენტული ფორმები. რეზისტენტობის პროფილის მიხედვით ტუბერკულოზის შემთხვევათა კლასიფიცირება ხდება კლინიკური იზოლატიდან *M. tuberculosis*-ის გამოყოფის და მასზე ჩატარებული მედიკამენტების მიმართ მგრძნობელობის ტესტის (DST) შედეგების საფუძველზე [13,51].

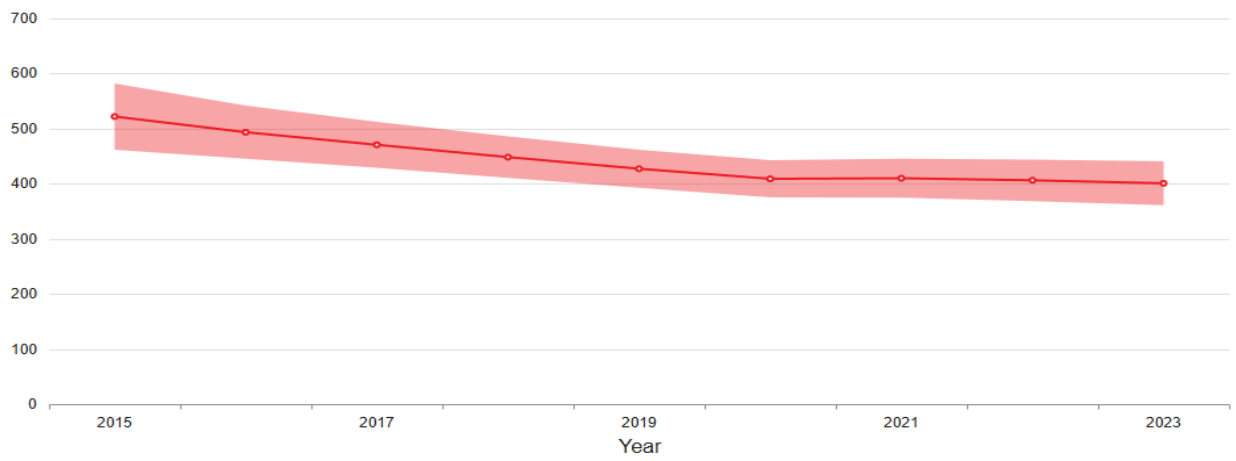
- **მონორეზისტენტობა** ნიშნავს მხოლოდ რომელიმე ერთი პირველი რიგის ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტის მიმართ რეზისტენტობას;
- **პოლირეზისტენტობა** არის ერთზე მეტი პირველი რიგის ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტის, მაგრამ არა ერთდროულად იზონიაზიდისა და რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტობა;
- **მულტირეზისტენტობა** (MDR-TB) ნიშნავს სულ მცირე, იზონიაზიდისა და რიფამპიცინის მიმართ ერთდროულად არსებულ რეზისტენტობას;
- **პრე-ექსტენსიურად რეზისტენტული ტუბერკულოზი** (pre-XDR -TB) წარმოადგენს რეზისტენტობას, სულ მცირე, იზონიაზიდისა და რიფამპიცინის მიმართ, ასევე რეზისტენტობას რომელიმე ფტორქინოლონის მიმართ;

- **ზემდგრადი რეზისტენტობა ანუ ექსტენსიურად რეზისტენტული ტუბერკულოზი (XDR-TB)** გამოწვეულია ტუბერკულოზური მიკობაქტერიის შტამით, რომელიც შეესაბამება MDR/RR-TB დეფინიციას და ასევე რეზისტენტულია რომელიმე ფტორქინოლონის და დამატებით სულ მცირე კიდევ ერთი რეზისტენტული ტუბერკულოზის სამკურნალო A ჯგუფის რომელიმე მედიკამენტის მიმართ (A ჯგუფის მედიკამენტები - ლევოფლოქსაცინი, მოქსიფლოქსაცინი, ბედაქილინი, ლინეზოლიდი);
- **რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტობა (RR-TB)**- გულისხმობს ფენოტიპური ან გენოტიპური მეთოდებით დაფიქსირებულ რეზისტენტობას რიფამპიცინის მიმართ, სხვა ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტებისადმი რეზისტენტობით ან მათ გარეშე. რეზისტენტობის ეს ტიპი მოიცავს რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტობის ყველა ფორმას, მათ შორის - მონო-, პოლი-, მულტი- და ზემდგრად რეზისტენტობას.

მედიკამენტების მიმართ გამძლე ტუბერკულოზის შტამით გამოწვეული ტუბერკულოზი შედარებით ახალი დაავადებაა [13,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65]. რეზისტენტული ტუბერკულოზის ფორმებისაგან ყველაზე დიდ საფრთხეს საზოგადოებრივი ჯანდაცვისათვის მულტი (MDR), პრე-ექსტენსიური (pre-XDR -TB) და ექსტენსიური (XDR) რეზისტენტობა [66,67,68,69,70,71,72,73,74,75] წარმოადგენს. ერთდროულად რამოდენიმე მედიკამენტის მიმართ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის რეზისტენტობის არსებობის შესახებ პირველი ინფორმაცია 2005 წელს აშშ-ს დაავადებათა კონტროლის ცენტრის (CDC) მიერ გაჟღერდა. ამავე წელს პარიზში, ფილტვის ჯანმრთელობის 36-ე საერთაშორისო კონფერენციაზე პირველად იქნა წარმოდგენილი CDC-ისა და ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის (ჯანმო) მიერ ერთობლივად წარმოებული რეფერენს ლაბორატორიების გლობალური კვლევების შედეგი მეორე რიგის მედიკამენტების მიმართ რეზისტენტობაზე; აგრეთვე ინფორმაცია ლატვიაში მედიკამენტების მიმართ მრავლობითი რეზისტენტობით დაავადებული პაციენტების მკურნალობის გამოსავლების შესახებ. 2006 წლის თებერვალში, აშშ-ში, დენვერში რეტროვირუსებისა და ოპორტუნისტული ინფექციებისადმი მიძღვნილ მე-13 კონფერენციაზე წარმოდგენილი იყო ინფორმაცია კვაზულუ-ნატალიში (სამხრეთ აფრიკა) მრავლობითი რეზისტენტული ტუბერკულოზის შტამით გამოწვეულ სიკვდილიანობის

კლასტერზე აივ-ინფიცირებულ პირებში. მაშინ აღნიშნულ მოხსენებას სათანადო ყურადღება არ მიაქციეს, შესაძლოა იმ მიზეზით, რომ მას ჯერ კიდევ არ ჰქონდა მინიჭებული სათანადო დეფინიცია. 2006 წლის მარტში მრავლობითი რეზისტენტობის ტუბერკულოზის ფორმის აღსანიშნავად პუბლიკაციაში პირველად იქნა გამოყენებული ტერმინი „ზემდგრადი ანუ ექსტენსიური ტუბერკულოზი“; 2006 წლის ოქტომბერში ზემდგრადი ტუბერკულოზის გლობალური მიზნობრივი ჯგუფის შეხვედრაზე მოხდა ამ ტერმინის გადახედვა და იგი უკვე რეკომენდირებულ იქნა ჯანმო-ს მიერ. 1994 წლიდან ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაცია სისტემატურად აგროვებს და აანალიზებს სტატისტიკურ მონაცემებს ანტიტუბერკულოზური პრეპარატების მიმართ მდგრადი ფორმებით გამოწვეული ტუბერკულოზის ყველა კლინიკური ფორმის შესახებ ქვეყნებისა და რეგიონების მიხედვით. ძირითადი აქცენტი კეთდება ტუბერკულოზის შემთხვევათა სტრუქტურაში MDR/RR-TB-ით დაავადებულთა ხვედრით წილზე. 2015-დან 2019 წლამდე მსოფლიოში აღინიშნებოდა რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის შემთხვევათა კლების მცირეოდენი ტენდენცია, თუმცა შემდგომ პერიოდში (2020-2023 წლები) მისი მაჩვენებელი დასტაბილურდა და შეადგენს წელიწადში 400 000 შემთხვევას (გრაფიკი 3). 2023 წელს MDR/RR-TB -ის შემთხვევათა 50%-ზე მეტი დაფიქსირდა მსოფლიოს 5 ქვეყანაში- ინდოეთში (27%), რუსეთის ფედერაციაში (7,4%), ინდონეზიაში (7,4%), ჩინეთში (7,3%) და ფილიპინებზე (7,2%) [38,41]. 2023 წელს მსოფლიოში ბაქტერიოლოგიურად დადასტურებული ტუბერკულოზის შემთხვევებს შორის რიფამპიცინზე რეზისტენტობა/მულტირეზისტენტობა ტუბერკულოზის ახალ შემთხვევებში დაუფიქსირდა პაციენტთა 3,2%-ს, წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებში კი-16%-ს. რიფამპიცინზე რეზისტენტობის მაჩვენებელი განსხვავებულია ქვეყნებისა და კონტინენტების მიხედვით. ტუბერკულოზის ახალ შემთხვევებს შორის რიფამპიცინის მიმართ მდგადობის 3%-ზე ნაკლები მაჩვენებელი აღინიშნება აფრიკაში, სამხრეთ-აღმოსავლეთ აზიასა და რეგიონებში ხმელთაშუა ზღვის აღმოსავლეთით, ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი კი (24%) ევროპის რეგიონშია. წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებში რიფამპიცინის მიმართ მდგრადობის ყველაზე მაღალი გავრცელება (54%) ფიქსირდება რუსეთის ფედერაციაში და აღმოსავლეთ ევროპისა და ცენტრალური აზიის რამდენიმე ქვეყანაში.

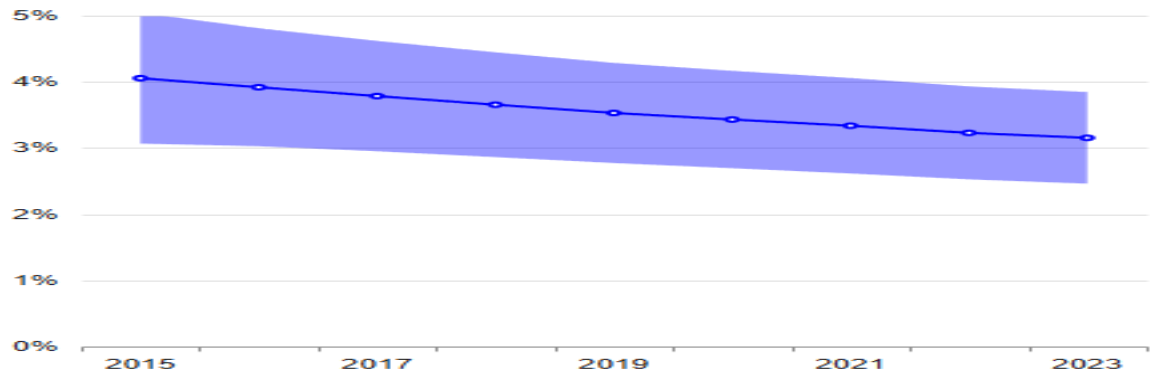
გრაფიკი 3. MDR/RR-TB-ის შემთხვევათა რაოდენობრივი ცვლილებების ტენდენცია 2015-2023 წლებში



წყარო: ჯანმო ტუბერკულოზის გლობალურ მონაცემთა ბაზა.

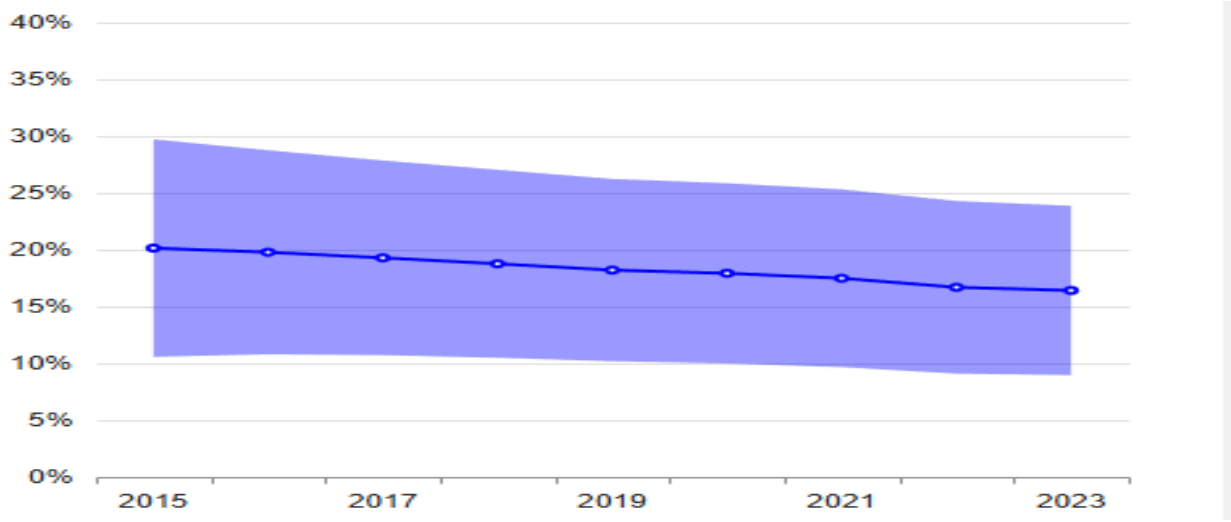
მე-4 და მე-5 გრაფიკებზე ასახულია გლობალურად რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტობის გავრცელების დინამიკა ტუბერკულოზის ახალ და წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებს შორის 2015-2023 წლებში.

გრაფიკი 4. მსოფლიოში რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტობის გავრცელების დინამიკა ტუბერკულოზის ახალ შემთხვევებს შორის 2015-2023 წლებში.



წყარო: ჯანმო ტუბერკულოზის გლობალურ მონაცემთა ბაზა.

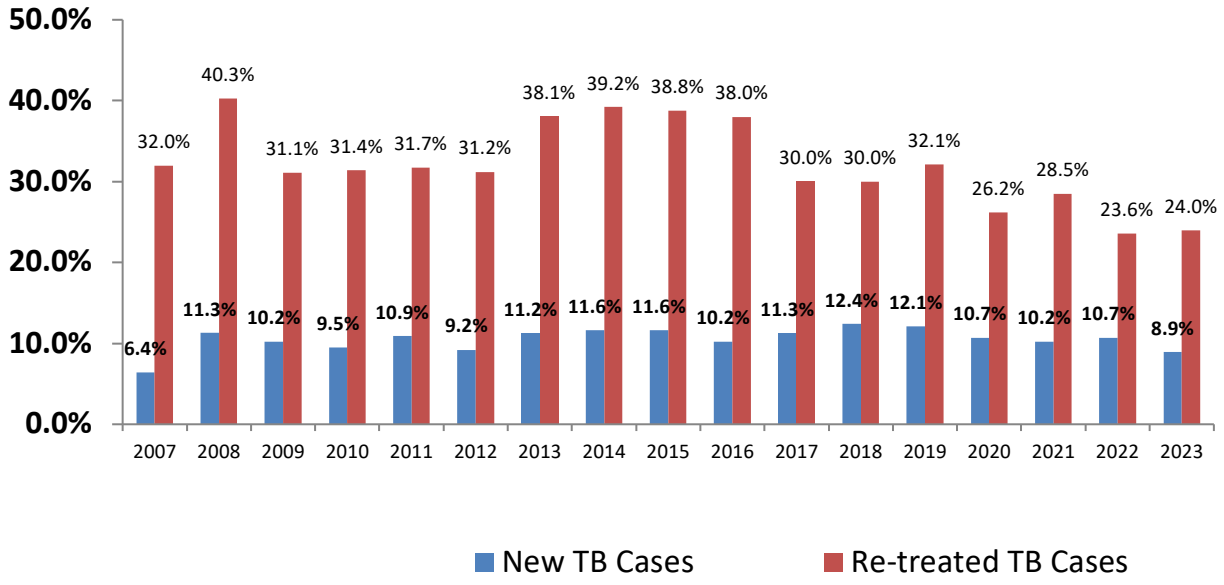
გრაფიკი 5. მსოფლიოში რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტობის გავრცელების დინამიკა ტუბერკულოზის წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებს შორის 2015-2023 წლებში .



წყარო: ჯანმო ტუბერკულოზის გლობალურ მონაცემთა ბაზა.

ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო პრეპარატების მიმართ რეზისტენტობა წარმოადგენს ჩვენს ქვეყანაში ტუბერკულოზის ელიმინაციის ძირითად გამოწვევას. ჯანმო-ს შეფასებით, საქართველოში რიფამპიცინ-რეზისტენტული და მულტირეზისტენტული ტუბერკულოზის (MDR/RR-TB) ინციდენტობა 2023 წელს იყო 280, რაც წინა წლებთან შედარებით კლების ტენდენციას ასახავს. ასევე შემცირდა წამლის მიმართ ექსტენსიურად რეზისტენტული (XDR-TB) ფორმის მქონე პაციენტების რაოდენობა 62-დან 2015 წელს 43-მდე 2023 წელს [ჯანმოს XDR-TB განახლებული დეფინიციის მიხედვით (WHO, 2021)]. ტუბერკულოზის ახალ შემთხვევებში MDR/RR ტუბერკულოზის სავარაუდო წილი 2023 წელს შეადგენდა 8,9%-ს (11-13), წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებს შორის კი 24%-ს (28-33); რეზისტენტული ტუბერკულოზის ფაქტობრივი გავრცელება ახალ და წარსულში ნამკურნალებ ბაქტერიოლოგიურად დადასტურებულ ფილტვის ტუბერკულოზის შემთხვევებს შორის 2015 წელს საქართველოში იყო შესაბამისად 11.6% და 38.8% (გრაფიკი 6).

გრაფიკი 6. რიფამპიცინზე რეზისტენტობა ფილტვის ახალ და წარსულში ნამკურნალებ შემთხვევებში (საქართველო)



წყარო: ჯანმო, ტფდეც მონაცემები

დღეისათვის ტუბერკულოზის მკურნალობაში საკვანძო პრეპარატს წარმოადგენს მაკროლიდების ჯგუფის რთული ანტიბიოტიკი რიფამპიცინი [55,56,76], რომელიც რიფამიცინის ნახევრად სინთეზური წარმოებულია და მისი მოქმედების მექანიზმი ეფუძნება პათოგენური მიკროორგანიზმების უმეტესობაში რიბონუკლეინის მჟავის ინჰიბირებას. რიფამპიცინს გააჩნია მძლავრი ბაქტერიციდული აქტივობა და მასტერილიზებელი ეფექტი როგორც უჯრედის შიგნით, ასევე უჯრედის გარეთ არსებულ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიებზე. იგი წარმოადგენს ცხიმში ხსნად პრეპარატს, რომელიც ხასიათდება მიღებისთანავე სწრაფი შეწოვითა და შეღწევადობით ორგანიზმის ყველა ქსოვილსა და ბიოლოგიურ სითხეში. იზონიკოტინის მჟავის პრეპარატი-იზონიაზიდიც ასევე მოქმედებს ტუბერკულოზური ანთების ზონაში არსებული ტუბერკულოზური მიკობაქტერიების ყველა პოპულაციაზე. სენსიტიური ტუბერკულოზის სამკურნალო რეჟიმებში რიფამპიცინსა და იზონიაზიდთან ერთად პირაზინამიდის, ეტამბუტოლის და/ ან ფტორქინოლონების ჯგუფის პრეპარატების გამოყენება აძლიერებს მათ ზემოქმედებას ტუბერკულოზის

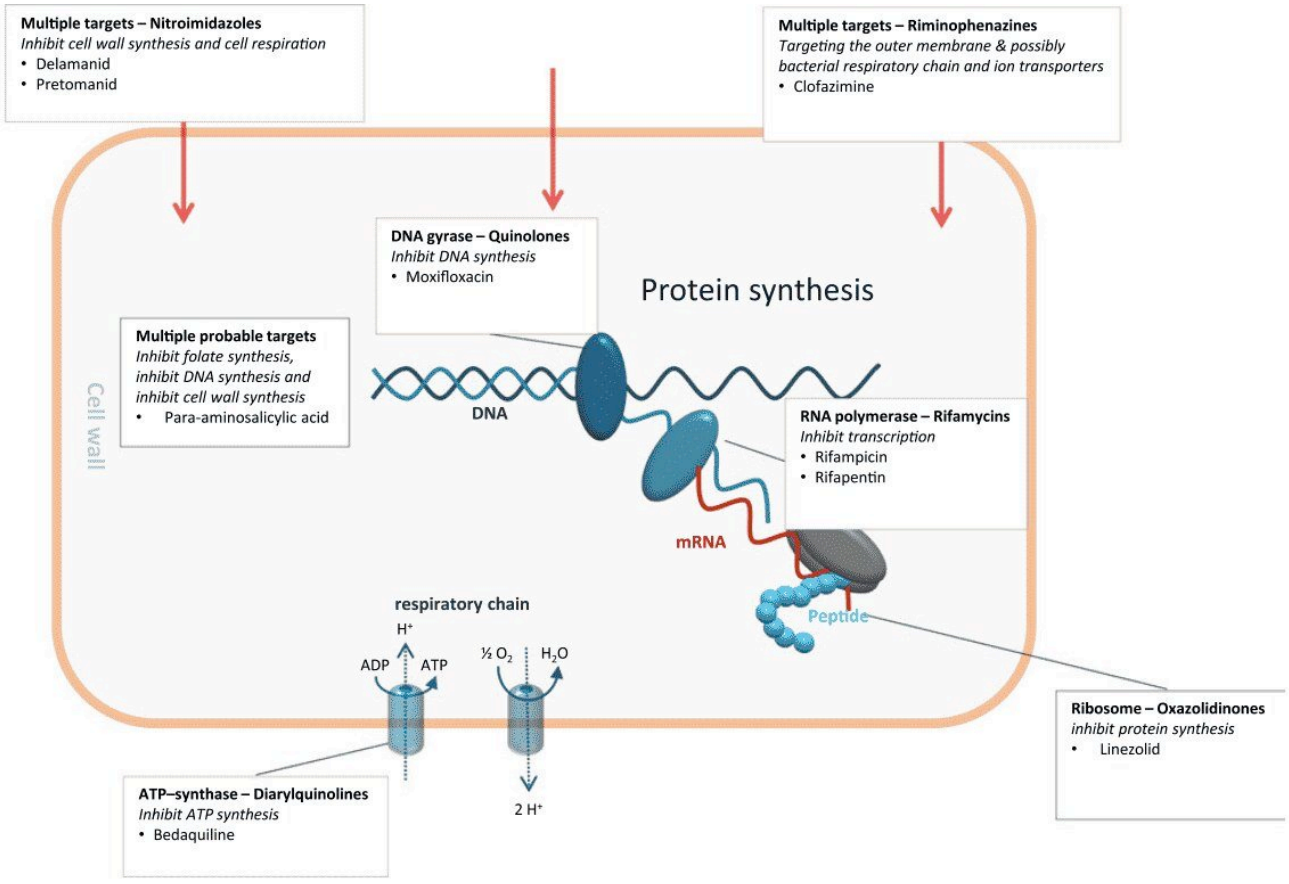
მიკობაქტერიებზე და ხელს უშლის მკურნალობის ფონზე ძირითადი ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების, პირველ რიგში კი რიფამპიცინის მიმართ მეორადი რეზისტენტობის განვითარებას.

რიფამპიცინზე რეზისტენტობის/ მულტირეზისტენტობის შემთხვევაში ტუბერკულოზის სამკურნალოდ გამოიყენებოდა მეორე რიგის ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტები (თიონამედები, პარაამინოსალიციილის მჟავა, ამინოგლიკოზიდები, ფტორქინოლონები, ციკლოსერინი), რომელთა კომბინირება სამკურნალო სქემებში, ასევე ქიმიოთერაპიის ხანგრძლივობა ძირითადად ემპირიულ ხასიათს ატარებდა; განსაკუთრებული პრობლემები იქმნებოდა მკურნალობის მეორე-გაგრძელების ფაზის დროს, როდესაც ინტენსიური ქიმიოთერაპიის შემდგომ ტუბერკულოზური ანთების კერებში, უჯრედის შიგნით პერსისტირებადი ფორმით ლოკალიზებულ ნელა გამრავლებად, დაბალი მეტაბოლური აქტივობის მქონე ტუბერკულოზის მიკობაქტერიებზე უნდა განხორციელებულიყო ძლიერი ზემოქმედება, ვინაიდან მეორე რიგის მედიკამენტების უმეტესობას არ გააჩნია მაკროფაგებში შეღწევის და შესაბამისად იქ არსებულ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიების პოპულაციაზე ზემოქმედების უნარი, MDR/RR-TB შემთხვევების ქიმიოთერაპიის ეფექტურობა იყო ძალზედ დაბალი და მკურნალობის წარმატებული გამოსავლის შემთხვევებშიც კი ხშირი იყო რელაფსის განვითარება; ამასთან, MDR/ RR-TB სამკურნალო ქიმიოთერაპიის სქემები იყო რთული, მრავალკომპონენტიანი, ხანგრძლივი და უპირატესად გულისხმობდა 18 და მეტი თვის განმავლობაში რეზისტენტული ტუბერკულოზის სამკურნალო რამოდენიმე დასახელების მედიკამენტის ყოველდღიურ მიღებას. აღნიშნული მედიკამენტების ხშირი გვერდითი რეაქციები, უმეტეს შემთხვევაში კი სერიოზული არასასურველი ეფექტების განვითარება მნიშვნელოვან პრობლემას ქმნიდა ანტიტუბერკულოზური ქიმიოთერაპიის განხორციელებისას და ხშირად ხდებოდა პაციენტების მხრიდან მკურნალობის შეწყვეტის (მეთვალყურეობიდან დაკარგვა) ან უშედეგო მკურნალობის მიზეზი, რაც თავის მხრივ ხელს უწყობდა რეზისტენტული ტუბერკულოზის გავრცელებასა და რეზისტენტობის პროფილის გაფართოებას.

XXI საუკუნის პირველი ათწლეულის ბოლოდან რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის სამკურნალო არსენალს შეემატა მაღალეფექტური ანტიტუბერკულოზური

პრეპარატები [51,52,77], რომლებიც მოქმედებენ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიების ბიოლოგიის სხვადასხვა ასპექტზე, მათ შორის უჯრედის კედლის სინთეზის დათრგუნვაზე, ცილების ან ნუკლეინის მჟავების სინთეზის პროცესებზე (სურათი 2). რეზისტენტული ტუბერკულოზის ახალ სამკურნალო რეჟიმებში მათი ერთდროული გამოყენების შედეგად ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის ცხოველმყოფელობის ყველა ასპექტზე მიმდინარეობს მძლავრი, ერთდროული ინტერვენცია, რაც ტუბერკულოზით დაავადებული ადამიანის ორგანიზმის ტუბერკულოზის მიკობაქტერიებისაგან სტერილიზაციის ვადებს მნიშვნელოვნად ამცირებს; შესაბამისად შემცირდა MDR/ RR-TB-ის მკურნალობის ხანგრძლივობა 18-20-დან 6-9 თვემდე.

სურათი 2. ახალი ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების მოქმედების მექანიზმი

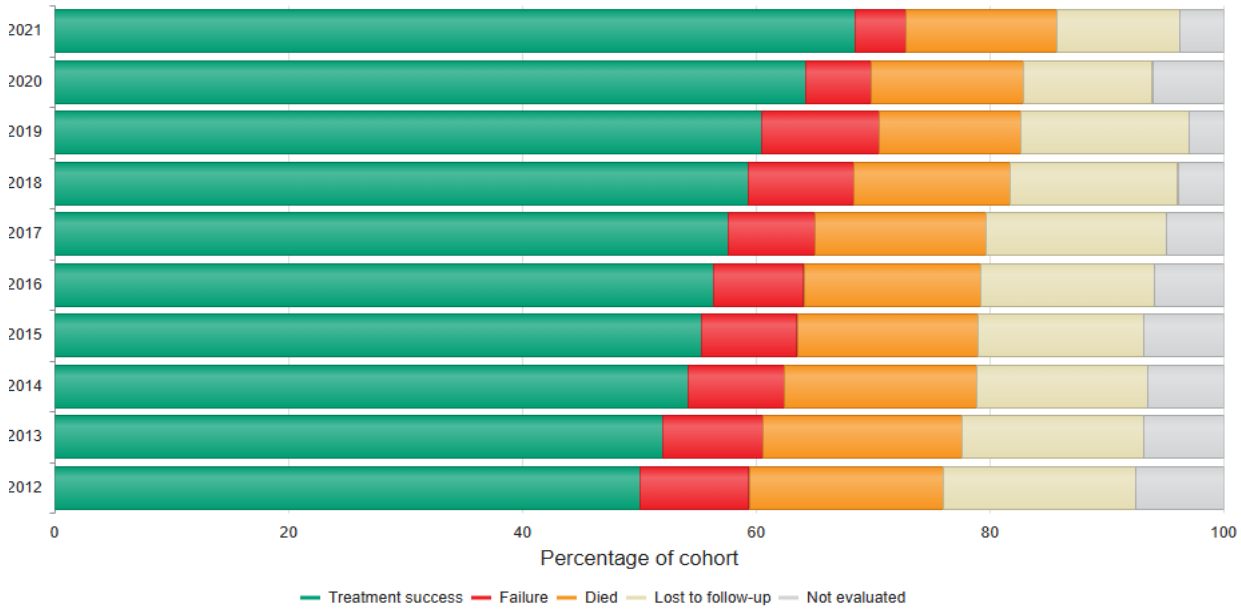


წყარო: Karger e-Journal Backfile Collection 2023

ახალი ტუბსაწინააღმდეგო (ბედაქილინი, დელამანიდი, პრეტომანიდი) და რეპროფილირებული (ლინეზოლიდი, კლოფაზიმინი) მედიკამენტების გამოყენებამ MDR/

RR-TB-ის ქიმიოთერაპიულ რეჟიმებში მნიშვნელოვნად გააუმჯობესა პაცენტთა დამყოლობა მკურნალობაზე, შეამცირა მეთვალყურეობიდან დაკარგვის შემთხვევები; ზედამხედველობამ ფარმაკოუსაფრთხოებაზე კი შესაძლებელი გახადა მედიკამენტების არასასურველი მოვლენების პრევენცია, ადრეული გამოვლენა და მართვა. ზემოთ აღნიშნულის მიუხედავად, წარმატებული მკურნალობის (განკურნება + დასრულებული მკურნალობა) მაჩვენებლები რიფამპიცინზე რეზისტენტული/მულტირეზისტენტული ტუბერკულოზის შემთხვევებში დაავადების სენსიტიურ ფორმებთან შედარებით დაბალია [38]. 2021 წლის კოჰორტაში MDR/ RR-TB დროს წარმატებული მკურნალობის გამოსავალმა შეადგენა 68%, რაც 20% -ით ნაკლებია სენსიტიური ტუბერკულოზის ანალოგიურ მაჩვენებელთან შედარებით (გრაფიკი 7).

გრაფიკი 7. 2012-2012 წლებში MDR/ RR-TB -ით დაავადებულთა მკურნალობის გამოსავლები

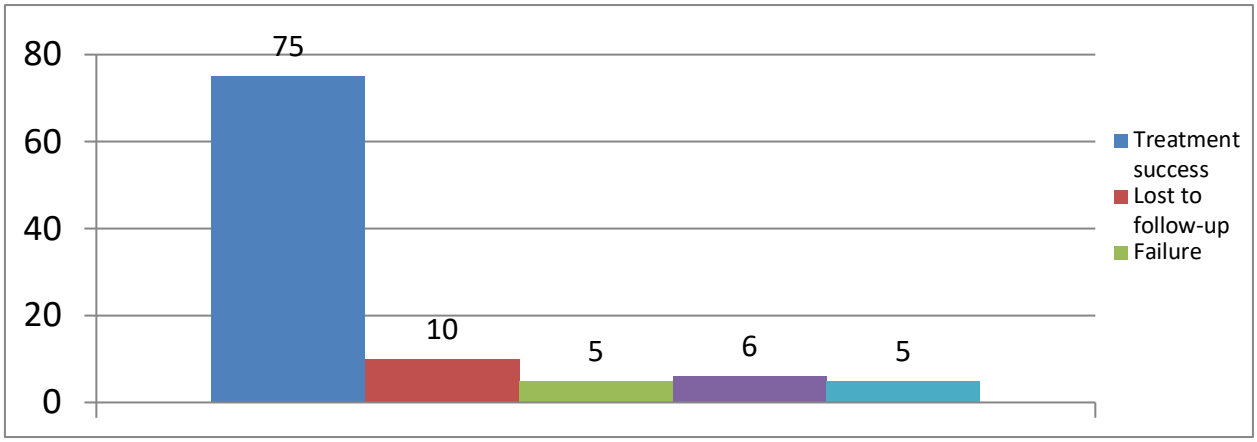


წყარო: ჯანმო ტუბერკულოზის გლობალურ მონაცემთა ბაზა.

საქართველოში MDR/RR-TB-ის მართვა ხორციელდება 2008 წლიდან; 2010 წლიდან ეპიზოდურად, 2015 წლიდან კი პროგრამულად ხორციელდება რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მკურნალობა ახალი და რეპროფილირებული

მედიკამენტების გამოყენებით, რამაც მნიშვნელოვნად გააუმჯობესა MDR/RR-TB-ის შემთხვევების მკურნალობის გამოსავლები და წარმატებულმა მკურნალობის მაჩვენებელმა 2021 წლის კოჰორტაში 75% მიაღწია(გრაფიკი 8).

გრაფიკი 8. MDR/RR-TB მკურნალობის გამოსავლები საქართველოში (2021 წლის კოჰორტა, %)



წყარო: ჯანმო, ტფდეც მონაცემები

ამავე დროს სამედიცინო ხასიათის სამეცნიერო ლიტერატურაში უკვე გაჩნდა პუბლიკაციები ახალი და რეპროფილირებული მედიკამენტების მიმართ რეზისტენტული ფორმების განვითარებასთან დაკავშირებით [78,79,80]. ანალოგიური ტენდენცია შეინიშნება საქართველოშიც. საქართველოში რიფამპიცინზე რეზისტენტულ შემთხვევებს შორის ბედაქილინზე რეზისტენტობა 2019 წლიდან 2023 წლამდე გაიზარდა 5%-დან 12%-მდე; ლინეზოლიდზე-2%-დან 4%-მდე, კლოფაზიმინზე 5%-დან 7,3%; განსაკუთრებით საგანგაშოა ის ფაქტი, რომ აღნიშნულ პერიოდში MDR/RR-TB- შემთხვევათა შორის გაიზარდა იმ პაციენტთა რიცხვი, რომელთაც აღენიშნებათ მდგრადობა რეზისტენტული ტუბერკულოზის სამკურნალო ყველაზე ეფექტური A-ჯგუფში შემავალი ყველა მედიკამენტის (ლევოფლოქსაცინი ან მოქსიფლოქსაცინი,ბედაქილინი, ლინეზოლიდი) მიმართ (2020წ-7%; 2021წ-20%, 2022წ.-17%; 2023წ.-18%). საქართველოში ახალი და რეპროფილირებული ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო პრეპარატების მიმართ რეზისტენტობის მზარდი დინამიკა აჩვენებს, რომ უახლოეს წლებში შესაძლოა კვლავ შეგვექმნას წამლებისადმი რეზისტენტული ტუბერკულოზის კრიზისი. რეზისტენტობის

პრობლემა ძალზედ აქტუალურია ფთიზიატრიაში. ტუბერკულოზის, განსაკუთრებით კი რეზისტენტული ტუბერკულოზის გლობალური საფრთხიდან გამომდინარე, შეიქმნა სტრატეგია "დავასრულოთ ტუბერკულოზი [81], რომლის 3 ძირითადი კომპონენტიდან ერთი გულისხმობს სამეცნიერო კვლევებისა და ინოვაციების ინტენსიფიკაციას. რეზისტენტული ტუბერკულოზის სფეროში ინოვაციური სამეცნიერო კვლევების განხორციელება რეკომენდირებულია ორი ძირითადი მიმართულებით:

- ახალი ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების სინთეზირება
- მდგრადობის ინჰიბიტორების ძიება ძირითადი და პრიორიტეტული მედიკამენტების ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღსადგენად.

ანტიმიკრობული საშუალებების მიზნობრივი მიმართვა უჯრედშიდა პათოგენების ლოკალიზაციის ადგილისადმი პერსპექტიულ მიდგომას წარმოადგენს ისეთი დაავადების სამკურნალოდ, როგორიცაა ტუბერკულოზი. ეფექტური ანტიმიკობაქტერიული პრეპარატების ძიებაში, რომლებსაც შეუძლიათ გადალახონ ზემოთ განხილული ფართოდ გავრცელებული ტუბსაწინაღმდეგო მედიკამენტების მიმართ ტუბ.მიკობაქტერიის მდგრადობის პრობლემები და ნაწილობრივ პასუხისმგებელნი არიან ტუბერკულოზის გლობალურ სტატუსზე, ბოლო დროს განსაკუთრებული ყურადღება მიიპყრო ვერცხლის ნანონაწილაკებმა მათი ძლიერი ანტიბაქტერიული აქტივობისა და ვერცხლის ანტისეპტიკად გამოყენების ხანგრძლივი ისტორიის გამო [82,83].

2.2.2. ვერცხლის ნანონაწილაკები- ახალი პარადიგმა რეზისტენტული ტუბერკულოზის მკურნალობაში

პათოგენების მზარდმა რეზისტენტობამ გამოიწვია არსებული ანტიმიკრობული მედიკამენტების მიმართ მულტირეზისტენტული ინფექციების რიცხვის ზრდა პაციენტების ყველა ასაკობრივ ჯგუფში [84], რაც გახდა ანტიბიოტიკების ეფექტურობის აღსადგენად მდგრადობის ინჰიბიტორების ინტენსიური ძიებისა და კვლევის საფუძველი. მედიკამენტების ტრანსპორტირების პოტენციური სისტემებისათვის აპრობირებულ იქნა ნანონაწილაკების სხვადასხვა სახეები: ბიოდაშლადი პოლიმერული ნანონაწილაკები, პოლიმერული

მიცელები, ნანოკაპსულები, ნანოგელები, ფულერენები, ნახშირბადის ნანომილაკები, მყარი ლიპიდური ნანონაწილაკები, ნანოლიპოსომები, დენდრიმერები, მეტალის ნანონაწილაკები და კვანტური წერტილები [85]. ეფექტური ანტიმიკობაქტერიული აგენტების ძიების პროცესში უკანასკნელ პერიოდში განსაკუთრებული აქცენტი კეთდება ანტიბაქტერიულ პეპტიდებსა და ნანონაწილაკებზე [86].

ბოლო ათწლეულების მანძილზე მედიცინის განვითარებასა და წინსვლაზე დიდ გავლენას ახდენს ნანომეცნიერებისა და ნანოტექნოლოგიების განვითარება. მედიცინაში ამ უკანასკნელის გამოყენება გულისხმობს სხვადასხვა დაავადების დიაგნოსტიკური მიდგომებისა და მკურნალობის მეთოდების გაუჯობესებას. თეორიული და გამოყენებითი ქიმიის საერთაშორისო კავშირის (IUPAC) განმარტების მიხედვით ნანონაწილაკი არის მცირე ზომის ობიექტი, რომლის ზომა სულ მცირე ერთ განზომილებაში არ აღემატება 100 ნმ-ს[87]. ნანონაწილაკებს უნარი შესწევთ დასძლიონ ბაქტერიების მედიკამენტების მიმართ რეზისტენტობის არსებული ისეთი მექანიზმები, როგორიცაა შთანთქმის შემცირება და მიკრობული უჯრედიდან მედიკამენტის რეფლუქსის გაძლიერება, ბიოაპკების ფორმირება, ასევე ებრძოლონ ინფექციის უჯრედშიდა გამომწვევებს. ნანონაწილაკების გამოყენება უშუალოდ დაზიანების კერაში მაღალი კონცენტრაციით ანტიმიკრობული პრეპარატების ტრანსპორტირების საშუალებას იძლევა ორგანიზმისათვის მედიკამენტის ოპტიმალური დოზის შენარჩუნების პარალელურად, რაც ქმნის ანტიბიოტიკების მიმართ მდგრადობის მექანიზმების გადალახვისა და გვერდითი ეფექტების შემცირების შესაძლებლობას[88]. მეტალის ნანონაწილაკებს გააჩნიათ სამკურნალოდ გამოყენების პოტენციური პერსპექტივა მათი გამორჩეული ანტივირუსული, ანტიბაქტერიული და ანტიმიკოზური მოქმედების გამო [89]. ნანონაწილაკების რამდენიმე კლასის, მათ შორის სპილენძის[90], რკინის[91], ოქროს[92], თუთიის[93], ვერცხლის[94], აგრეთვე ნახშირბადის ნანომილების[95], პოლიკატიონური პოლიმერებსა და ქიტოზინ-ოქროს NP ნანონაწილაკებზე [96,97] ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა მათი მაღალი ანტიბაქტერიული აქტივობა.

ვერცხლის ნანონაწილაკები (AgNPs) იპყრობს განსაკუთრებულ ყურადღებას მძლავრი ანტიბაქტერიული მოქმედების გამო, აგრეთვე იმ მიზეზით, რომ ანტიბიოტიკებისაგან განსხვავებით, პათოგენური ბაქტერიების უმეტესობას მის მიმართ ძალზედ იშვიათად

უვითარდებათ რეზისტენტობა[98]. ვერცხლი უძველესი დროიდან წარმოადგენდა ერთ-ერთ ძირითად ანტიმიკრობულ საშუალებას და მედიცინაში გამოიყენებოდა ინფექციური დაავადებების, განსაკუთრებით კი ქირურგიული ინფექციების სამკურნალოდ [99,100]. ვერცხლის თერაპიული თვისებების შესახებ ცნობები 200 წელზე მეტია არსებობს. მე-19 საუკუნიდან ვერცხლის ფუძეზე დამზადებულმა ნაერთებმა უკვე ფართო გამოიყენება ჰპოვა ოფიციალურ მედიცინაში ანტიმიკრობული საშუალების რანგში [101,102,103]. ნანოტექნოლოგიების განვითარებამ ნანოდონეზე ნივთიერების ზომებისა და თვისებების მანიპულირების შესაძლებლობა წარმოშვა, რის შედეგსაც წარმოადგენს ვერცხლის ანტიმიკრობული პოტენციალის გაზრდა მისი ნანონაწილაკების ფორმით გამოყენებისას. აღნიშნული ეფექტი უკავშირდება ნანოდონეზე მასალის ფიზიკო-ქიმიური თვისებების შეცვლას; ზედაპირის ფართობის კოეფიციენტის გაზრდა ნანონაწილაკების მოცულობასთან მიმართებაში ზრდის მათ რეაქტიულობას. ჩატარებული ექსპერიმენტული კვლევებით დადასტურებულია AgNPs-ის მოქმედების ფართო სპექტრი და მაღალი ანტიმიკრობული აქტივობა ბაქტერიების, სოკოების, ვირუსების მიმართ მისი დაბალი კონცენტრაციით გამოყენების პირობებშიც კი[104]. ვერცხლის ნანონაწილაკების ზემოქმედების შესწავლით დადგინდა მისი მაღალი აქტივობა ოქროსფერი სტაფილოკოკის მეთილენ-რეზისტენტული (MRSA) შტამების[105], Escherichia coli-სა and Pseudomonas Aeruginosa-ს მიმართ [106] . მეტალოტოლერანტული სოკო Penicillium notatum-საგან მიღებულმა კრისტალური ბუნების AgNPs-ის კვლევამ აჩვენა მისი მაღალეფექტურობა გრამ-დადებით და გრამ-უარყოფით ბაქტერიებზე, მათ შორის Escherichia coli (ATCC 10536), Staphylococcus aureus (ATCC 9144), Bacillus Subtilis, Enterococcus faecalis , Listeria innoccua (ATCC 13932), Pseudomonas aeruginosa (ATCC10145). ანალოგიური შედეგი იქნა მიღებული Trichoderma harzianum-ისა და Ganoderma-ის ექსტრაქტებისა და სუპერნატანტებისაგან წარმოებული AgNPs-ის in vitro შესწავლისას E. coli, P. aeruginosa და S. Aureus შტამებზე [106,108,109,110,111]. ვერცხლის ნანონაწილაკების ანტიმიკრობული მოქმედება ხორციელდება სამი ძირითადი მექანიზმით [112,113,114.115,116,117,118,119,120, 121,122,123,124,125, 126,127] (სურათი 3)

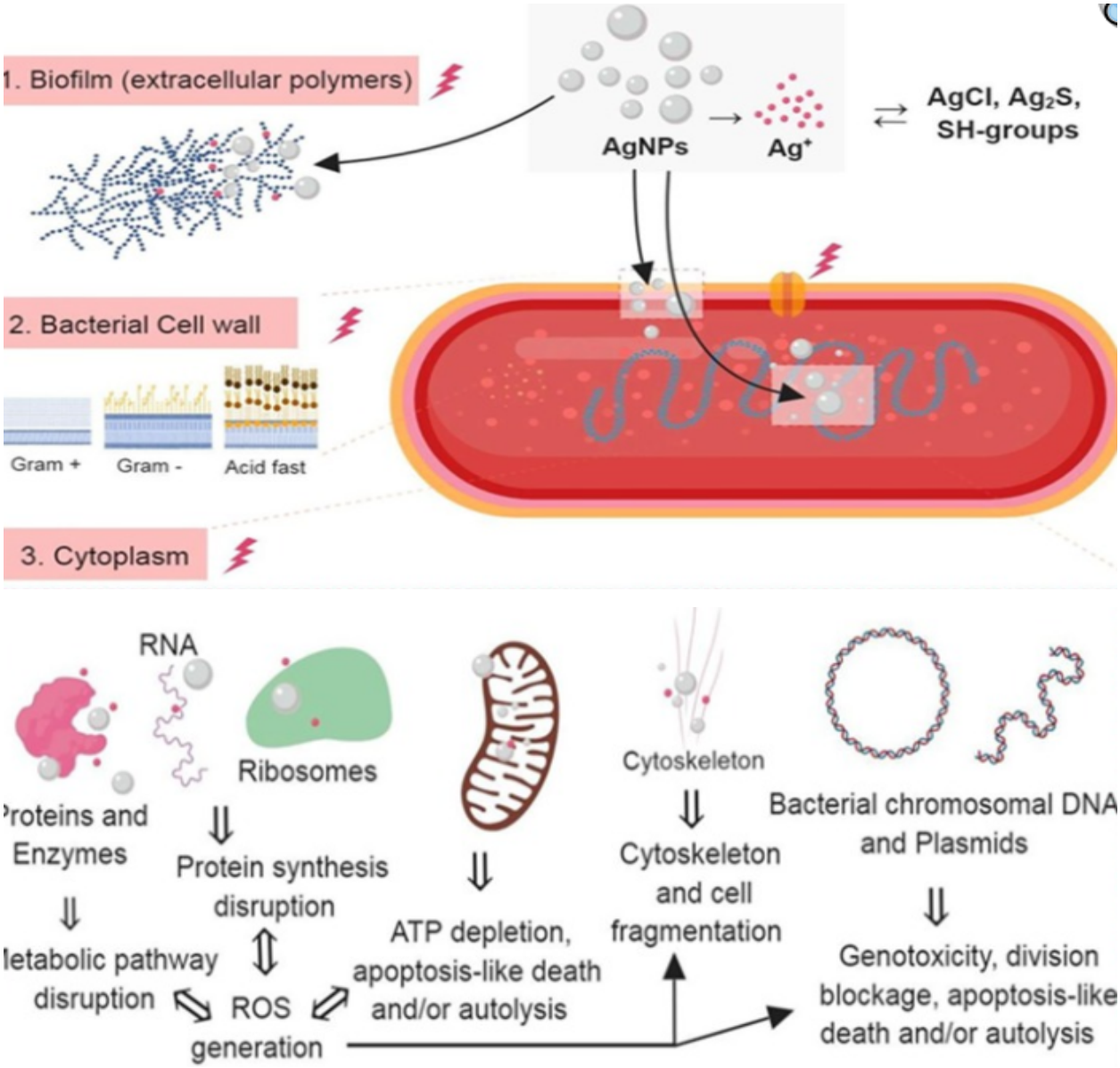
1. პირდაპირი კონტაქტით ბაქტერიულ კომპონენტებთან (ბიომემბრანა და ბაქტერიის უჯრედის კედელი) ბაქტერიულ ბიომემბრანებში არსებული უჯრედგარეთა პოლიმერების დაგროვებითა და დაშლით;

2. AgNPs-ის ადჰეზიით ბაქტერიული უჯრედების ზედაპირზე, რის გამოც ადგილი აქვს მიკრობების მემბრანების დარღვევას, ტრანსმემბრანული ტრანსპორტირების ცვლილებებსა და უჯრედული შიგთავსის გაჟონვას, რაც საბოლოოდ იწვევს ბაქტერიული უჯრედის სიკვდილს;

3. AgNPs-ის შეღწევით მიკრობული უჯრედის ციტოპლაზმაში, სადაც ურთიერთქმედებს ორგანელებთან, იწვევს ცილების დეგრადაციას, არღვევს მეტაბოლურ გზებს, მათ შორის იწვევს დნმ-ის რეპლიკაციის დათრგუნვას, დნმ-ის ფრაგმენტაციას, ტრანსკრიპციის დათრგუნვას, რნმ-ის დეგრადაციას, ტრანსლაციის დათრგუნვასა და ელექტრონის გადატანის ჯაჭვის ინჰიბირებას, რაც იწვევს ატფ-ის შემცირებას.

დაავადებათა ექსპერიმენტული მკურნალობის ახალი მიდგომა გულისხმობს მეტალის ნანონაწილაკებისა და ანტიმიკრობული მოქმედების მედიკამენტების (ე.წ „ნანოანტიმიკრობული საშუალებები“) კომპოზიტების შექმნას მათი ანტიბაქტერიული ეფექტურობის გასაძლიერებლად, განსაკუთრებით ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის არსებობისას მათი დაძლევის მიზნით [128,129] დადგინდა, რომ AgNPs-სა და ანტიბიოტიკის კომპოზიტებს შეუძლიათ როგორც გრამ-დადებითი, ასევე გრამ-პოლირეზისტენტული ბაქტერიების ინჰიბირება[130,131,132], მაგრამ სინერგიზმი შეინიშნება მხოლოდ გარკვეული ტიპის ანტიბიოტიკებისთვის. დენგისა და თანაავტორების მიერ ჩატარებული კვლევით [130] აღმოჩნდა, რომ AgNPs/ანტიბიოტიკის (ენოქსაცინი, კანამიცინი, ნეომიცინი და ტეტრაციკლინი) კომპოზიტის ზემოქმედების შედეგად აღინიშნა Salmonella typhimurium-ის პოლირეზისტენტული შტამის ზრდის ინჰიბირება, თუმცა ანალოგიური შედეგი არ იქნა მიღებული ამპიცილინისა და პენიცილინის AgNPs-თან ერთობლივი გამოყენებისას. რაც შეეხება სინერგიის მექანიზმს, ტეტრაციკლინი აძლიერებს ვერცხლის ზემოქმედებას ბაქტერიულ უჯრედზე, რასაც თან სდევს Ag+-ის

სურათი 3. AgNPs-ის ანტიმიკრობული მოქმედების მექანიზმი



გათავისუფლების ზრდა და ბაქტერიის უჯრედის კედელთან მისი მაღალი კონცენტრაციით დაგროვება; აღნიშნული იწვევს ბაქტერიების ზრდის ინჰიბირებასა და სიკვდილს. სარატალესა და თანაავტორების მიერ გაძლიერებული დადებითი სინერგიული პასუხი დაფიქსირდა Argyreia nervosa-საგან სინთეზირებული AgNPs-სა და მასთან ცალ-ცალკე 7 დასახელების (სტრეპტომიცინი, ტეტრაციკლინი, ვანკომიცინი, ამოქსიცილინი, გენტამიცინი, ერითრომიცინი, ციპროფლოქსაცინი) ანტიბიოტიკის ერთობლივი გამოყენებისას ოქროსფერი სტაფილოკოკისა და ეშერიხია კოლის წინააღმდეგ [133]. ანალოგიურად,

ცეფტრიაქსონის ბიოგენურ AgNPs-თან კონიუგაციის შემდეგ დაფიქსირდა ცეფტრიაქსონის მიმართ გაძლიერებული ანტიბაქტერიული ეფექტი ადამიანის მდგრადი პათოგენების წინააღმდეგ[134]. ზემოთ აღნიშნულიდან AgNPs/ანტიბიოტიკის სინერგიის განსხვავებული მექანიზმი იქნა აღწერილი ჰუანგი-სა და თანაავტორების [135] მიერ. მათი მონაცემებით, სხვადასხვა პათოგენურ ბაქტერიებზე (Staphylococcus aureus, Enterococcus faecium, Streptococcus mutans, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli) AgNPs-ისა და ამპიცილინის, კანამიცინის შემცველმა ნანოანტიმიკრობულმა საშუალებებმა გამოიწვია ბიოაპკის წარმოქმნის შეფერხება. ფარუკმა და თანაავტორებმა [136] თავიანთ ნაშრომში დაამტკიცეს რიფამპიცინის მაღალეფექტურობა ბიოაპკის წარმოქმნის წინააღმდეგ ვერცხლთან კონიუგაციის (Rif/ AgNPs) შემდეგ K. pneumoniae და S. aureus მეთიცილინ-რეზისტენტულ შტამებში. In vitro კარგი ანტიმიკობაქტერიული ეფექტი დაფიქსირდა ძირითადად მიკობაქტერიების ზრდის დათრგუნვის გამო კვლევებში, რომელშიც გამოყენებული იყო ბიოგენური AgNPs, წარმოებული Psidium guajava [137], Rhizopus stolonifera [138], Plumbago auriculata [139], Cucumis sativus [140], Catharanthus roseus [141], Ipomoea carnea [142], Coriandrum sativum [143], Asparagus race [144]. ჰეიდარისა და თანაავტორების [145] მიერ in vitro (ე.წ.„არამწვანე“) 1მკგ/მლ დოზით ფიზიკო-ქიმიური მეთოდებით მიღებული AgNPs -ის ზემოქმედების შესწავლისას *M. tuberculosis* MDR и XDR შტამებზე ბაქტერიოციდული ეფექტი არ იქნა დაფიქსირებული. ანალოგიური შედეგი იქნა მიღებული ელისისა და თანაავტორების მიერ [146] მულტიმეტალური ნანონაწილაკების, მათ შორის ვერცხლის ნანონაწილაკების ანტიმიკობაქტერიული მოქმედების შესწავლისას. ჯაფარლისა და თანაავტორების [147] მიერ სფერული 13 ნმ ზომის AgNPs -ის შესწავლისას ასევე არ იქნა აღმოჩენილი მისი ანტიბაქტერიული ეფექტი ინტრამაკროფაგალურ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიებზე, მაგრამ ნანონაწილაკის მოლეკულაში Zn დამატებისას უკვე დაფიქსირდა ანტიტუბერკულოზური აქტივობის არსებობა. 50-100ნმ ზომის სფერულმა ბიოგენურმა Alstonia macrophylla-სა და Trichoderma species-საგან სინთეზირებულმა AgNPs-მა ანტიმიკრობულ პეპტიდებთან კომბინაციაში აჩვენა კარგი ანტიტუბერკულოზური აქტივობა *M. marinum* და *M. smegmatis* მიმართებაში, რაც ახსნილი იყო სუპეროქსიდის რადიკალების წარმოქმნითა და მაკროფაგების ციტოკინებით გააქტიურებით.

ნანონაწილაკებთან ერთად რიფამპიცინის გამოყენებისას აღინიშნა *M. smegmatis*-ის წინააღმდეგ ანტიბაქტერიული ეფექტის ზრდა [148]. მაკროფაგებში ლოკალიზებულ *M. smegmatis*-ზე ქიტოზინით დაფარული AgNPs (CS-AgNPs) მიერ უჯრედშიდა განადგურების პროცესი (ზემოქმედებამდე და მის შემდეგ) შესწავლილ იქნა იენასა და თანაავტორების მიერ [149]. CS-AgNPs-ის ბაქტერიციდული ეფექტი უკავშირდებოდა მისი ზემოქმედების დროსა და კონცენტრაციას; ანტიბაქტერიული მოქმედების ძირითად ეფექტს ადგილი ჰქონდა ინკუბაციის პირველი საათის განმავლობაში. ანტიბაქტერიული მოქმედების სავარაუდო მექანიზმი დაკავშირებული უნდა იყოს უჯრედის მემბრანის მთლიანობის დარღვევასთან ან თიოლის შემცველი მოლეკულების ქიმიური ინაქტივაციასთან. კვლევის შედეგად დადასტურდა, რომ CS-AgNPs -ს არ გააჩნდა ციტოტოქსიკური მოქმედება მაკროფაგებზე. აღინიშნა ანტიტუბერკულოზური აქტივობის ზრდა გენტამიცინის დამატების შემდეგ. ამავე კვლევის შედეგად დადასტურდა CS-AgNPs-ს ანტიბაქტერიული მოქმედება სხვა პათოგენული ბაქტერიების, კერძოდ Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa და Salmonella typhi-ს მიმართაც. კრეიტსბერგისა და თანაავტორების მიერ [150] აღწერილია, რომ 10-150 ნმ ზომის AgNPs საწყისი დოზით 5 მგ/ლ იწვევს იზონიაზიდის, რიფამპიცინის, ეთიონამიდის, ლევოფლოქსაცინის, ოფლოქსაცინის, კანამიცინის ანტიბაქტერიული ეფექტის გაძლიერებას *M. tuberculosis*-ის კლინიკური იზოლატებში. სელიმმა და თანაავტორებმა [151] შეისწავლეს ფიზიკო-ქიმიური მეთოდებით სინთეზირებული, ოთხკუთხა და სფერული ფორმის 50 ნმ ზომის ვერცხლის ნანონაწილაკების მოქმედება *M. tuberculosis* და *M. bovis*-ის სტანდარტულ შტამებზე; *M. tuberculosis* და *M. bovis*-ის სტანდარტული კულტურებისათვის AgNPs-ის მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაცია (MIC) აღმოჩნდა 1 и 4 მკგ/მლ; კლინიკური იზოლატების დათრგუნვისათვის კი საჭირო აღმოჩნდა ვერცხლის ნანონაწილაკების უფრო მაღალი კონცენტრაციები, კერძოდ დიაპაზონში 4–32 მკგ/მლ *M. bovis*-სათვის და 1–16 მკგ/მლ *M. tuberculosis*-სათვის. ანტიმიკობაქტერიული მოქმედება *M. tuberculosis*-ისა და *M. smegmatis*-ის წინააღმდეგ გამოვლინდა კომერციული საფუარის ექსტრაქტიდან დამზადებული AgCl-NP-ის 37მკგ/მლ დოზის გამოყენებისას. აღნიშნული ეფექტი შეიძლება განპირობებული იყოს არა მხოლოდ ვერცხლის, არამედ ძლიერი და ფართო სპექტრის ანტისეპტიური საშუალების ქლორის (Cl)

გამოყენებითაც [152]. პატელის და თანაავტორების კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ *M. tuberculosis*-ის სტანდარტული კულტურებისთვის esbania grandiflora-დან სინთეზირებული ბიოგენური სფერული (20-56 ნმ) AgNPs-ის MIC არის 12,5 მკგ/მლ, რომელიც ვერცხლის ნიტრატის მინიმალური მაინჰიბირებელი კონცენტრაციის ნახევარს და რიფამპიცინის MIC - ის 30%-ს შეადგენს, მაგრამ მნიშვნელოვნად აღემატება 100მკგ/მლ AgNPs-ის ანტიმიკობაქტერიულ ეფექტს [153]. საინტერესო სტრატეგიულ მიმართულებას წარმოადგენს ვერცხლის ნანონაწილაკების შერწყმა პეპტიდებთან ან ქიტოზანთან და მისი ანტიბაქტერიული/ანტისიმსივნური ეფექტის შესწავლა. აბდელ-აზიზის და თანაავტორების [154], სეთისა და თანაავტორების[155] მიერ ჩატარებულმა კვლევამ აჩვენა, რომ სფერული N,N,N-ტრიმეთილ ქიტოზან ქლორიდისა (TMC) და 0,98-დან 125 მგ/მლ დოზით AgNPs-ის კომბინაციას გააჩნია ანტიბაქტერიული ეფექტი *M. tuberculosis* წინააღმდეგ, ძირითადად ბაქტერიული უჯრედის გარსის დარღვევის გამო. გარდა ამისა აღმოჩნდა, რომ კომპოზიტს - N,N,N-ტრიმეთილ ქიტოზან ქლორიდი 12,3მკგ/მლ დოზით AgNPs დოზით - გააჩნია ციტოტოქსიური მოქმედება A-549 ფილტვის ადენოკარცინომის უჯრედების მიმართ, ფილტვის ქსოვილის საღ უჯრედებზე კი მისი ტოქსიური ზეგავლენა მინიმალურია. AgNPs-ის ზომა და ფორმა მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს მათ ანტიმიკობაქტერიულ აქტივობაზე, რასაც საფუძვლად უდევს ვერცხლის ნანონაწილაკების ურთიერთქნედება ბაქტერიულ უჯრედთან. შედარებით მცირე ზომის ნანონაწილაკები აჩვენებენ მაღალ ანტიმიკრობულ ეფექტურობას მათი ზედაპირის გაზრდილი ფართობის მოცულობასთან თანაფარდობის გამო, რაც ხელს უწყობს ბაქტერიულ უჯრედებთან ურთიერთქმედებისა და მათში შეღწევადობის გაუმჯობესებას. გარდა ამისა, ნანონაწილაკების გეომეტრიული ფორმას აქვს გადამწყვეტი მნიშვნელობა ანტიმიკობაქტერიულ აქტივობაზე [156]. უკანასკნელ პერიოდში ჩატარებმა კვლევებმა აჩვენა, რომ დაახლოებით 45 ნმ ზომის ვერცხლის ნანონაწილაკები იწვევს *M.tuberculosis*, მათ შორის მულტირეზისტენტული შტამების ინჰიბირებას. ამ ნანონაწილაკებისთვის დაფიქსირებული მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაციები (MIC) იყო 2-დან 30 მკგ/მლ-მდე დიაპაზონში, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ის შეიცავს პოტენციალს განხილულ იქნას როგორც რეზისტენტული ტუბერკულოზის ეფექტური მკურნალობის ერთ-ერთი ვარიანტი. ვერცხლის ნანონაწილაკების ფორმა

გავლენას ახდენს მათ ურთიერთქმედებაზე ბაქტერიულ უჯრედებთან. ტეტრაედრის (პირამიდის) ფორმის მქონე ნანონაწილაკებმა აჩვენეს მაღალი ანტიმიკობაქტერიული აქტივობა *M.tuberculosis*-ის წინააღმდეგ [157,158]. სხვადასხვა გეომეტრიული ფორმის მქონე ნანონაწილაკებს გააჩნიათ განსხვავებული ანტიბაქტერიული ეფექტი. ღერძისა და კუბის ფორმის ნანონაწილაკები დაბალ კონცენტრაციებში აჩვენებენ უფრო მაღალ ეფექტურობას სფერულ ანალოგებთან შედარებით, რაც სავარაუდოდ გამოწვეულია მათი უფრო დიდი ზედაპირული რეაქტიულობით და ბაქტერიული მემბრანების დარღვევის გაძლიერებული უნარით [159,160,161].

უკანასკნელ წლებში in vitro ჩატარებულმა ექსპერიმენტების საფუძველზე დადასტურებულია AgNPs მოქმედების ანტიმიკობაქტერიული ეფექტი. სინგჰისა და თანაავტორების მიერ [162] ფიტოგენური AgNPs-ის ზემოქმედების შესწავლისას დადგინდა მისი კარგი აქტივობა მიკობაქტერიების წინააღმდეგ და დაბალი ციტოტოქსიურობა ინფიცირებულ მაკროფაგებზე. ანალოგიური შედეგი იქნა მიღებული სონგისა და თანაავტორების მიერ [163], რომლებმაც 10 ნმ ზომის არაბიოგენური AgNPs-ის შესწავლისას რამდენიმე ბაქტერიულ პათოგენზე, მათ შორის *M.tuberculosis*-ზე, დააფიქსირეს AgNPs-ის მიკობაქტერიების ციტოპლაზმაში შეღწევას შედეგად განვითარებულ ბაქტერიულ-მეტაბოლურ დარღვევებზე დაფუძნებული მისი ანტიმიკობაქტერიული ეფექტი.

In vitro კვლევების გარკვეულ რაოდენობასთან შედარებით, რომლებშიც შესწავლილია AgNPs-ის, როგორც ანტიმიკობაქტერიული პრეპარატის პოტენციალი, დღემდე მხოლოდ in vivo ჩატარებული ერთეული კვლევები არსებობს.კლინიკური კვლევა ჩატარდა 26-დან 55 წლამდე ასაკის ხორხის სენსიტიური ასევე რეზისტენტული ტუბერკულოზით დაავადებულ 50 პაციენტზე. საკვლევ ჯგუფში(n=30) მყოფ პაციენტებს სტანდარტულ ტუბსაწინააღმდეგო ქიმიოთერაპიასთან ერთად უტარდებოდა ადგილობრივად ინჰალაციები ორჯერ დღეში AgNPs-ის სუსპენზიით (Argovit-C, 10 მგ/მლ ვერცხლი 3.3%-იანი კონცენტრაციით) 10 წუთის განმავლობაში. საკონტროლო ჯგუფის პაციენტები (n=20) მკურნალობდნენ მხოლოდ სტანდარტული ქიმიოთერაპიული რეჟიმებით. AgNPs-ის სუსპენზია შეიცავდა სფერულ ნანონაწილაკებს ზომების ბიმოდალური განაწილებით (14.1 ±

9.9 და 50.1 ± 40.3 ნმ). მკურნალობის დაწყებიდან 60 დღის შემდეგ საკვლევი ჯგუფის პაციენტთა 93,3%-თან მიღწეული იყო ნახველის ბაქტერიოლოგიური კონვერსია, საკონტროლო ჯგუფში კი ეს მაჩვენებელი მხოლოდ 70% შეადგენდა. ასევე საკვლევ ჯგუფში ხორხში არსებული ტუბერკულოზური ხასიათის დაზიანებების ალაგება (წყლულების შეხორცება, ასევე ხმის ტემბრის აღდგენა) უფრო მკვეთრად იყო გამოხატული საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით[164]. არსებობს ერთეული სამეცნიერო შრომები, რომელშიც წარმოდგენილია ვერცხლის ნანონაწილაკების ანტიბაქტერიული და იმუნობიოლოგიური თვისებების კვლევის შედეგები, აგრეთვე ვერცხლის ნანონაწილაკების მოქმედების თავისებურებანი ჯანმრთელ და ტუბერკულოზის მიკობაქტერიით ინფიცირებულ ექსპერიმენტულ ცხოველებში ნანონაწილაკების ორგანიზმში მოხვედრის გზების გათვალისწინებით. ჩატარებული კვლევებით დადგინდა, რომ როგორც პოლივინილ-პიროლიდონით დაფარული ვერცხლის ნანონაწილაკები, ისე ვერცხლის ნანონაწილაკები დაფარვის გარეშე აგრეგაციის მიმართ მდგრადობით ხასიათდება და ხსნარში ჰომოგენურად ნაწილდებიან. პოლივინილ-პიროლიდონით დაფარული ვერცხლის ნანონაწილაკებს ახასიათებთ ტუბ.მიკობაქტერიის მიმართ მკვეთრად გამოხატული ბაქტერიციდული აქტივობა დაფარვის გარეშე ვერცხლის ნანონაწილაკებთან შედარებით. პოლივინილ-პიროლიდონით დაფარული ვერცხლის ნანონაწილაკები 0.05-დან 50 მგ/ლ კონცენტრაციით in vitro თაგვების იმუნოკომპეტენტურ უჯრედებზე არ იწვევენ ციტოტოქსიური ზემოქმედებას; გააჩნიათ მკვეთრად გამოხატული ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტი, განსაკუთრებით საინჰალაციო გზით შეყვანისას [165]. ზახაროვისა და თანაავტორების მიერ [166] ჩატარებულმა კვლევამ ცხადყო, რომ ვერცხლის ნანონაწილაკების და იზონიაზიდის კომბინაციის გამოყენებისას იზონიაზიდზე დადასტურებული რეზისტენტობის შემთხვევებში, აღინიშნა ტუბ.მიკობაქტერიის ზრდის სრული ან მნიშვნელოვანი დათრგუნვა შემთხვევათა 49,2%. დადგინდა, რომ 5მკგ/მლ ნანონაწილაკების კონცენტრაციის არსებობისას ბაქტერიოციდული მოქმედება აღწევდა 91,3%. იზონიაზიდზე რეზისტენტული ტუბ.მიკობაქტერიის ექსპოზიცია კომპოზიტის (ვერცხლის ნანონაწილაკი + იზონიაზიდი) ხსნართან იწვევს უჯრედის გარსის დეფორმაციას;

აღნიშნული ადასტურებს ნანონაწილაკების მიერ ქიმიოპრეპარატის (იზონიაზიდის) პოტენცირებას რეზისტენტული შტამის მედიკამენტის მიმართ გამძლეობის გადასალახად.

ამრიგად, ვერცხლის ნანონაწილაკების და იზონიაზიდის ნანოკომპოზიტის გამოყენების ეფექტურობის შესწავლამ ექსპერიმენტული წამალთმდგრადი ტუბერკულოზის დროს, დაადასტურა იზონიაზიდზე ნანონაწილაკების მაპოტენცირებელი ზემოქმედება გამომწვევის რეზისტენტობის დასაძლევად. ვერცხლის ნანონაწილაკების ისევე როგორც დანარჩენი არაორგანული ნანონაწილაკების, ერთ-ერთი პოტენციური ნაკლი შეიძლება იყოს მისი ტოქსიურობა, რამაც შეიძლება შეზღუდოს მათი გამოყენება ბიოლოგიურ კონტექსტში [167,168,169]. მიუხედავად იმისა, რომ უკანასკნელი 2 ათწლეულის მანძილზე გაზრდილია ინტერესი ნანონაწილაკების მიმართ და ჩატარებულია მრავალი კვლევა, ჯერ-ჯერობით არ არსებობს სარწმუნო მტკიცებულებები ნანონაწილაკების, კერძოდ ვერცხლის ნანონაწილაკების ტოქსიურობის შესახებ [170], თუმცა AgNPs-ის ანტიბაქტერიული მოქმედების ერთ-ერთი მექანიზმი გულისხმობს ROS-ის გაძლიერებულ პროდუცირებას, რომელიც შეიძლება ზიანის მომტანი იყოს ორგანიზმის ჯანსაღი უჯრედების მიმართ დამცველობითი ანტიოქსიდანტური მექანიზმების გადალახვის შემთხვევაში და შეიძლება მიგვიყვანოს ანთების, აუტოფაგიის, აპოპთოზის, ნეკროზის ან დნმ-ის შეუქცევადი დაზიანების განვითარებამდე, რასაც შეიძლება მოსდევდეს მუტაციების წარმოშობა და შესაძლო ონკოგენეზი [171]. ჩატარებულია რამოდენიმე კვლევა, სადაც დაფიქსირდა ვერცხლის ნანონაწილაკების კარგი ანტიბაქტერიული ეფექტურობა და დაბალი ტოქსიურობა. ასე მაგალითად, დაფიქსირდა კარგი ბაქტერიციდული ეფექტი Phenerochaete chrysosporium-ისგან მიღებულ AgNPs-ი 12,5 მკგ/მლ დოზით გამოყენებისას Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus და Staphylococcus epidermidis მიმართ, მაგრამ in vitro არ იყო აღმოჩენილი თაგვების ემბრიონების ფიბრობლასტებზე ტოქსიური ეფექტის არსებობდა [172]. კვლევებმა გვიჩვენა, რომ 50-100 ნმ ზომის, Alstonia macrophylla-დან და Trichoderma sp-დან სინთეზირებული ბიოგენური ვერცხლის ნანონაწილაკების ბაქტერიოციდული დოზით გამოყენებაც არ იწვევდა მაკროფაგებზე ტოქსიურ ზემოქმედებას, განსხვავებით AgNPs-ის უფრო მაღალი დოზებისაგან, რომელთა გამოყენებისას დაფიქსირდა ციტოტოქსიკურობა და დნმ-ის დაზიანება [148,165].

ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო თერაპიის ახალი პარადიგმა-ვერცხლის ნანონაწილაკების გამოყენება ტუბერკულოზის მკურნალობაში- ემყარება იმ ფაქტს, რომ Ag-ის ეფექტურობა უკვე დადასტურებულია მრავალი კლასის ბაქტერიებისა და მათი მიკროორგანიზმებისთვის, Ag მარილების სადეზინფექციო საშუალებად გამოყენების ხანგრძლივ ტრადიციაზე და იმაზე, რომ ანტიბიოტიკებისგან განსხვავებით, ამჟამად ცნობილ ყველაზე მეტად პათოგენური ბაქტერიებს იშვიათად უვითარდებათ მდგრადობა ლითონის ნანონაწილაკების მიმართ. ნანოტექნოლოგია გვთავაზობს ახალ და პერსპექტიულ თერაპიულ მიდგომას არსებული ანტიმიკობაქტერიული მკურნალობის გასაუმჯობესებლად. ეს მოიცავს ამჟამად გამოყენებული ტუბსაწინააღმდეგო მედიკამენტების ეფექტურობის გაუმჯობესებას სხვადასხვა ფორმულაციების შემუშავების გზით (მაგ.: ლიპოსომები, მყარი ლიპიდური ნანონაწილაკები, ალგინატის ნანონაწილაკები, ნიოსომები, დენდრიმერები) ან ახალი ნაერთების-მათ შორის მეტალის ნანონაწილაკების დამატებით, რომლებსაც შეუძლიათ კლასიკური თერაპიის მკურნალობის შედეგების გაუმჯობესება. ნანონაწილაკებზე დაფუძნებული ტუბერკულოზის თერაპიის უპირატესობას წარმოადგენს მოქმედების ხანგრძლივი პერიოდი, უჯრედში მედიკამენტის მაღალი შეღწევადობა, შეყვანის გზების მრავალფეროვნება, რამოდენიმე მედიკამენტის მატრიცაში ერთდროულად ჩასმის შესაძლებლობა, გვერდითი ეფექტების განვითარების სიმცირე და შესაბამისად მკურნალობაზე კარგი დამყოლობა, რაც ტუბსაწინააღმდეგო ქიმიოთერაპიის ხანგრძლიობიდან გამომდინარე განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს. დღეისათვის რეზისტენტული ტუბერკულოზის მართვა საზოგადოებრივი ჯანდაცვის მნიშვნელოვან გამოწვევას წარმოადგენს. კვლევების განხორციელება ნანოტექნოლოგიებისა და ნანონაწილაკების სფეროში გვთავაზობს რამდენიმე საინტერესო კონცეფციას, რომელიც შეიძლება იყოს ფასეული ინსტრუმენტი ტუბერკულოზის, განსაკუთრებით კი მისი რიფამპიცინზე რეზისტენტული/ მულტირეზისტენტული ფორმების მკურნალობის კონტექსტში. ვერცხლის ნანონაწილაკები როგორც იზოლირებულად, ასევე სხვადასხვა ბიომოლეკულებთან (პეპტიდები, ქიტოზანი) კომბინაციაში ხასიათდებიან კარგი ანტიმიკობაქტერიული ეფექტით, მაგრამ ეს ეფექტი იზღუდება მიკობაქტერიების მაკროფაგალური ინტერნალიზაციის შემდეგ. პერსპექტიულ სტრატეგიას წარმოადგენს

AgNPs-ის კლასიკურ ანტიტუბერკულოზურ პრეპარატებთან ერთად გამოყენება - კომპოზიტური პრეპარატების შექმნა და მათი სინერგიული მოქმედების შედეგად როგორც უჯრედშიდა, ასევე უჯრედგარეთა ანტიმიკობაქტერიული აქტივობის გაძლიერება. ამ კუთხით არსებობს ექსპერიმენტული და კლინიკური კვლევების იმედის მომცემი შედეგები, მაგრამ ჯერ კიდევ მწირია მონაცემები AgNPs-ის ანტიტუბერკულოზური პოტენციალის შესაფასებლად. მკვლევარების ძალისხმევა მიმართული უნდა იყოს ისეთი ანტიტუბერკულოზურ ნანონაწილაკების სინთეზზე, რომელიც უზრუნველყოფს ლოკალურად დაზიანების კერაში შეღწევადობის მაღალ ხარისხს. ტუბერკულოზური კერის უჯრედებში შიდამაკროფაგურ დისპონენტობასთან დაკავშირებული მაღალი შეღწევადობა, ძლიერი ანტიმიკობაქტერიული მოქმედება და ტოქსიურობისა და იმუნოსუპრესიის მინიმალური ეფექტი წარმოადგენს იმ მახასიათებელთა ერთობლიობას, რომელიც გვაძლევს საფუძველს ვერცხლის ნანონაწილაკებისა და ეფექტური ანტიტუბერკულოზური პრეპარატების კომბინაცია განხილულ იქნას, როგორც მომავალში ანტიტუბერკულოზური მკურნალობის ერთ-ერთი ყველაზე პერსპექტიული მიმართულება.

2.3. კვლევის დიზაინი და მეთოდები

ექსპერიმენტული ხასიათის კვლევის ბაქტერიოლოგიური ნაწილი ჩატარდა ტუბერკულოზისა და ფილტვის დაავადებათა ეროვნული ცენტრის ცენტრალურ რეფერალურ ლაბორატორიაში. ექსპერიმენტულ ცხოველებზე ვერცხლის ნანონაწილაკების უსაფრთხოება შევისწავლეთ ივ. ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ა.ნათიშვილის მორფოლოგიის ინსტიტუტში.

2.3.1. In vitro რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის (RR-MTB) შტამებზე ვერცხლის ნანონაწილაკების (AgNPs) მაინჰიბირებელი ზემოქმედების შესწავლის მეთოდიკა და მასალები

კვლევაში გამოვიყენეთ 20ნმ ზომის, სფერული ფორმის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკები (AgNPs), რომელიც შევიძინეთ “ Hongwu International Group Ltd” (https://www.hwnanomaterial.com). ნანონაწილაკების სუსპენზიის მისაღებად გამოვიყენეთ მაღალი სიხშირის მქონე ულტრაბგერითი ჰომოგენაიზერი, დისრუპტორი,

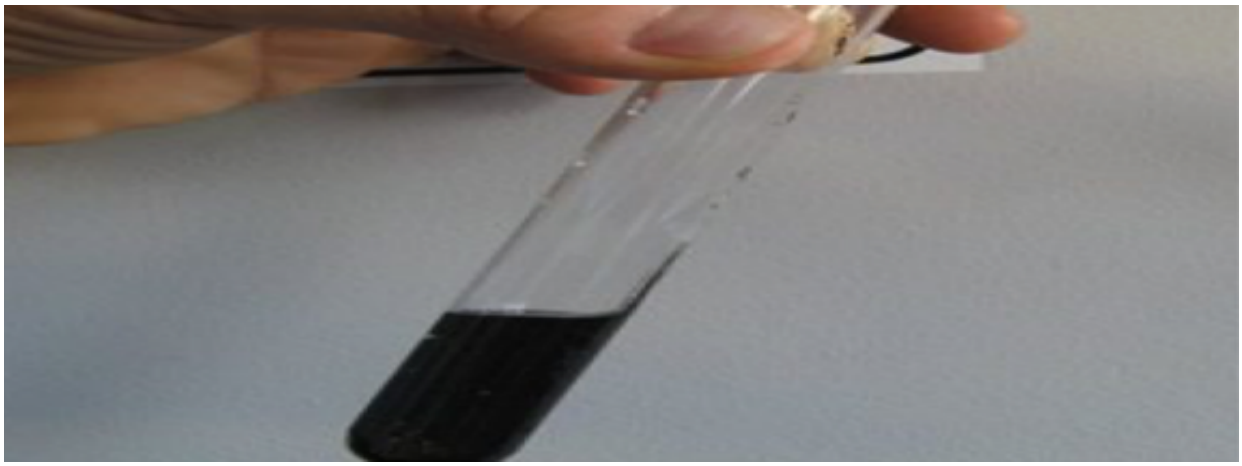
დეზინტეგრატორი Ultrasonic Processor FS-1800N. In vitro ექსპერიმენტი ჩატარდა რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის (RR-MTB) 105 კულტურაზე, რომელიც მივიღეთ ფილტვების ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისაგან კლინიკურ პირობებში. ექსპერიმენტი განხორციელდა თხევად საკვებ ნიადაგებზე BACTEC™ MGIT™ 960 სისტემის (სურათი 4) მეშვეობით. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატი გამოიყენება საკვლევ ნიმუშში ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის სწრაფი დეტექციისთვის. მიკობაქტერიის ზრდის გამოვლენა ხდება ფლუორესცენციით, რომელიც სინჯარაში ჟანგბადის შემცირების პროპორციულად იზრდება. აპარატი ფლუორესცენციას ახდენს ულტრაისფერი სხივებისა და სპეციალური კომპიუტერული ალგორითმის გამოყენებით. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატი გამოიყენება აგრეთვე ტუბსაწინააღმდეგო წამლებზე მგრძნობელობის განსაზღვრის მიზნით, რომელიც 4-13 დღის განმავლობაში იძლევა შედეგების ინტერპრეტაციის საშუალებას. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატში ტუბსაწინააღმდეგო წამლებზე მგრძნობელობის ტესტი იგივე პრინციპს ეფუძნება, რაც გულისხმობს მიკობაქტერიის ზრდის დეტექციას ფლუორესცენციით. ტესტი განხორციელდა MGIT 7 მლ-იანი სინჯარების ნაკრებით, რომელიც მოიცავდა აუცილებლად საკონტროლო სინჯარას (წამლის გარეშე) და სინჯარებს, რომლებსაც ემატებოდა წამალი უკვე ცნობილი კონცენტრაციით. აპარატი ავტომატურად, უწყვეტ რეჟიმში აკონტროლებდა წამლიან და საკონტროლო სინჯარებში ფლუორესცენციის მომატებას. თუ წამალი აქტიური იყო მიკობაქტერიის მიმართ (იზოლატი სენსიტიურია), შესაბამისად ხდებოდა ზრდის ინჰიბირება და ფლუორესცენციის სუპრესირება წამლიან სინჯარებში, მაშინ როდესაც საკონტროლო სინჯარაში მიკობაქტერია იზრდებოდა და აჩვენებდა ფლუორესცენციის მატებას. თუ იზოლატი იყო რეზისტენტული, მიკობაქტერიის ზრდა და შესაბამისად ფლუორესცენციის მატება შეინიშნებოდა ორივე, როგორც საკონტროლო, ისე წამლიან სინჯარებში. BACTEC™ MGIT™ 960 სისტემა ავტომატურად ახორციელებდა სინჯარებში ზრდის მონიტორინგს და შესაბამისად შედეგების ინტერპრეტაციას, იყო სენსიტიური თუ რეზისტენტული. ექსპერიმენტის ჩატარებისას მგრძნობელობის ტესტის ნაკრებში სინჯარებს ემატებოდა ვერცხლის 99,9% შემცველობის 20ნმ AgNPs-ის ფხვნილიდან (სურათი 5) დამზადებული ვერცხლის ხსნარი სხვადასხვა

კონცენტრაციით 100 მკლ ოდენობით (სურათი 6). ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის ზრდის მაინჰიბირებელი მოქმედების დადგენის მიზნით, შევისწავლეთ ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის 6 კონცენტრაცია: 0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5% და 10% , რომელთა მომზადება ხდებოდა შემდეგნაირად: 100 მლ საინექციო წყალს ემატებოდა შესაბამისად 0,25გ, 0,5გ, 1გ, 2.5გ, 5გ და 10გ 99.9% ვერცხლის შემცველი ნანონაწილაკების ფხვნილი ცალ-ცალკე და ხდებოდა ცენტრიფუგირება 5 წუთის განმავლობაში.

სურათი 4. BACTEC™ MGIT™ 960 სისტემა

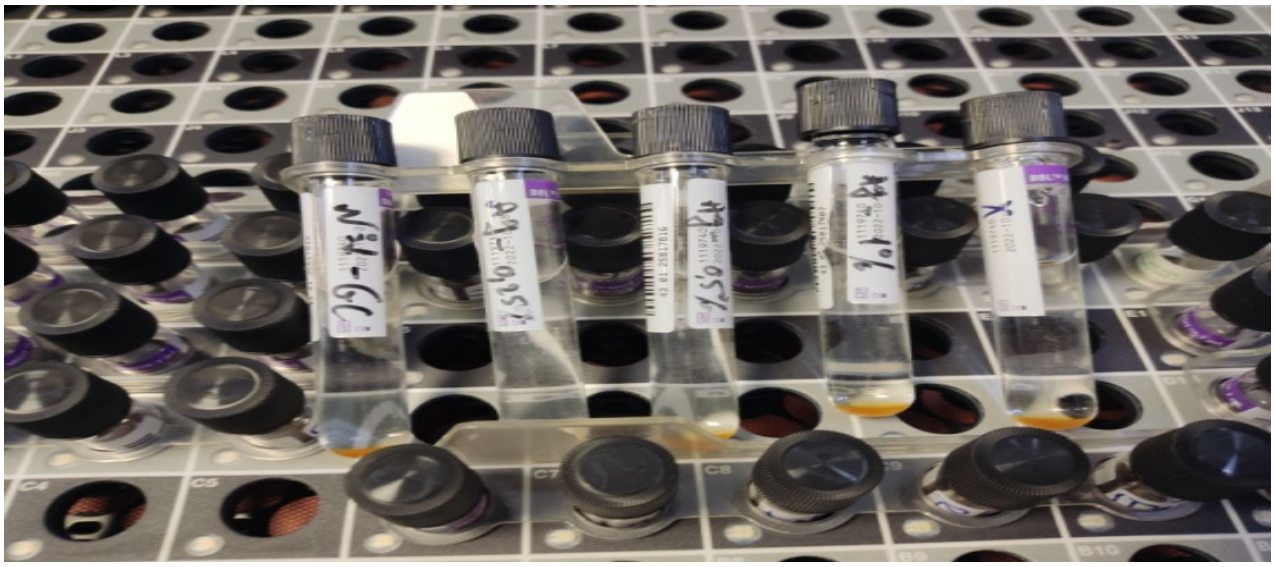
სურათი 5. AgNPs-ის ფხვნილი

სურათი 6. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატის სინჯარა AgNPs-ის სუსპენზიის დამატების შემდეგ



მიღებული სუსპენზიების სტაბილიზაციის მიზნით ხდებოდა მათზე ზემოქმედება 1800 W მაღალი სიხშირის ულტრაბგერით 2-2 წუთის განმავლობაში სამჯერადად ჰომოგენაიზერში, დისრუპტორში, დეზინტეგრატორში მოთავსების შემდეგ. მგრძნობელობის ტესტის ნაკრებში 35 სინჯარას დაემატა ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზია 6 კონცენტრაციით: 0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5% და 10% ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის ზრდის მაინჰიბირებელი მოქმედების დადგენის მიზნით (სურათი 7). AgNPs-ის 0,25%; 0,5%; 1%; 5% და 10% თითოეული კონცენტრაციის სუსპენზიის დამატება მოხდა 5-5 სინჯარაში, ხოლო 2,5% ხსნარისა-10 სინჯარაში. ვერცხლის ნანონაწილაკების განსხვავებული კონცენტრაციებისა და რიფამპიცინის კომპოზიტის ინჰიბიტორული აქტივობის შეფასება განხორციელდა მგრძნობელობის ტესტის ნაკრებში AgNPs-ის 6 სხვადასხვა კონცენტრაციის სუსპენზიასთან (0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5%; 10%) ერთად რიფამპიცინის სტანდარტული დოზის დამატებით (სურათი 8).

სურათი 7. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატის სინჯარები სხვადახვა კონცენტრაციის AgNPs-ის სუსპენზიის დამატების შემდეგ



რიფამპიცინთან ერთად ვერცხლის ნანონაწილაკების ხსნარის თითოეული კონცენტრაციის დამატება მოხდა 10-10 სინჯარაში, გარდა ვერცხლის ხსნარის 2,5%-იანი კონცენტრაციისა, რომელიც რიფამპიცინთან ერთად დაემატა 20 სინჯარას (სულ 70 სინჯარა). ინჰიბიტორული აქტივობის კვლევის შედეგების საბოლოო შეფასება ხორციელდებოდა სინჯარაში

საკვლევი სუსპენზიის დამატების შედეგად ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის ზრდის დათრგუნვის საფუძველზე.

სურათი 8. BACTEC™ MGIT™ 960 აპარატის სინჯარები რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და სხვადახვა კონცენტრაციის AgNPs-ის სუსპენზიის დამატების შემდეგ

2.3.2. ვერცხლის ნანონაწილაკების (AgNPs) უსაფრთხოების შესწავლა ექსპერიმენტულ ცხოველებში

ვერცხლის ნანონაწილაკების უსაფრთხოების დადგენისას, გაიდლაინების შესაბამისად, მოვახდინეთ საკვლევი ცხოველის ზოგადი მდგომარეობის, ბიოქიმიური სტატუსის, სიკვდილიანობის შეფასება; შევისწავლეთ ორგანოთა ბიოფსიური მასალა ჰისტო-მორფოლოგიური მეთოდების გამოყენებით.

ექსპერიმენტის განსახორციელებლად ვერცხლის 99,9% შემცველობის ნანონაწილაკების ფხვნილიდან (მწარმოებელი ჩინეთი Co.Ltd,main in metal powders) მომზადდა ორი ტიპის სუსპენზია:

- პირველ შემთხვევაში 2,5 გ ვერცხლის ნანონაწილაკების ფხვნილს დააემატა 100 მლ საინექციო წყალი;
- მეორე შემთხვევაში 5 გ ვერცხლის ნანონაწილაკების ფხვნილს დაემატა 100 მლ საინექციო წყალი;

ორივე შემთხვევაში ცალ-ცალკე ვერცხლის ნანონაწილაკების ფხვნილისათვის საინექციო წყლის დამატების შემდეგ, მოხდა 5 წუთის განმავლობაში მათი ცენტრიფუგირება და მივიღეთ სუსპენზია, რომელშიც სწრაფად დაილექა ვერცხლის ფხვნილი. სუსპენზიის მდგრადობის მიზნით, იგი მოვათავსეთ ჰომოგენაიზერ, დისრუპტორ, დეზინტეგრატორ Ultrasonic Processor FS-1800N -ში(ჩინეთი) და მასზე სამჯერადად 2 წთ-ის განმავლობაში მოხდა ზემოქმედება 1800 w სიმძლავრის მაღალი სიხშირის ულტრაბგერით. ვერცხლის სუსპენზიების მომზადება ხდებოდა უშუალოდ შეყვანის წინ.

ექსპერიმენტული კვლევებში გამოვიყენეთ 250-300გ სხეულის მასის მქონე უჯიშო თეთრი ვირთაგვები. ცხოველებს ჰქონდათ თავისუფალი წვდომა როგორც წყალთან, ასევე საკვებთან; განთავსებულნი იყვნენ უჟანგავი ფოლადის ბადით დაფარულ პოლიპროპილენის გალიებში (5 ვირთაგვა თითო გალიაში) 22±2ºC ტემპერატურისა და 50%±5% ტენიანობის, 12/12 სთ ნათელი/ბნელი ციკლის პირობებში, ე.ი სრულად იყო დაცული ვივარიუმის სტანდარტული პირობები. ექსპერიმენტები ჩატარდა მოქმედი საერთაშორისო სტანდარტების (Directive 2010-63-EU of the European Parliament and of the Council of 22 september 2010 -On the Protection of Animals Used for Scientific Purposes; Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Eighth edition, 2011) დაცვით. ვერცხლის ნანონაწილაკების ერთჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შეფასება განხორციელდა OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS 423[139], მრავალჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შეფასება კი - OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS 408[140] გაიდლაინების მოთხოვნათა შესაბამისად. მორფოლოგიური გამოკვლევისათვის საკვლევი ცხოველების ორგანოების ქსოვილების დასაჭრელად გამოვიყენეთ მიკროტომი- Leica RM2235 (Leica Biosystems Bioseinthesis, აშშ), პრეპარატების დათვალიერებას ვახორციელებდით სინათლის მიკროსკოპით - Leica DM2500(Leica Biosystems, აშშ). საკვლევი ცხოველების ევთანაზია განხორციელდა IACUC გაიდლაინის მიხედვით (https://animal. research. uiowa.edu/iacuc - guidelines-euthanasia) CO_2-ით (სიჩქარე 5ლ/წუთში) ინდივიდუალურ კამერაში. ვირთაგვების გაკვეთის შემდეგ ამოვკვეთეთ შესაბამისი ორგანოები, გავრეცხეთ NaCl-ის 0.9% (ფიზიოლოგიურ) ხსნარში და დავაფიქსირეთ 4% ფორმალდეჰიდის ხსნარით. ფიქსაციის შემდგომ, საკვლევი მასალის აღმავალი

კონცენტრაციის სპირტებში (70% დან 100%-მდე) თანმიმდევრული მოთავსებით განვახორციელეთ მათი გაუწყლოება-დეჰიდრატაცია, რის შემდეგაც დავიწყეთ ჩაყალიბების პროცესი გამდნარ პარაფინში 58-60^{0}C ქსოვილისთვის მყარი კონსისტენციის მისაღებად. პარაფინის ბლოკში მოთავსებული ქსოვილის დაჭრას 3-5მკმ ანათლებად ვახორციელებდით ფოლადის დანის მქონე მიკროტომით. ამრიგად, ევთანაზიის შემდეგ ჰისტომორფოლოგიური კვლევისათვის თითოეული ჯგუფის ვირთაგვების ორგანოებიდან ავიღეთ ქსოვილები, რომლებიც ჩაყალიბდა პარაფინის ბლოკებში, საიდანაც დამზადდა ანათლები მიკროპრეპარატების დასამზადებლად; პრეპარატები შეიღება ჰემატოქსილინ-ეოზინით და დათვალიერდა სინათლის მიკროსკოპის ქვეშ.

ვერცხლის ნანონაწილაკების (AgNPs) ერთჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შესასწავლად 8-12 კვირის 25 ვირთაგვა რანდომულად დავყავით ხუთ ჯგუფად: ხუთ-ხუთი (2 დედალი არა მაკე და არანამშობიარები და 3 მამალი)ვირთაგვა თითო ჯგუფში. სპეციალური საკვები ნემსის გამოყენებით ორალურად ვერცხლის ნანონაწილაკების 2,5% და 5% სუსპენზია 2,5 მლ ოდენობით ერთჯერადად მიეწოდებოდათ პირველ და მესამე ჯგუფში შემავალ ვირთაგვებს, მეორე და მეოთხე ჯგუფის ვირთაგვებს კი ვაწვდიდით იგივე კონცენტრაციების AgNPs-ის სუსპენზიას 5 მლ ოდენობით. ვირთაგვების მეხუთე - საკონტროლო ჯგუფს კი ეძლეოდა მხოლოდ NaCl-ის 0,9% ხსნარი. ლაბორატორიულ ცხოველებს ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის, ასევე ფიზიოლოგიური ხსნარის მიღებამდე 24 საათით ადრე ეზღუდებოდათ საკვების მიღება, წყლის მიღების შეზღუდვის გარეშე.

ჯგუფი I - ვირთაგვებს ეძლეოდათ AgNPs-ის 2,5% სუსპენზიის ერთჯერადი დოზა 1000 მგ/კგ ოდენობით პერორალურად 24 საათის განმავლობაში;

ჯგუფი II – ვირთაგვები იღებდნენ AgNPs-ის 2,5% სუსპენზიის ერთჯერად დოზას 5000 მგ/კგ ოდენობით პერორალურად 24 საათის განმავლობაში;

ჯგუფი III - ვირთაგვებს ეძლეოდათ AgNPs-ის 5% სუსპენზიის ერთჯერადი დოზა 1000 მგ/კგ ოდენობით პერორალურად 24 საათის განმავლობაში;

ჯგუფი IV- ვირთაგვები იღებდნენ AgNPs-ის 5% სუსპენზიის ერთჯერად დოზას პერორალურად 5000 მგ/კგ ოდენობით 24 საათის განმავლობაში;

ჯგუფი V - საკონტროლო ჯგუფი, რომელშიც შემავალი ვირთაგვები ერთჯერადად იღებდნენ NaCl-ის 0,9% ხსნარს.

ვირთაგვებზე დაკვირვება გაგრძელდა 7 დღის განმავლობაში; ვირთაგვების კონტროლი ხორციელდებოდა AgNPs-ის სუსპენზიის მიღებიდან პირველი 24 საათის განმავლობაში პირველი 4 საათის განმავლობაში ყოველ 30 წუთში, შემდგომ -ყოველ 6 საათში; მომდევნო 6 დღის განმავლობაში კი 12 საათში ერთხელ. OECD გაიდლაინის რეკომენდაციების შესაბამისად (OECD guideline for testing of chemicals), 7 დღის დაკვირვების შემდეგ, ევთანაზიის განხორციელებამდე 24 საათით ადრე მათ შეეზღუდათ საკვების მიღება (ამავე დროს თავისუფლად იღებდნენ წყალს). ევთანაზიის განხორციელების შემდეგ, ხუთივე ჯგუფის ვირთაგვების ორგანოებიდან ავიღეთ ქსოვილები ჰისტოლოგიური კვლევისათვის.

ვერცხლის ნანონაწილაკების (AgNPs) მრავალჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შესწავლა განხორციელდა 8-12 კვირის 20 ვირთაგვაზე, რომლებიც რანდომულად დაიყო 2 ჯგუფად: პირველი ჯგუფის ვირთაგვები იღებდნენ საკვლევ პრეპარატს, ხოლო მეორე ჯგუფი წარმოადგენდა საკონტროლო ჯგუფს, რომელსაც ეძლეოდა მხოლოდ ფიზიოლოგიური ხსნარი. OECD გაიდლაინის რეკომენდაციების შესაბამისად, ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის 500მგ/კგ (ზემაღალი-5000მგ/კგ-ის მეათედი) დოზის მრავალჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შესწავლა მიმდინარეობდა 90 დღის განმავლობაში. ექსპერიმენტის 45-ე დღეს ვირთაგვების ნახევარი გამოყვანილ იქნა ცდიდან. გაიდლაინის თანახმად, უსაფრთხოების დასადგენად შეფასდა შემდეგი პარამეტრები: საკვლევი ცხოველების ზოგადი მდგომარეობა, სიკვდილიანობა, ბიოქიმიური მაჩვენებლები, განხორციელდა ორგანოებიდან აღებული ბიოფსიური მასალის ჰისტო-მორფოლოგიური შესწავლა. კვლევაში დარჩენილ 10 ვირთაგვაზე უსაფრთხოების პროფილის შეფასება მოხდა იგივე პარამეტრებით ექსპერიმენტის დაწყებიდან 90 დღის შემდეგ.

ქსოვილების ზოგადი დაზიანების პოტენციური პარამეტრების შესაფასებლად საცდელი ცხოველების სისხლის პლაზმაში დინამიკაში შევისწავლეთ შემდეგი ბიოქიმიური პარამეტრები: ასპარტატ ამინოტრასფერაზა (AST), ალანინ ამინოტრანსამინაზა (ALT), გამა გლუტამილ ტრანსფერაზა (GGT), კრეატინინი (CREA), შარდოვანა(BUN), საერთო

ქოლესტერინი (CHLOF), ტრიგლიცერიდები (TG), მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინები (HDL), ალბუმინი(ALB), გლუკოზა (GLUK). ბიოქიმიური გამოკვლევებისათვის კარდიალური პუნქციით აღებულ სისხლს 15 წუთის განმავლობაში ვაცენტრიფუგირებდით 3000 ბრუნი/წთ, მიღებული პლაზმას ვინახავდით მაცივარში -20°C-ზე.სისხლის ბიოქიმიური ანალიზები ჩატარდა ნახევრად ავტომატური ფოტომეტრის HumaLyzer Primus REF 18200 (Human Diagnostics, Germany) და თერმოსტატ/ინკუბატორის HUMACUBE (Human Diagnostics, Germany) გამოყენებით. შესაბამისი კიტების (Human Diagnostics, Germany) გამოყენებით ჩატარდა შემდეგი ბიოქიმიური კვლევები :

- ალბუმინის განსაზღვრა კოლორიმეტრული ტესტის მეშვეობით. https://www.human.de/products/clinical-chemistry/reagents/proteins/#c2481;
- ლიპიდების გამწმენდი ფაქტორის გამოყენებით ფერმენტულ - კოლორიმეტრული ტესტით საერთო ქოლესტერინის განსაზღვრა. https://www.human.de/products/clinical-chemistry/reagents/substrates-metabolites/#c2377;
- დეპროტეინიზაციის გარეშე ფერმენტულ - კოლორიმეტრული მეთოდით სისხლში გლუკოზის განსაზღვრა. https://www.human.de/products/clinical-chemistry /reagents/substrates-metabolites/#c2462;
- ჰუმან ქოლესტერინის ტესტით მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინის (HDL Cholesterol) განსაზღვრა .https://www.human.de/products/clinical-chemistry/reagents/substrates-metabolites/#c2379;
- ფერმენტული კოლორომეტრული მეთოდით (ცხიმის გამწმენდი ფაქტორით) ტრიგლიცერიდების (Triglycerides GPO) განსაზღვრა. https://www.human.de/products/clinical-chemistry/reagents/substrates-metabolites/#c2387;
- დეპროტეინიზაციის გარეშე ფერმენტულ - კოლორიმეტრული ტესტით კინეტიკური გაზომვისთვის სისხლში კრეატინინის განსაზღვრა (Creatinine Liquicolor) https://www.human.de/products/clinical-chemistry/reagents/substrates-metabolites/#c2378;

- ფერმენტული კოლორიმეტრული ტესტით შარდოვანას (Urea Liquicolor) განმსაზღვრა. https://www.human.de/products/clinical-chemistry/reagents/substrates-metabolites/#c2388 ;
- კინეტიკური მეთოდით ალანინ ამინოტრანსფერაზას GPT(ALAT) განსაზღვრა. https://www.human.de/products/clinical-chemistry/reagents/enzymes/#c2474;
- კინეტიკური მეთოდით ასპარტატ ამინოტრანსფერაზას GOT(ASAT) განსაზღვრა. https://www.human.de/products/clinical-chemistry/reagents/enzymes/#c2473;
- კინეტიკური მეთოდით გამა - გლუტამილ ტრანსფერაზას (GGT Liquicolor), განსაზღვრა. https://www.human.de/products/clinicalchemistry/reagents/enzymes/#c2472.

ბიოქიმიური ტესტების განხორციელების მეთოდიკა და საჭირო მასალები იხ.დანართში 1.

სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა IBM SPSS Statistics პროგრამული უზრუნველყოფის გამოყენებით (ვერსია 29.0.2.0). ორი განსხვავებული ჯგუფის -AgNPs და R/AgNPs ეფექტის შესადარებლად გამოვიყენეთ Chi-Square (X2) ტესტი, რომლითაც განხორციელდა ორი კატეგორიული ცვლადის (ზრდის გაძლიერება vs ზრდის დათრგუნვა) ანალიზი თითოეული ჯგუფისათვის.

2.3.3. კვლევის ეთიკის საკითხები

ტუბერკულოზისა და ფილტვის დაავადებათა ეროვნული ცენტრის სამედიცინო ეთიკური კომისიისა (რეგისტრაციის #1003/01-17, თარიღი 19.04.2021; რეგისტრაციის #922/01-17, თარიღი 19.04.2022) და თსუ-ს ალექსანდრე ნათიშვილის მორფოლოგიის ინსტიტუტის ბიოსამედიცინო კვლევის ეთიკის კომიტეტის (ოქმი #7, 11.06.2020) მიერ გაცემულია ნებართვები კვლევის ჩასატარებლად. ექსპერიმენტალური კვლევა ჩატარდა მიმდინარე საერთაშორისო სტანდარტების [ჰელსინკის დეკლარაცია ცხოველთა გამოყენებისა და მოვლის შესახებ, 1964; 2010-63- ევროკავშირის დირექტივა სამეცნიერო მიზნებისათვის გამოყენებული ცხოველთა დაცვის შესახებ, 2010; ლაბორატორიული ცხოველების მოვლისა და გამოყენების გზამკვლევი, მე-8 გამოცემა, 2011;) IACUC გაიდლაინი (https://animal. research. uiowa.edu/ iacuc - guidelines-euthanasia)] შესაბამისად.

2.4. კვლევის შედეგები და მათი ანალიზი

2.4.1. რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის შტამებზე in vitro ვერცხლის ნანონაწილაკების დამთრგუნველი ეფექტის შეფასება

კვლევის პირველ ეტაპზე რიფამპიცინის მიმართ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის იზოლატებზე ვერცხლის ნანონაწილაკების მაინჰიბირებელი ეფექტის შესასწავლად RR-MTB იზოლატების შემცველ 30 სინჯარას დაემატა 20ნმ ზომის სფერული ფორმის მეტალური AgNPs-ის სუსპენზიის განსხვავებული კონცენტრაციები. შეფასდა RR-MTB-ის კულტურებზე AgNPs-ის სუსპენზიის 6 კონცენტრაციის: 0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5% და 10% ზემოქმედება. AgNPs-ის თითოეული კონცენტრაციის სუსპენზიის დამატება მოხდა შესაბამისად RR-MTB იზოლატების შემცველ 5 სინჯარაზე. ვინაიდან ვერცხლის ნანონაწილაკების 2,5% სუსპენზიის დამატებისას აღინიშნა RR-MTB-ზე განსხვავებული ინჰიბიტორული ეფექტი (ადგილი ჰქონდა როგორც RR-MTB ზრდის დათრგუნვას, ასევე ზრდას), მიღებული შედეგის სანდოობის ხარისხის ამაღლების მიზნით, ამ კუთხით გავაფართოვეთ კვლევის მოცულობა და პირველ ეტაპზე გამოკვლეული 5 ნიმუშის გარდა, კიდევ ხუთ სინჯარას დავუმატეთ ვერცხლის 2.5% კონცენტრაციის შემცველი სუსპენზია (ჯამში სულ 10 სინჯარა).

ამრიგად, ჩვენს მიერ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის ზრდის მაინჰიბირებელი მოქმედების დადგენის მიზნით, 35 RR-MTB იზოლატზე, შესწავლილ იქნა AgNPs-ის სუსპენზიის ექვსი - 0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5% და 10%-კონცენტრაცია. ჩატარებულმა კვლევამ გვიჩვენა, რომ AgNPs-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის სუსპენზიის დამატებისას, ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის რიფამპიცინზე რეზისტენტული იზოლატების ზრდის დათრგუნვა დაფიქსირდა შემთხვევათა საერთო რაოდენობის 48,6%. RR-MTB იზოლატებზე AgNPs -ის 0,25%, 0,5% და 1% სუსპენზიების დამატებისას აღინიშნა ტუბ.მიკობაქტერიების კულტურის ზრდა. AgNPs-ის 2,5% სუსპენზიის დამატებისას მათ 70% შემთხვევაში დაფიქსირდა ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის რიფამპიცინზე რეზისტენტული შტამის ზრდის დათრგუნვა, 30% შემთხვევებში კი - ზრდა. ვერცხლის ნანონაწილაკების 5% სუსპენზიის დამატებისას აღინიშნა RR-MTB შტამების ზრდის სრული (100%) დათრგუნვა; ანალოგიური შედეგი (ზრდის ინჰიბირება 100%) დაფიქსირდა AgNPs-ის 10% სუსპენზიის დამატების შემთხვევაშიც.

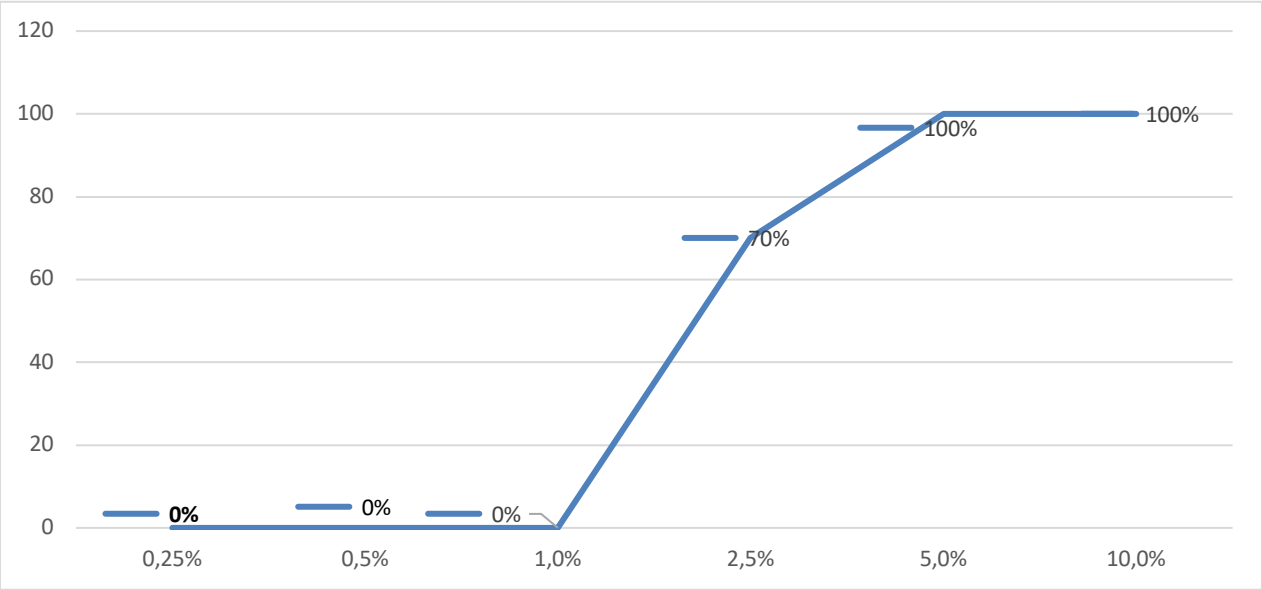
ჩატარებულმა ექსპერიმენტულმა კვლევამ გვიჩვენა, AgNPs-ის 2,5%, 5% და 10,0% სუსპენზიის დამატებისას RR-MTB იზოლატებზე *Mycobacterium tuberculosis*-ის ზრდის დათრგუნვა შემთხვევათა 90.0 %-ში (ცხრილი 1). ამრიგად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევით დადგინდა ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტული კულტურებზე AgNPs -ის სუსპენზიის 0,25%, 0,5% და 1% სუსპენზიის სრული არაეფექტურობა; RR -MTB შტამის ზრდის დათრგუნვა დაიწყო, ე.ი. მინიმალური ინჰიბიტორული ეფექტი დაფიქსირდა AgNPs 2,5% სუსპენზიის გამოყენებისას და სრული ინჰიბირება ანუ ბაქტერიციდული ეფექტი აღინიშნა AgNPs -ის 5% და 10% სუსპენზიის დამატებისას. ჩვენს მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტული კვლევით პირველად დადასტურდა 20ნმ სფერული ფორმის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების 2,5%, 5% და 10% სუსპენზიების მაინჰიბირებელი ეფექტი ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის რიფამპიცინზე რეზისტენტული შტამების მიმართ (ცხრილი 1, გრაფიკი 9).

კვლევის მეორე ეტაპზე, RR-MTB იზოლატების შემცველ 60 სინჯარას დაემატა რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და ვერცხლის სხვადასხვა კონცენტრაციების (0,25%, 0,5%, 1%, 2,5%, 5%, 10%) შემცველი ნანოკომპოზიტი. RR-MTB იზოლატებზე R/AgNPs ნანოკომპოზიტის დამატებისას დაფიქსირდა მიკობაქტერიების ზრდის დათრგუნვის ისეთივე ტენდენცია, როგორც RR-MTB კულტურებზე მხოლოდ AgNPs ზემოქმედებისას.ამ შემთხვევაშიც კვლევის სანდოობის ხარისხის ამაღლების მიზნით გამოკვლეული 10 ნიმუშის გარდა, R/AgNPs-ის ნანოკომპოზიტი AgNPs-ის სუსპენზიის 2,5% კონცენტრაციით დაემატა RR-MTB-ს კიდევ 10 იზოლატს. ჯამურად R/AgNPs-ის ნანოკომპოზიტის (AgNPs-ის 6 განსხვავებული 0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5% და 10% კონცენტრაციის შემცველობით) დამატება მოხდა RR-MTB-ის 70 იზოლატზე; ჩატარებულმა კვლევამ გვიჩვენა, რომ R/AgNPs -ის ნანოკომპოზიტის დამატებისას, ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის რიფამპიცინზე რეზისტენტული იზოლატების ზრდის დათრგუნვა დაფიქსირდა შემთხვევათა 51,4%, რაც 2,8%-ით აღემატება RR-MTB იზოლატებზე მხოლოდ AgNPs-ის სუსპენზიის გამოყენებით მიღებულ ანალოგიურ მაჩვენებელს (48,6%).

ცხრილი 1. RR-MTB ზრდის ინჰიბირება AgNPs-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის დამატებისას

RR-MTB იზოლატის დახასიათება	AgNPs-ის სუსპენზიის კონცენტრაცია						
	0,25%	0,5%	1%	2,5%	5%	10%	სულ
ზრდა დაითრგუნა %	0 0%	0 0%	0 0%	7 70%	5 100%	5 100%	17 90%
გაიზარდა %	5 100%	5 100%	5 100%	3 30%	0 0%	0 0%	18 82,5%
სინჯარების რაოდენობა	5	5	5	10	5	5	35

გრაფიკი 9. RR-MTB ზრდის დათრგუნვის % მაჩვენებელი AgNPs-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის დამატებისას



ექსპერიმენტის შედეგად დადგინდა, რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და AgNPs -ის სუსპენზიის 0,25, 0,5% და 1% კომპოზიტების სრული არაეფექტურობა რიფამპიცინზე

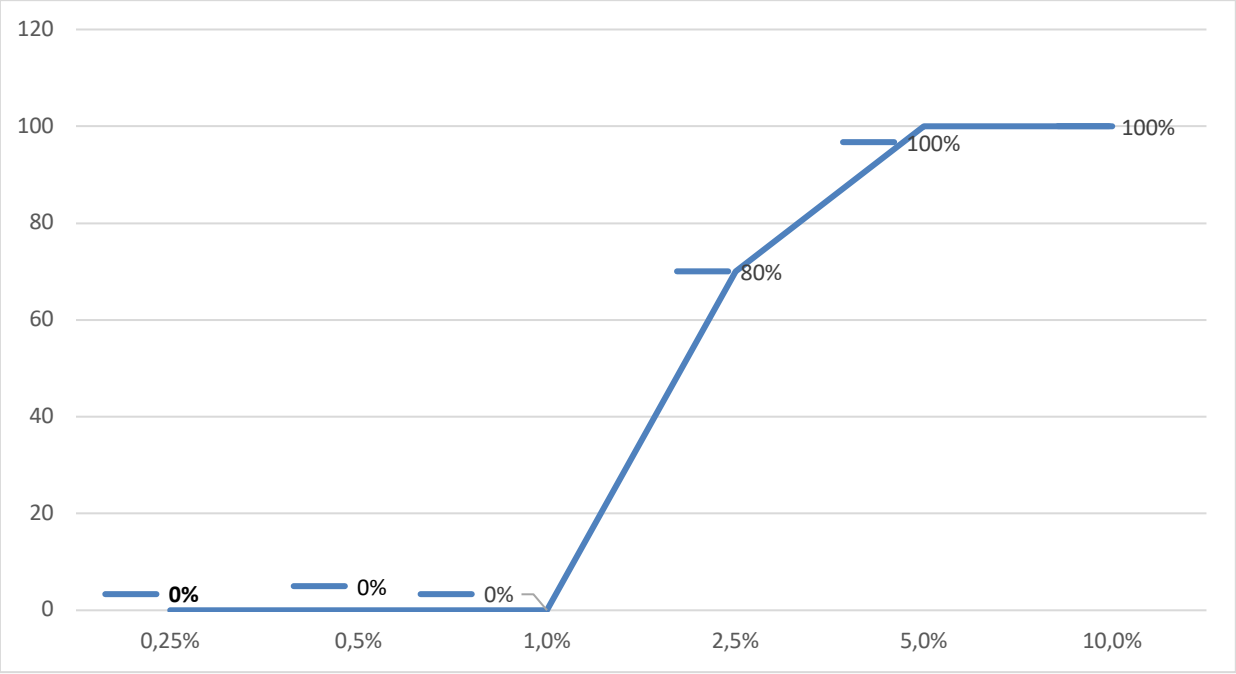
რეზისტენტული ტუბ.მიკობაქტერიის შტამების ზრდის დათრგუნვის კუთხით; RR-MTB შტამის ზრდის დათრგუნვა დაიწყო R/AgNPs 2,5% ხსნარის გამოყენებისას - ბაქტერიციდული ეფექტის არსებობა დაფიქსირდა შემთხვევების 80%-ში; RR-MTB შტამების ზრდის სრული დათრგუნვა კი დაფიქსირდა R/AgNPs -ის 5% და 10% სუსპენზიის დამატებისას (ცხრილი 2, გრაფიკი 10).

ამგვარად, რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბ.მიკობაქტერიის იზოლატებზე AgNPs-ის სუსპენზიის 6 კონცენტრაციის (0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5%: 10%) როგორც იზოლირებულად, ასევე რიფამპიცინის სტანდარტულ დოზასთან ერთად ზემოქმედების შესწავლამ გვიჩვენა იდენტური ტენდენცია RR-MTB-ზე მაინჰიბირებელი მოქმედების თვალსაზრისით, კერძოდ: AgNPs -ის 0,25%, 0,5% და 1% სუსპენზიების დამატება როგორც იზოლირებულად, ისე რიფამპიცინის სტანდარტულ დოზასთან კომბინაციაში ტუბ.მიკობაქტერიის ინჰიბირების თვალსაზრისით აღმოჩნდა არაეფექტური, ე.ი არ გამოიწვია ტუბ.მიკობაქტერიის ზრდის დათრგუნვა. RR-MTB შტამის ზრდის დათრგუნვა დაიწყო AgNPs 2,5% სუსპენზიის გამოყენებისას როგორც იზოლირებულად, ასევე ნანოკომპოზიტის (R/AgNPs) შემადგენლობაში, ხოლო AgNPs -ისა და R/ AgNPs-ის 5% და 10% სუსპენზიის გამოყენებისას კი ფიქსირდება სრული (100%) ბაქტერიციდული ეფექტი. R/AgNPs-ის 2,5%, 5% და 10% სუსპენზიის დამატებისას RR-MTB იზოლატებზე *M. tuberculosis*-ის ზრდის დათრგუნვა დაფიქსირდა შემთხვევათა 93.3 %-ში, რაც 3,3%-ით აღემატება AgNPs-ის იზოლირებულად გამოყენების ანალოგიურ მაჩვენებელს. ხაზი უნდა გაესვას იმას, რომ R/AgNPs 2,5%-იანი კონცენტრაციის შემცველი ნანოკომპოზიტის გამოყენებისას RR-MTB იზოლატებზე ბაქტერიციდული ეფექტის არსებობა დაფიქსირდა შემთხვევების 80%-ში, რაც 10%-ით აღემატება იზოლირებულად მხოლოდ AgNPs-ის სუსპენზიის დამატებით მიღებულ ბაქტერიციდულ ეფექტს [$P > 0,05$; $X2 = 0,373$; (df): 1, P-მნიშვნელობა = 0,541]. აღნიშნული ადასტურებს in vitro AgNPs-ის სუსპენზიის საშუალებით მდგრადობის გადალახვას რიფამპიცინის მიმართ, ანუ რიფამპიცინის ეფექტურობის აღდგენას RR-MTB იზოლატებში.

ცხრილი 2. RR-MTB ზრდის ინჰიბირება ნანოკომპოზიტის (AgNPs-ის სუსპენზიის სხვადასხვა კონცენტრაცია რიფამპიცინის სტანდარტულ დოზასთან ერთად) დამატებისას

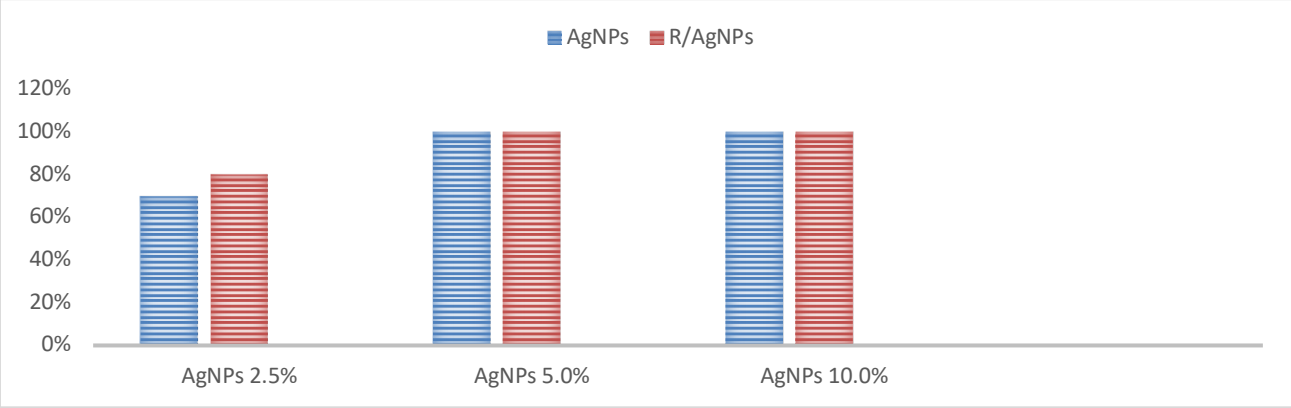
RR-MTB იზოლატის დახასიათება	AgNPs 0.25%+R	AgNPs 0.5%+R	AgNPs 1%+R	AgNPs 2.5%+R	AgNPs 5%+R	AgNPs 10%+R	სულ
ზრდა დაითრგუნა %	0 0%	0 0%	0 0%	16 80%	10 100%	10 100%	36 93,3%
გაიზარდა %	10 100%	10 100%	10 100%	4 20%	0 0%	0 0%	34 80%
სინჯარების რაოდენობა	10	10	10	20	10	10	70

გრაფიკი 10. RR-MTB ზრდის დათრგუნვის % მაჩვენებელი AgNPs-ის სუსპენზიის სხვადასხვა კონცენტრაციისა და რიფამპიცინის სტანდარტული დოზის დამატებისას



ექსპერიმენტში (in vitro) მიღებული შედეგების საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ AgNPs-ის სუსპენზიას გააჩნია დამთრგუნველი მოქმედება ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის რიფამპიცინზე რეზისტენტულ შტამებზე; AgNPs-ის სუსპენზია ასევე ახდენს რიფამპიცინის მოქმედების პოტენცირებას აღნიშნული მედიკამენტის მიმართ მდგრადობის გადასალახად. კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ AgNPs-ის 2,5% სუსპენზიისა და რიფამპიცინის სტანდარტული დოზის კომბინაციას გააჩნია მინიმალური მაინჰინბირებელი მოქმედება რიფამპიცინზე მდგრად ტუბ. მიკობაქტერიაზე, ხოლო AgNPs-ის მინიმალური ბაქტერიციდული კონცენტრაცია რიფამპიცინის სტანდარტულ დოზასთან ერთად AgNPs-ის 5% სუსპენზიის ტოლია.

გრაფიკი 11. RR-MTB-ზე AgNPs-ის სუსპენზიის სხვადასხვა კონცენტრაციისა და R/AgNPs ნანოკომპოზიტის (AgNPs-ის სუსპენზიის სხვადასხვა კონცენტრაცია + RIF სტანდარტული დოზა) მაინჰიბირებელი ეფექტის შედარება



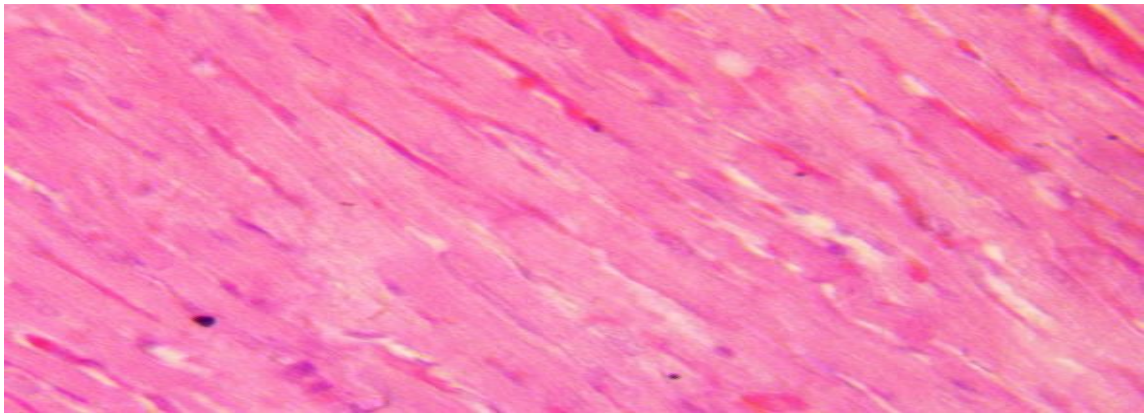
2.4.2 20 ნმ მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების ერთჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შეფასება ექსპერიმენტულ ცხოველებში

ვერცხლის ნანონაწილაკების უსაფრთხოების შესწავლის პირველ ეტაპზე, საცდელ ცხოველებზე ჩატარებულ ექსპერიმენტში გამოვიყენეთ AgNPs -ის მხოლოდ მაღალი და ზემაღალი დოზები (ცხრილი 3), ვინაიდან კვლევის ფარგლებში ჩატარებულმა ბაქტერიოლოგიურმა კვლევებმა დაადასტურეს AgNPs-ის სუსპენზიის დაბალი და საშუალო დოზების სრული არაეფექტურობა. OECD გაიდლაინის[173] შესაბამისად, ვერცხლის

ნანონაწილაკების სუსპენზიის ერთჯერადი მიღების უსაფრთხოების შესწავლისას ვირთაგვებზე დაკვირვება გაგრძელდა 7 დღის განმავლობაში. დაკვირვების პერიოდში უცვლელი დარჩა ვირთაგვების საწყისი წონა, მათ არ შეუზღუდავთ საკვების ან წყლის მიღება, დეფეკაცია, დიურეზი და მოძრაობა; არ დაფიქსირებული არც ერთი ვირთაგვის ლეტალობა.

აღსანიშნავია რომ პირველ, მეორე და მესამე საცდელი ჯგუფის ვირთაგვების ქსოვილებში ჰისტომორფოლოგიური ცვლილებები ვერ ინახა, ხოლო მეოთხე საცდელი ჯგუფის ვირთაგვებში, რომლებმაც ერთჯერადად მიიღეს AgNPs-ის ზემაღალი (5% 5000მგ/კგ) დოზა, გამოვლინდა უმნიშვნელო ხასიათის შემდეგი სახის ცვლილებები: **მიოკარდიუმი** - პათოლოგიური ცვლილებები არ იქნა ნანახი.ზოგ შემთხვევაში აღინიშნებოდა ექსტრავაზატები, რაც უნდა აიხსნას მასალის უხეშად აღების დროს მიყენებული ტრავმით (სურათი 9).

სურათი 9. გულის კუნთის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ, (მიოკარდიუმის ნორმალურიჰისტოლოგიური სურათი. ჰემატოქსილინ-ეოზინი. x 40).

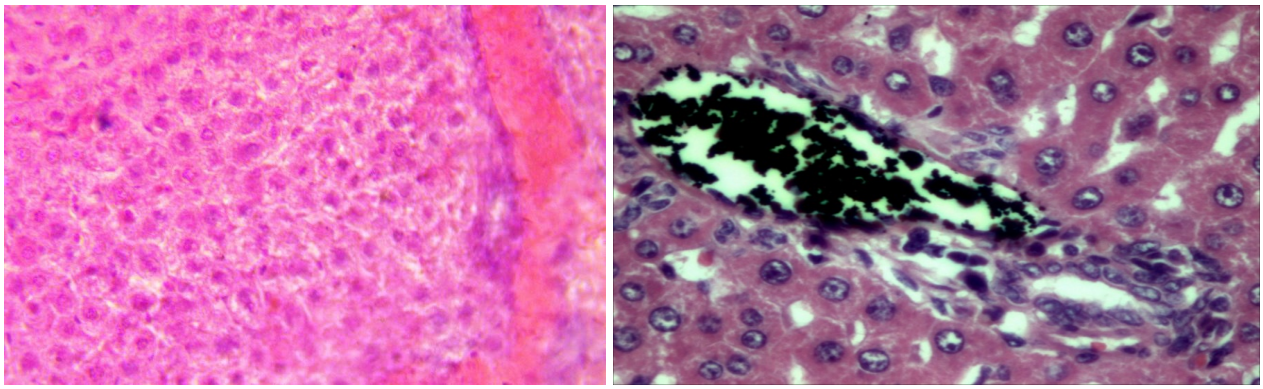


ღვიძლში შეინიშნებოდა ზომიერი სისხლსავსეობა, თუმცა პათოლოგიური გადახრები არ იქნა აღმოჩენილი (სურათი 10. A). ზოგიერთ პორტულ ტრიადაში პორტული ვენის ტოტსა (წილაკთაშორისი ვენა) და ღვიძლის სინუსოიდებში აღინიშნებოდა ვერცხლის ნანონაწილაკები რუხი/შავი გროვების სახით (სურათი 10, B). **კუჭსა და ნაწლავებში** ასევე პათოლოგიური ცვლილებები არ იქნა ნანახი (სურათი 11). **თირკმლის** მილაკებში

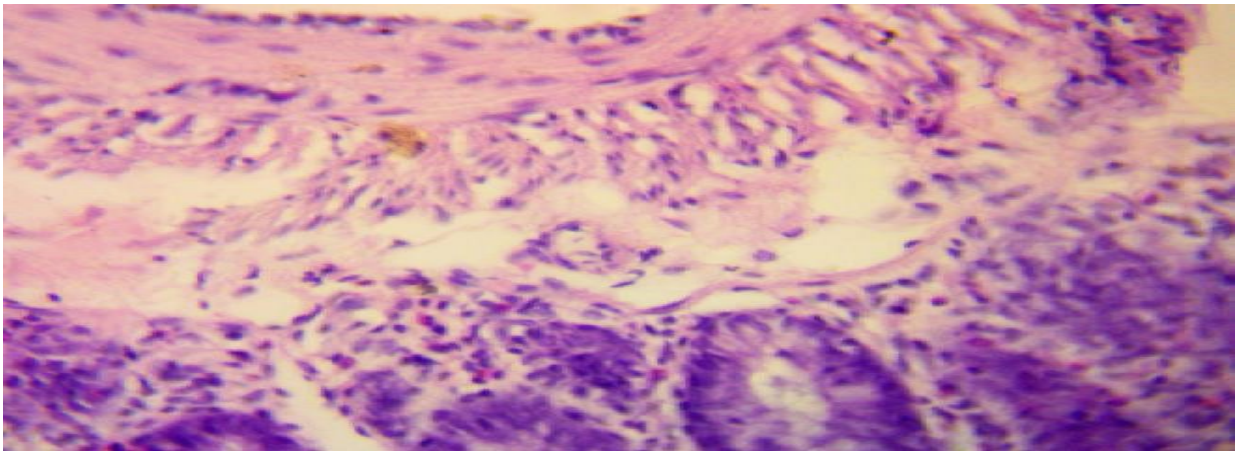
გამოვლინდა კეროვანი მინერალიზაცია, რომელიც ეოზინოფილიით იყო გამოხატული (სურათი 12. A); ასევე ფიქსირდებოდა მცირედ გაგანიერებული კაფსულის ღრუ და ბოუმანის კაფსულის (ვისცერული და პარიეტულ) ფურცლებს შორის მოქცეული ვერცხლის ნანონაწილაკები შავი ფერის გროვების სახით მომტან არტერიოლებსა და თვითონ ბოუმანის კაფსულის სისხლძარღვებში (სურათი 12. B). **ფილტვის** ალვეოლებში და ინტერსტიციაში დაფიქსირდა სისხლჩაქცევის კერები (სურათი 13).

სურათი 10. ღვიძლის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ

A B



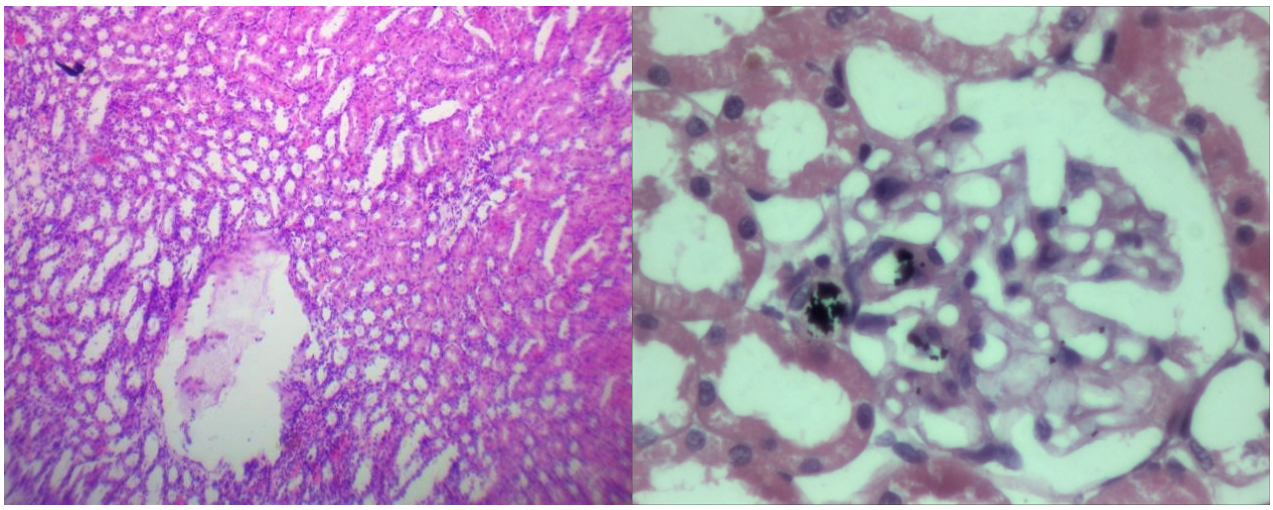
სურათი 11. წვრილი ნაწლავის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ (წვრილი ნაწლავი ნორმის ფარგლებში). ჰემატოქსილინ-ეოზინი. x 40



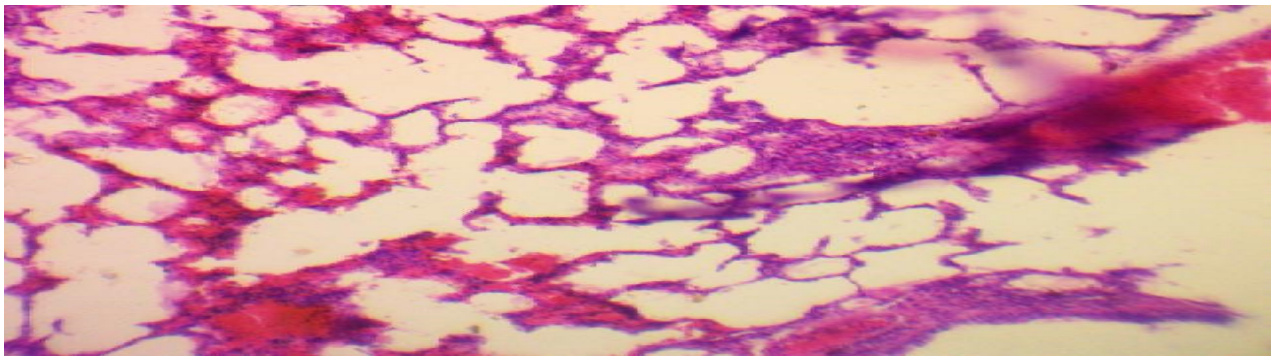
პანკრეასი - ვერცხლის ნანონაწილაკების 5 % სუსპენზიის 500მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდგომ პანკრეასის ჰისტოლოგიური გამოკვლევისას, ლანგერჰანსის კუნძულებში, არტერიოლებსა და კაპილარებში ჩანს საკვლევი სუსპენზია შავი გროვების სახით (სურათი 14).

ვინაიდან შინაგან ორგანოთა მხრივ უმნიშვნელო ჰისტომორფოლოგიური ცვლილებები გამოიწვია მხოლოდ AgNPs-ის ზემაღალი (5% 5000მგ/კგ) დოზით ერთჯერადმა გამოყენებამ, სისხლის ბიოქიმიური გამოკვლევის შედეგების გაანალიზებაც მოხდა ექსპერიმენტული ცხოველების ორ ჯგუფში, რომელთაც ერთჯერადად მიეცათ AgNPs-ის 5% სუსპენზია შესაბამისად 1000მგ/კგ და 5000მგ/კგ დოზებით. ამრიგად, პირველ ჯგუფში გავაერთიანეთ იმ ვირთაგვათა ბიოქიმიური კვლევის შედეგები, რომლებიც ერთჯერადად იღებდნენ ვერცხლის ნანონაწილაკების 5% სუსპენზიას დოზით 1000მგ/კგ;

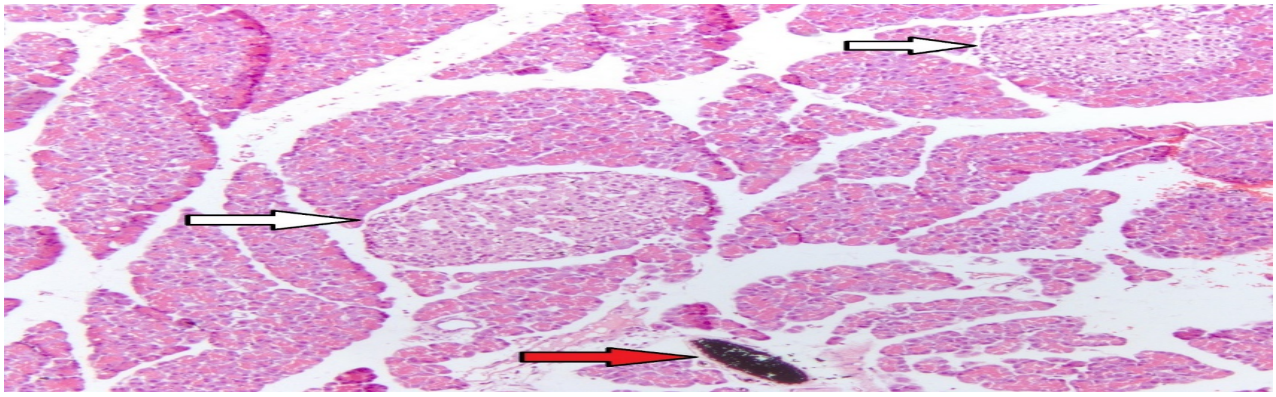
სურათი 12. თირკმელის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ თირკმლის სურათის ზედა ნაწილის მილაკებში აღინიშნება ეოზინოფილიით გამოხატული მინერალიზაცია. ჰემატოქსილინ-ეოზინx 20.



სურათი 13. ფილტვის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ (ფილტვი. ალვეოლებში და ინტერსტიციაში აღინიშნება სისხლჩაქცევის კერები). ჰემატოქსილინ-ეოზინი. x 20



სურათი 14. პანკრეასის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 5000მგ/კგ ერთჯერადი მიღების შემდეგ (ლანგერჰანსის კუნძულები-თეთრი ისარი, არტერიოლაში არსებული ვერცხლის ნანონაწილაკები- საკვლევი ხსნარი წითელი ისარი)



მეორე ჯგუფი კი მოიცავდა იმ ცხოველებს, რომელთაც ერთჯერადად მიღებული ჰქონდა 5 % სუსპენზია დოზით 5000მგ/კგ და განხორციელდა მათი შედარება საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლებთან.

სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრებიდან (ცხრილები 3, 4) AgNPs-ის 5 % -1000 მგ/კგ ერთჯერადი დოზის მიღებისას აღინიშნა AST-სა და HDL-ის, 5% -5000 მგ/კგ ერთჯერადად დოზის მიღების შემდეგ კი AST-სა და TG-ის, მაჩვენებლების სტატისტიკურად სარწმუნო მატება.

ცხრილი 3. სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრები (AST, ALT, GGT, CREA, BUN) AgNPs ერთჯერადი მიღებისას

ბიოქიმიური პარამეტრები	AST U/L	ALT U/L	GGT U/L	CREA mmol/l	BUN mmol/l
საკონტროლო ჯგუფი	222±42	86±13	4,3±0,6	30±4	4,5±1,7
AgNPs 5%-1000მგ/კგ	256±68*	73±1	3,1± 0,7	38±12	5,6±1,2
AgNPs 5%-5000მგ/კგ	317±69*	102± 29	3,8±1,4	37±12	6,7±1,6

შენიშვნა: *P<0.05 VS საკონტროლო ჯგუფი

ცხრილი 4. სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრები (CHOLF, TG, HDL, ALB, GLUK) AgNPs ერთჯერადი მიღებისას

ბიოქიმიური პარამეტრები	CHOLF mmol/l	TG mmol/ l	HDL mmol/l	ALB g/l	GLUK mg/ml
საკონტროლო ჯგუფი	1,4±0,1	2,6±0,6	0,7±0,2	41±5	104±8
AgNPs 5%-1000მგ/კგ	1,65±0,2	2,2±1	1.3±0,5*	42±5	105±2
AgNPs 5%-5000მგ/კგ	1,38±0,1	3,7±0,1*	0,8±0,2	38±4	111±12

შენიშვნა: *P<0.05 VS საკონტროლო ჯგუფი

ამრიგად, ჩვენს მიერ ჩატარებულ კვლევებზე დაყრდნობით შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ერთჯერადად გამოყენებული კონცენტრაციის ვერცხლის სუსპენზიებს, არ გააჩნიათ

ლეტალური დოზა - LD50 ვერ დადგინდა; ასევე კვლევის პროცესში არ შეცვლილა საკვლევი ცხოველების წონა (ცხრილი 5).

ცხრილი 5. ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის უსაფრთხოების შესწავლა მისი ერთჯერადი მიღებისას, საკონტროლო და საცდელი ჯგუფის ვირთაგვების წონა.

ვირთაგვის წონა გრ	საკონტროლო ჯგუფი	AgNPs 2,5% 1000მგ/კგ	AgNPs 2,5% 5000მგ/კგ	AgNPs 5% 1000მგ/კგ	AgNPs 5% 5000მგ/კგ
მდედრი	250	250	240	240	240
მდედრი	260	250	240	250	240
მამრი	300	300	300	290	280
მამრი	270	270	260	260	250
მამრი	300	300	290	300	280

საკვლევი სუსპენზიების AgNPs 2,5% 1000მგ/კგ და 5000მგ/კგ, ასევე AgNPs 5%-ის 1000მგ/კგ დოზით ერთჯერადი გამოყენებისას რაიმე ტიპის ჰისტომორფოლოგიური ცვლილებები არ აღინიშნა; მხოლოდ ვერცხლის ნანონაწილაკების 5%-იანი სუსპენზიის ზემაღალი (5000მგ/კგ) დოზით ერთჯერადი გამოყენებისას დაფიქსირდა კი გარკვეული უმნიშვნელო ხასიათის ცვლილებები ფილტვისა და თირკმლის ქსოვილოვან სტრუქტურაში. ბიოქიმიური პარამეტრებიდან კი AgNPs-5% სუსპენზიის როგორც 1000მგ/კგ, ისე 5000მგ/კგ დოზებით გამოყენებისას აღინიშნა სისხლში ასპარტატ ამინოტრასფერაზის აქტივობის სარწმუნო მატება. ამასთან, დამატებით დაფიქსირდა 1000მგ/კგ დოზის ერთჯერადად მიღებისას მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების, 5000მგ/კგ დოზის ერთჯერადად მიღებისას კი ტრიგლიცერიდების სტატისტიკურად სარწმუნო მატება საკონტროლო ჯგუფის შედეგებთან შედარებით.

2.4.3. ვერცხლის ნანონაწილაკების მრავალჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შეფასება ექსპერიმენტულ ცხოველებში

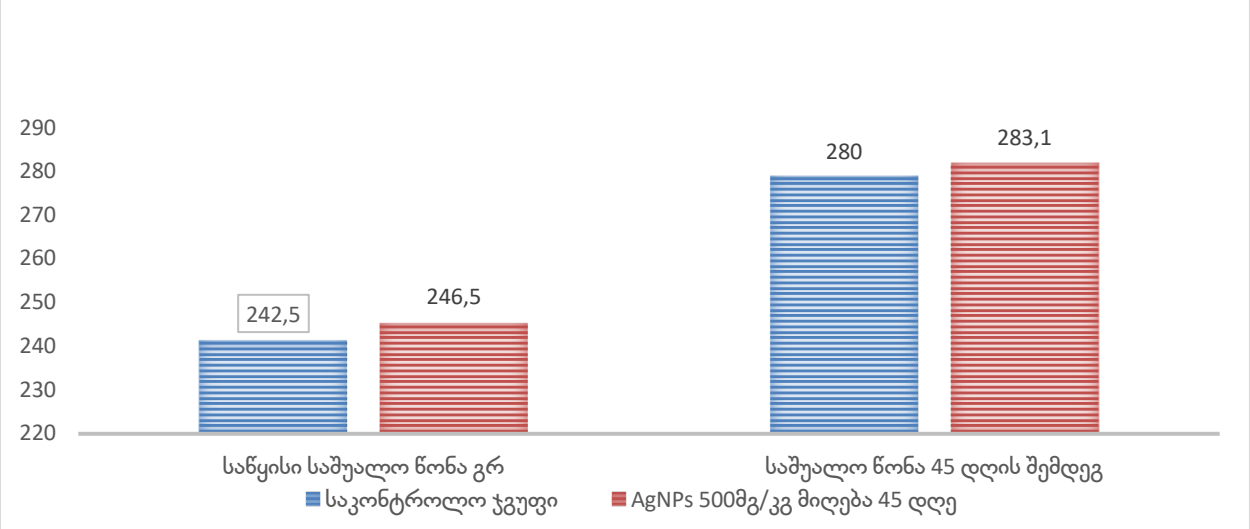
ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის მრავალჯერადი პერორალური გამოყენების უსაფრთხოების შესწავლა განხორციელდა OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS 408 [174] გაიდლაინის შესაბამისად, 20 ლაბორატორიულ ვირთაგვაზე, რომელთაც მრავალჯერადად ეძლეოდათ პრეპარატები: საკვლევი ჯგუფის (10 ვირთაგვა) ცხოველებს 5% AgNPs 500 მგ/კგ-ის (5000მგ/კგ-ის მეათედი დოზა) ოდენობით, საკონტროლო ჯგუფის (10 ვირთაგვა) ცხოველებს კი NaCl-ის 10% ხსნარი. დაკვირვება მიმდინარეობდა 90 დღის განმავლობაში. ექსპერიმენტის განხორციელების 45-ე დღეს განხორციელდა საცდელი ვირთაგვების ნახევარის ევთანაზია. გაიდლაინის რეკომენდაციების შესაბამისად, ჩვენს მიერ შეფასდა საკვლევი ცხოველების ზოგადი მდგომარეობა, სიკვდილიანობის მაჩვენებელი, ბიოქიმიური პარამეტრები, ორგანოთა ბიოფსიური მასალის მაკრო- და მიკრომორფოლოგიური ცვლილებები. კვლევის მთელი პერიოდის მანძილზე არც ერთ ვირთაგვასთან არ დაფიქსირებულა ცვლილებები ბეწვის, კანის, ლორწოვანი გარსის, თვალების მხრივ; კარდიო-ვასკულური, რესპირაციული, ავტონომიური და ცენტრალური ნერვული სისტემების, სომატომოტორული და ქცევითი კუთხით; არ დაფიქსირებულა ვირთაგვის ლეტალობის არც ერთი შემთხვევა; AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ დოზით მრავალჯერადი გამოყენებისას დაკვირვების 45-ე დღეზე აღინიშნა საწყისი წონის მნიშვნელოვანი, იდენტური მატება ცხოველების როგორც ექსპერიმენტულ, ისე საკონტროლო ჯგუფში; მომდევნო 45 (ექსპერიმენტული კვლევის დაწყებიდან 90) დღის შემდეგ კი საკონტროლო ჯგუფში სხეულის მასის შემდგომი ზრდა არ დაფიქსირდა, მაშინ როდესაც საკვლევ ჯგუფში კვლავ აღინიშნებოდა ვირთაგვების წონის მატების ტენდენცია. 6 ცხრილსა და 12,13 გრაფიკებში მოცემულია საკონტროლო და საკვლევი ვირთაგვების საშუალო წონა დინამიკაში (ექსპერიმენტის დაწყებამდე, ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის მრავალჯერადი პერორალური მიღების 45-ე და 90-ე დღეს). AgNPs 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღებისას სისხლის ბიოქიმიური მაჩვენებლების (ცხრილები 7, 8) შესწავლით ექსპერიმენტის 45-ე დღეზე აღინიშნა ამინოტრანსფერაზებისა (AST, ALT)

სარწმუნო კლება, ასევე მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (HDL) სარწმუნო მატება საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით; AgNPs 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მიღებიდან 90-ე დღეს კი დაფიქსირდა GGT-ს სარწმუნი კლება, ალბუმინისა და ტრიგლიცერიდების AgNPs-ის 5% 500მგ/მლ მრავალჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების კვლევის ფარგლებში ვირთაგვების დეკაპიტაციის შემდეგ სხვადასხვა ორგანოებიდან.

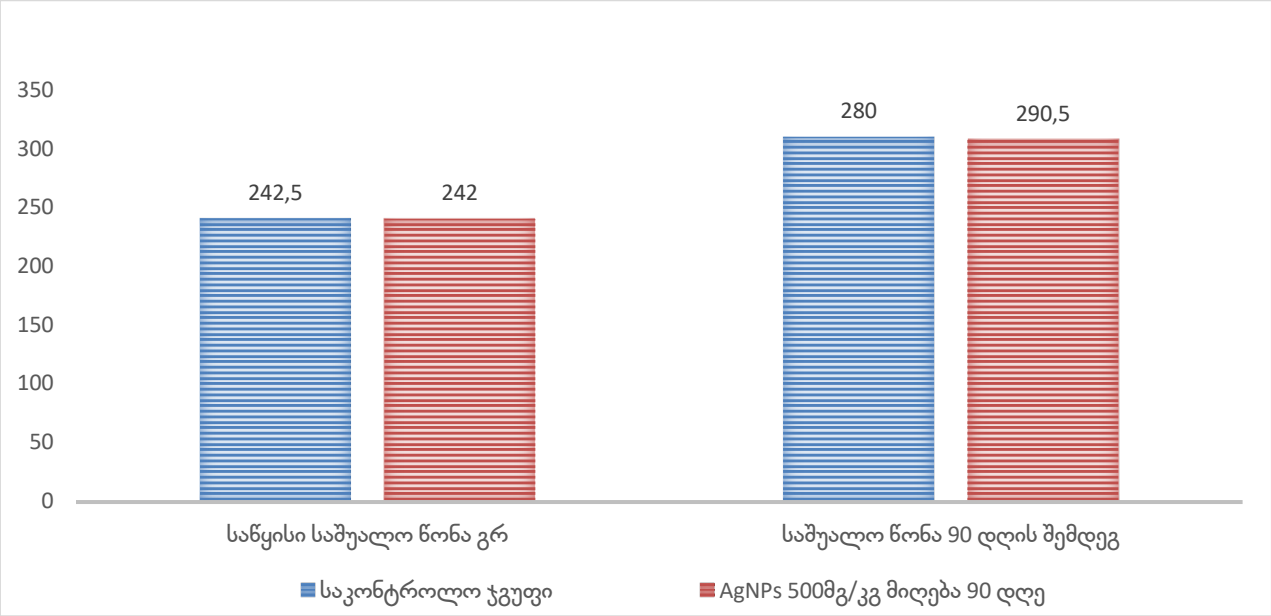
ცხრილი 6. ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის უსაფრთხოების შესწავლა AgNPs 5% ხსნარის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღებისას. საკვლევი და საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვების საწყისი წონა გრამებში

სქესი	მდედრი				მამრი					
საკონტროლო ჯგუფი	250	260	260	250	300	300	270	300	300	270
საკვლევი ჯგუფი	240	250	250	240	260	290	300	260	290	300

გრაფიკი 12. საკონტროლო და საკვლევი ჯგუფის ვირთაგვების საშუალო წონა(გრ) ექსპერიმენტის დასაწყისში და ექსპერიმენტის დაწყებიდან 45 დღის შემდეგ



გრაფიკი 13. საკონტროლო და საკვლევი ჯგუფის ვირთაგვების საშუალო წონა(გრ) ექსპერიმენტის დასაწყისში და ექსპერიმენტის დაწყებიდან 90 დღის შემდეგ



ცხრილი 7. სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრები (AST,ALT, GGT,CREA,BUN) AgNPs 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღებისას

ბიოქიმიური პარამეტრები	AST U/L	ALT U/L	GGT U/L	CREA mmol/l	BUN mmol/l
საკონტროლო ჯგუფი	224,5± 41	85± 13	4,2±0,6	31±4	4,5±1,7
AgNPs 5%-500მგ/კგ -45 დღე	215±28*	67±6*	4,0±0,3**	32±6	6,0±1,8
AgNPs 5%-500მგ/კგ -90დღე	219±99	87± 11	3.0±0,9*	34.5±5	4,6±1,6

შენიშვნა: საშუალო მაჩვენებელი ±SD (n=10); *P<0.05 VS საკონტროლო ჯგუფი

ცხრილი 8. სისხლის ბიოქიმიური პარამეტრები (CHOLF,TG, HDL, ALB, GLUK) AgNPs 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღებისას

ბიოქიმიური პარამეტრები	CHOLF mmol/l	TG mmol/l	HDL mmol/l	ALB g/l	GLUK mg/ml
საკონტროლო ჯგუფი	1,5±0,1	2,4±0,6	0,9±0,2	42±5	104±8
AgNPs 5%-500მგ/კგ -45 დღე	1,5±0,3	2,2±0,4	1.3± 0,2*	44±3	105±10
AgNPs 5%-500მგ/კგ -90დღე	1.4± 0,04	5.3± 0,2*	1,04± 0,2	46± 2*	98±12

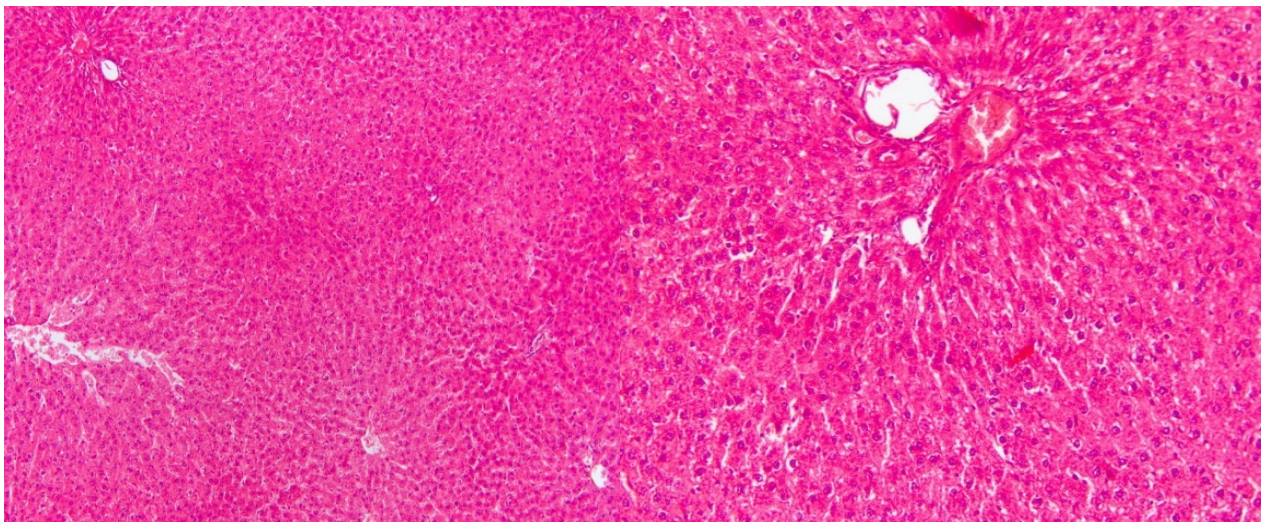
შენიშვნა: საშუალო მაჩვენებელი ±SD (n=10); *P<0.05 VS საკონტროლო ჯგუფი

ჰისტომორფოლოგიური შესწავლის მიზნით აღებულ ორგანოთა ქსოვილების ჰისტოლოგიურ ანათლებში, ძირითადად სისხლძარღვებსა და პერივასკულურ შემაერთებელ ქსოვილში დაფიქსირდა ვერცხლის ნანონაწილაკები შავი ფერის მცირე ზომის სფერული ნაწილაკების გროვების სახით. ვერცხლის ნანონაწილაკები შავი ფერის გროვების სახით შეინიშნება პარენქიმულ ორგანოებში (ღვიძლი, თირკმელი, პანკრეასი), ასევე ორგანოთა პარენქიმაში. AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი (90 დღე) მიღების შემდეგ **ღვიძლის** ჰისტოლოგიური ანათლების გამოკვლევისას არ ისახება ცხიმოვანი დისტროფია, არ აღინიშნება ფიბროზი, ან ვაკუოლიზაცია, სურათში კარგად ჩანს ღვიძლის კლასიკური წილაკები (სურათი 15 A) და პორტული ტრიადა, ღვიძლის სინუსოიდები (სურათი 15 B). **თირკმელის** მორფოლოგიური კვლევისას ჰისტო-მორფოლოგიურ პრეპარატში ნეფრონში კარგად განირჩევა თირკმლის სხეულაკი (მომტანი და გამომტანი არტერიოლები, ბოუმანის კაფსულა) და მილაკოვანი სისტემა; მაგრამ ნეფრონის სტრუქტურებში (მომტანი არტერიები,ბოუმანის კაფსულა) ვერცხლის ნანონაწილაკები შავი ფერის გროვების სახით არ ფიქსირდება (სურათი 16). ვერცხლის ნანონაწილაკების 5% სუსპენზიის უსაფრთხოების დადგენისას, მისი მრავალჯერადი

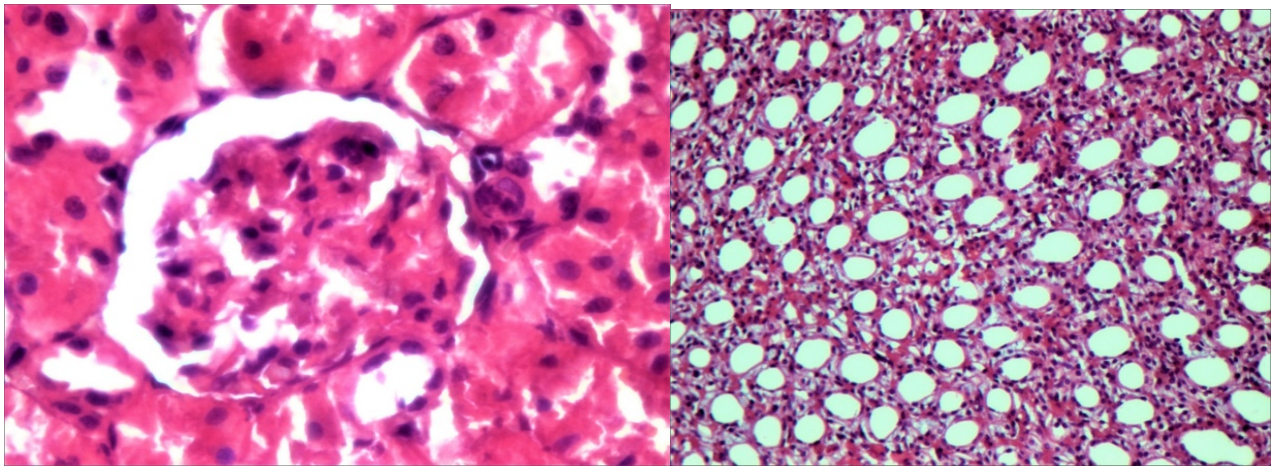
მიღების შემდგომ **გულის კუნთის, ფილტვების, პანკრეასის, კუჭისა და ნაწლავების** ჰისტოლოგიური გამოკვლევისას მნიშვნელოვანი ცვლილებები არ დაფიქსირებულა.

სურათი 15. ღვიძლის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღების შემდეგ

A B



სურათი 16. თირკმლის ჰისტო-მორფოლოგიური სურათი AgNPs-is 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღების შემდეგ



2.4.4. კვლევის შედეგების განხილვა

ტუბერკულოზი კვლავ რჩება საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან პრობლემად. ნანოტექნოლოგია და ნანონაწილაკების სფეროში ჩატარებული კვლევები

სერიოზულ საფუძველს ქმნიან ტუბერკულოზის მართვის თანამედროვე მიდგომების გასაუმჯობესებლად. სწორედ ამ კონცეფციის ყველაზე აქტუალური და დღემდე შეუსწავლელი მიმართულება- ვერცხლის ნანონაწილაკების გამოყენების შესაძლებლობა რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის შტამებში ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო პრიორიტეტული მედიკამენტის -რიფამპიცინის ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღსადგენად -წარმოადგენდა ჩვენი კვლევის ძირითად საგანს. კვლევა ატარებდა ექსპერიმენტულ ხასიათს. მდგრადობის ინჰიბიტორის რანგში რიფამპიცინის ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღდგენის შესაძლებლობის შესაფასებლად, ჩვენს მიერ პირველად შესწავლილ იქნა კლინიკურ პირობებში ფილტვების ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისაგან მიღებულ RR-MTB იზოლატებზე სფერული ფორმის 20ნმ ზომის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების მოქმედების ეფექტურობა და უსაფრთხოება და მათი გამოყენების შესაძლებლობა რიფამპიცინის მიმართ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის მდგრადობის დასაძლევად.

კვლევის პირველ ეტაპზე 20 ნმ ზომის სფერული ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის ექვსი კონცენტრაციის (0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5% და 10%) გამოყენების ეფექტურობის in vitro შესწავლამ ფილტვების ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისაგან კლინიკურ პირობებში მიღებულ RR-MTB კულტურებზე გვიჩვენა, რომ AgNPs -ის 0,25%, 0,5% და 1% სუსპენზიებს არ გააჩნიათ მაინჰიბირებელი ეფექტი *M.tuberculosis* რიფამპიცინზე რეზისტენტულ იზოლატებზე. მინიმალური მაინჰიბირებელი ეფექტი დაფიქსირდა AgNPs-ის 2,5% ხსნარის დამატებისას, როდესაც შემთხვევათა 70%-ში აღინიშნა საკვლევი RR-MTB შტამების ზრდის დათრგუნვა; ვერცხლის ნანონაწილაკების 5% და 10% სუსპენზიის დამატებისას კი დაფიქსირდა RR-MTB შტამების ზრდის სრული (100%) ინჰიბირება. ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ RR-MTB შტამების მიმართ 20 ნმ ზომის სფერული ვერცხლის ნანონაწილაკების 2,5% სუსპენზიას გააჩნია მინიმალური მაინჰიბირებელი ეფექტი, ხოლო 5% სუსპენზიას კი - მინიმალური ბაქტერიციდული ეფექტი. ჩვენი კვლევა მიეკუთვნება იმ რამდენიმე კვლევათა ჩამონათვალს, რომელიც აფასებს AgNPs-ის სუსპენზიის ეფექტურობას რეზისტენტული პათოგენების შტამებზე. ფარუქისა და თანაავტორების [136] მიერ დადასტურებულ იქნა

AgNPs -ის ინჰიბიტორული და აღმოფხვრის პოტენციალი მეთიცილინ-რეზისტენტული Staphylococcus aureus-ისა და Klebsiella pneumoniae-ის მიმართ. ა.ზახაროვის. ა.ხოხლოვისა და ა.ერგეშოვის მიერ [166] იზონიაზიდზე რეზისტენტულ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიებზე ვერცხლის ნანონაწილაკების მოქმედების შესწავლისას აღმოჩნდა იზონიაზიდზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიების ზრდის სრული და ნაწილობრივი დათრგუნვა შემთხვევათა 49,2%. ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგები კორელაციაშია მედიკამენტების მიმართ სხვადასხვა ინფექციების გამომწვევ რეზისტენტულ პათოგენებზე AgNPs-ის ინჰიბიტორულ ეფექტურობასთან დაკავშირებით. ა.პანდასა და თანაავტორების მიერ [157] შესწავლილ იქნა ქიმიური მეთოდით მიღებული ოთხკუთხა ფორმის, 45±3ნმ ზომის ვერცხლის ნანონაწილაკების ზემოქმედება ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის 2 ეტალონურ შტამზე: *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* და *Mycobacterium bovis*. მიკობაქტერიების კულტივირებისათვის გამოყენებულ იყო Lowenstein-Jensen-სა და Middlebrook ნიადაგები. მათ მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ქიმიურად სინთეზირებული AgNPs ეფექტურად თრგუნავს ტუბერკულოზის მიკობაქტერიების ზრდას. მინიმალური ინჰიბიტორული კონცენტრაცია შეადგენდა 2-დან 14 მკგ/მლ-მდე და 3 -დან 30 მკგ/მლ-მდე შესაბამისად *Mycobacterium tuberculosis H37Rv* და *Mycobacterium bovis* ეტალონური შტამებისათვის. იდენტური შედეგები იქნა მიღებული ა.სელიმისა და თანაავტორების მიერ [151]. 50 ნმ რამოდენიმე სფერული ჩანართის მქონე ოთხკუთხა ფორმის AgNPs-ის მინიმალური ინჰიბიტორული ეფექტის კვლევისას *Mycobacterium bovis* და *Mycobacterium tuberculosis H37R* ეტალონურ შტამებზე, ასევე MDR-TB-ის ერთ იზოლატსა და *M. bovis*-სა და *M. tuberculosis* კლინიკურ იზოლატებზე. *M. tuberculosis* და *M. bovis* ორივე ეტალონური შტამის, ასევე MDR-TB-ის იზოლატის ზრდის დათრგუნვა მოხდა შესაბამისად AgNPs 1 მკგ/მლ, 4 მკგ/მლ და 16მკგ/მლ დოზირებებით; *M. bovis*-სა და *M. tuberculosis* კლინიკურ იზოლატების ინჰიბირებისათვის კი საჭირო გახდა AgNPs-ის უფრო მაღალი დოზირებით (შესაბამისად 4-32მკგ/მლ და 1-16მკგ/მლ) გამოყენება. სამეცნიერო პუბლიკაციები, რომლებიც ეძღვნება ტუბერკულოზის მიკობაქტერიაზე ვერცხლის ნანონაწილაკების მოქმედების შესწავლას მწირია, მაგრამ ადასტურებს AgNPs-ის ქიმიოთერაპიულ ეფექტურობას, რომლის ხარისხი კავშირშია

ვერცხლის ნანონაწილაკების სინთეზის („მწვანე“-ბიოლოგიური ბიოლოგიური ორგანიზმების გამოყენებით; ქიმიური, ფიზიკური) მეთოდთან, ზომასთან, ფორმასთან (ზედაპირის ფართობთან) და წყალხსნარებში ვერცხლის იონების გამოყოფასთან [175].

გარემოში არსებულ ვერცხლის იონებს შეუძლიათ ურთიერთქმედება უარყოფითად დამუხტულ ბაქტერიულ უჯრედთან, რასაც თან სდევს უჯრედის მემბრანაში ფორების გაჩენა. ფორების წარმოქმნა კი თავის მხრივ ხელს უწყობს ცილების და ნუკლეინის მჟავების დაკარგვას, გავლენას ახდენს ძირითად მეტაბოლურ ფუნქციებზე, რაც იწვევს უჯრედების სიკვდილს. უჯრედის მემბრანის დაზიანების ხარისხი კორელაციაშია ვერცხლის ნანონაწილაკების დოზასთან [142]. ვერცხლის ნანონაწილაკების ანტიმიკრობული ეფექტი ვლინდება სხვადასხვა უჯრედულ კომპარტმენტში (მემბრანით შემოსაზღვრული სუბუჯრედული წარმონაქმნები-ორგანელები) და საფუძვლად რამოდენიმე მექანიზმი [176,177,178] უდევს:

1.ფიზიკური ურთიერთქმედება უჯრედის მემბრანაზე, ორმაგი ლიპიდური შრის დაშლა და /ან კათიონური იონების გამოთავისუფლება;

2. ბაქტერიულ დნმ-ში სტრუქტურული ცვლილებების განვითარება კათიონური ვერცხლის ზემოქმედებით;

3. ურთიერთქმედება ციტოპლაზმურ სტრუქტურებთან, მათ შორის რიბოსომული ცილის სინთეზის აპარატთან, რაც იწვევს ტრანსკრიპციის დაბლოკვას ცილის სინთეზის შემცირებით;

4. რეაქტიული ჟანგბადის სახეობების (ROS) ფორმირება, რაც იწვევს ბაქტერიციდულ ეფექტს ოქსიდაციური სტრესის საფუძველზე.

ნანონაწილაკების ტოქსიურობა შეიძლება მის მაკროფორმაზე უფრო ძლიერი იყოს, რაც გამოწვეულია ნანონაწილაკების ფიზიკო-ქიმიური თვისებების გაზრდით, რომელიც მათ ბიოლოგიური ბარიერების გადალახვის საშუალებასა და უჯრედულ სტრუქტურებთან ურთიერთქმედების საშუალებას აძლევს[179].გამოსაკვლევი აგენტის (AgNPs) ქიმიოთერაპიული მიზნით გამოყენების ერთ-ერთ ძირითად პირობას მისი უსაფრთხო გამოყენების პარამეტრების განსაზღვრა წარმოადგენს. აღნიშნული პოსტულატი გახდა იმის საფუძველი, რომ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიაზე R/AgNPs- კომპოზიტის in vitro

ზემოქმედების შესწავლის გარდა, დაგვედგინა სფერული ფორმის 20ნმ AgNPs-ის in vivo უსაფრთხოების პროფილი. გამოკვლეულ იქნა AgNPs-ის მაღალი და ზემაღალი კონცენტრაციების (2,5%; 5,0%) სუსპენზიის ტოქსიურობა, ვინაიდან in vitro ჩატარებულმა ბაქტერიულმა კვლევამ აჩვენა AgNPs-ის 0,25% 0,5%, 1% კონცენტრაციების არაეფექტურობა რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიების იზოლატების მიმართ.

ექსპერიმენტის შედეგად დადგინდა, რომ სფერული ფორმის მეტალური ვერცხლის 20ნმ ნანონაწილაკების როგორც ერთჯერადი გამოყენებისას მაღალი და ზემაღალი დოზებით (AgNPs 2,5%-1000მგ/კგ; AgNPs 2,5%-5000მგ/კგ; AgNPs 5%-1000მგ/კგ; AgNPs 5%-5000მგ/კგ), ასევე მრავალჯერადი გამოყენებისას (AgNPs 5% - 500მგ/კგ) არ დაფიქსირებულა ვირთაგვის ლეტალობის არცერთი შემთხვევა; ამრიგად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ 20ნმ ზომის ვერცხლის ნანონაწილაკების 2,5% სუსპენზიის 1000მგ/კგ და 5000მგ/კგ დოზებით ერთჯერადი ზემოქმედება, ასევე მრავალჯერადად AgNPs 5% 500მგ/კგ გამოყენება სრულიად უსაფრთხოა ლეტალობის თვალსაზრისით, ე.ი. LD50 ვერ დადგინდა. ასევე 20ნმ სფერული ნანონაწილაკების როგორც ერთჯერადად მაღალი და ზემაღალი დოზების, ასევე მრავალჯერადი გამოყენებისას ექსპერიმენტულ ცხოველებში (ვირთაგვები) არ დაფიქსირებულა ცვლილებები სხვადასხვა ორგანოებისა სისტემების (კანი, ბეწვი, თვალები, ლორწოვანი გარსი, სასუნთქი, გულ-სისხლძარღვთა, აუტონომიური და ცენტრალური ნერვული) მხრივ, არ გამოვლენილა სომატომოტორული და ქცევითი დარღვევები. AgNPs-ის ზემოქმედება პრაქტიკულად ნეგატიურად არ ასახულა ექსპერიმენტული ცხოველების წონაზე. საკვლევი ვირთაგვების ოთხივე ჯგუფში შესაბამისად AgNPs 2,5%-1000მგ/კგ, AgNPs 2,5%-5000მგ/კგ, AgNPs 5%-1000მგ/კგ, AgNPs 5%-5000მგ/კგ ზემოქმედებისას 7 დღის განმავლობაში დაკვირვების მანძილზე საწყისი წონის ცვლილება არ დაფიქსირებულა. AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ დოზით მრავალჯერადი გამოყენებისას კი დაკვირვების 45-ე დღეზე აღინიშნა საწყისი წონის მნიშვნელოვანი, იდენტური მატება ცხოველების როგორც ექსპერიმენტულ, ისე საკონტროლო ჯგუფში. AgNPs-ის მრავალჯერადი გამოყენებისას ექსპერიმენტის დაწყებიდან 90-ე დღეზე საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვების წონა დარჩა

45 დღის ნიშნულზე (საშუალოდ 280გრამი), მაშინ როდესაც ექსპერიმენტულ ჯგუფში აღინიშნა წონის მატების ტენდენცია (29.5გრამი vs 283.1გრამი).

ჩვენს მიერ პირველად იქნა შესწავლილი 20ნმ ზომის სფერული ფორმის ვერცხლის ნანონაწილაკების ზეგავლენა სისხლის ბიოქიმიურ მაჩვენებლებზე. ბიოქიმიური მაჩვენებლებიდან გამოკვლეულ იქნა ასპარტატ ამინოტრასფერაზას (AST), ალანინ ამინოტრანსამინაზას (ALT), გამა გლუტამილ ტრანსფერაზას (GGT), კრეატინინის (CREA), შარდოვანას (BUN), საერთო ქოლესტერინის (CHLOF), ტრიგლიცერიდების (TG), მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (HDL), ალბუმინისა(ALB) და გლუკოზის (GLUK) დონის ცვლილებები AgNPs-ის 5% სუსპენზიის -1000მგ/კგ და 5000მგ/კგ (ზემაღალი) დოზების ერთჯერადი , აგრეთვე AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღების დროს.

ღვიძლის ფუნქციონალური მაჩვენებლებიდან საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები შესაბამის პარამეტრებთან შედარებით AgNPs-ის 5% სუსპენზიის ორივე დოზის (1000მგ/კგ, 5000მგ/კგ) ერთჯერადი შეყვანისას დაფიქსირდა AST-ს სარწმუნო მატება ვირთაგვების ორივე ექსპერიმენტულ ჯგუფში; ALT-ს მატების ტენდენცია AgNPs-ის 5% სუსპენზიის გამოყენებისას; GGT -ს მაჩვენებელი კი იდენტური იყო ორივე ექსპერიმენტულ და საკონტროლო ჯგუფებში. ცნობილია, რომ ამინოტრანსფერაზები (ALT , AST) წარმოადგენენ ერთგვარ მარკერებს რომელთა რაოდენობის ზრდა ასოცირდება ჰეპატოციტების დაზიანებასთან [180,181,182]; თუმცა AST ჰეპატოციტების გარდა, გვხვდება თავის ტვინში, თირკმელებში, გულისა და ჩონჩხის კუნთებში, ფილტვებში, ლეიკოციტებსა და ერითროციტებში. ზემოთ აღნიშნულის გათვალისწინებით, ასპარტატ ამინოტრასფერაზას მატება მხოლოდ ღვიძლის უჯრედების დაზიანებისათვის არ არის სპეციფიური. ჰეპატოციტებში ALT ლოკალიზდება უპირატესად ციტოპლაზმაში, AST კი ძირითადად მიტოქონდრიის (80%) მატრიქსში და შედარებით მცირე რაოდენობით ციტოპლაზმაში (20%)[183,184]. ALT და GGT (GGT-ს მომატება ასოცირდება უპირატესად ნაღვლის შეგუბებასთან და ჰეპატოციტების დაზიანებასთან, ვინაიდან იგი ლოკალიზდება ჰეპატოციტებსა და სანაღვლე გზების ეპითელურ უჯრედებში) ნორმალური მაჩვენებლების ფონზე ასპარტატ ამინოტრანსფერაზის სარწმუნოდ მატების მექანიზმი ვერცხლის

ნანონაწილაკების მაღალი და ზემაღალი დოზების ერთჯერადი გამოყენებისას უნდა აიხსნას AgNPs-ის ზემოქმედებით მიტოქონდრიებში განვითარებული ცვლილებებითა და შედეგად ოქსიდაციური სტრესის განვითარებით [185,186,187,188,189,190,191]. AgNPs-ის 5% სუსპენზიის მრავალჯერადი მიღებისას 500მგ/კგ დოზით AST-ს ფუნქციონალური აქტივობა ნორმალიზებულია როგორც 45, ისე 90 დღის შემდეგ. დაკვირვების ანალოგიურ პერიოდში არ აღინიშნებოდა ღვიძლის სხვა შესწავლილი (ALT, GGT) პარამეტრების ცვლილება და ისინი საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების იდენტური იყო. AgNPs-ის 5% 5000მგ/კგ ერთჯერადი ზემოქმედებისას ღვიძლში შეინიშნებოდა მხოლოდ ზომიერი სისხლსავსეობა, თუმცა პათოლოგიური გადახრები არ იქნა აღმოჩენილი (სურათი 4. A). პათოლოგიური ცვლილებები არ დაფიქსირდა AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ დოზით 90-დღიანი მიღების შემდეგ ექსპერიმენტული ცხოველების ღვიძლის ნიმუშების ჰისტოლოგიური კვლევით. ამრიგად, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ AgNPs-ის 5% სუსპენზია არ არის ჰეპატოტოქსიური, არ იწვევს ნაღვლის შეგუბებას, ფიბროზს, ვაკუოლიზაციას.

ჩვენს მიერ ჩატარებული (ჰისტომორფოლოგიური, ბიოქიმიური-კრეატინინი, შარდოვანა) კვლევებით ვერცხლის ნანონაწილაკების 5% სუსპენზიის ზემაღალი დოზის ერთჯერადი, ასევე მაღალი დოზებით მრავალჯერადი გამოყენებისას, საკვლევ ცხოველებთან საშარდე სისტემის მხრივ პათოლოგიური ცვლილებები არ იქნა გამოვლენილი, ე.ი 20ნმ ზომის AgNPs-ს სუსპენზიას ნეფროტოქსიური ეფექტი არ გააჩნია.

ლიპიდები წარმოადგენენ უჯრედის მემბრანის ძირითად კომპონენტებს. ისინი არა მხოლოდ სტრუქტურულ მხარდაჭერას უწევენ უჯრედებს, არამედ უშუალოდ მონაწილეობენ უჯრედულ მეტაბოლურ პროცესებში. ლიპიდები მიეკუთვნებიან ბიომოლეკულების განსაკუთრებულ კლასს, რომელიც მნიშვნელოვან როლს თამაშობს ბიომემბრანების ფორმირებაში, ენერგიის შენახვასა და უჯრუდების მიერ სიგნალის გადაცემაში (ე.წ. უჯრედული სიგნალიზაცია)[192]. უჯრედებისა და ეგზოგენური სტიმულების ურთიერთქმედებამ შეიძლება გამოიწვიოს ცვლილებები უჯრედის ლიპიდური ცვლაში. ლიტერატურული მონაცემებით დადგენილია, რომ ოქსიდაციური სტრესი მნიშვნელოვან როლს თამაშობს AgNPs ციტოტოქსიურობაში, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ისეთი უჯრედშიდა კომპონენტების ცვლილებები, როგორიცაა დნმ, ცილები და ლიპიდები[193].

ვერცხლის ნანონაწილაკების 5% სუსპენზიის ერთჯერადად 5000მგ/კგ და 500მგ/კგ დოზით 90 დღის განმავლობაში მრავალჯერადი მიღებისას აღინიშნება ტრიგლიცერიდების მატება; ასევე მოიმატა მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების (HDL) დონემ AgNPs-ის 5% სუსპენზიის 1000მგ/კგ დოზით გამოყენებისას, თუმცა ვერცხლის ნანონაწილაკების ერთჯერადად ზემაღალი დოზით (5000მგ/კგ) გამოყენებისას იგივე ეფექტი არ დადასტურდა. აღსანიშნავია, AgNPs-ის 5%-500მგ/კგ დოზით მრავალჯერადი გამოყენებისას 45-ე დღეზე კვლავ აღინიშნებოდა HDL-ის სარწმუნო მატება საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებელთან შედარებით, მაგრამ აღნიშნული დოზის უფრო ხანგრძლივად გამოყენებისას (90 დღე) მაღალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების მაჩვენებლის ნორმალიზაცია მოხდა. ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ 5% ვერცხლის ნანონაწილაკების ზემოქმედება იწვევს ლიპიდური სპექტრის რეგულირებას, თუმცა აუცილებელია მიღებული დოზის კონტროლი დისლიპიდემიის განვითარების თავიდან ასაცილებლად. ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები სრულ კორელაციაშია ჰუასა და თანაავტორების [194] მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტული კვლევის შედეგებთან. AgNPs 5% სუსპენზიის 500მგ/კგ მრავალჯერადი მიღებისას ექსპერიმენტის ჩატარების 90-ე დღეს აღინიშნა სისხლის პლაზმაში ალბუმინის შემცველობის მატება და შესაბამისად უჯრედების ანტიოქსიდანტური დაცვის გაძლიერება, რაც სრულად თანხვედრაშია ლიტერატურულ მონაცემებთან [195,196,197].

ამრიგად, ვერცხლის ნანონაწილაკების ერთჯერადი და მრავალჯერადი გამოყენების უსაფრთხოების შესწავლამ გვიჩვენა, რომ 20ნმ ზომის 5% AgNPs-ის სუსპენზია საკვლევი დოზირებებით არ მოქმედებენ ცხოველების ბიომეტრულ, ლაბორატორიულ და ფუნქციონალურ პარამეტრებზე. ცხოველების სამიზნე ორგანოების ჰისტოლოგიური კვლევისას ვერცხლის 5% ნანონაწილაკების როგორც ერთჯერადი, ასევე მრავალჯერადი მიღების შემდეგ აგრეთვე არ გამოვლინდა სტრუქტურული, ანთებითი და დისტროფიული ცვლილებები.

20ნმ მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების in vitro RR-MTB იზოლატებზე ზემოქმედების ეფექტურობისა და ექსპერიმენტულ ცხოველებზე უსაფრთხოების შესწავლის შედეგებმა მყარი საფუძველი მოგვცა კვლევის მეორე ეტაპზე შეგვესწავლა AgNPs-ის მეშვეობით

რიფამპიცინის მიმართ მდგრადობის გადალახვისა და რიფამპიცინის ტუბსაწინააღმდეგო ეფექტურობის აღდგენის შესაძლებლობა რიფამპიცინზე რეზისტენტულ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის შტამებში. RR-MTB იზოლატებზე რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და ვერცხლის სხვადასხვა კონცენტრაციების (0,25%, 0,5%, 1%, 2,5%, 5,0%, 10,0%) შემცველი ნანოკომპოზიტის დამატებისას დაფიქსირდა მიკობაქტერიების ზრდის დათრგუნვის ისეთივე ტენდენცია, როგორც RR-MTB კულტურებზე მხოლოდ AgNPs ზემოქმედებისას: კვლევამ აჩვენა რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და AgNPs -ის სუსპენზიის 0,25%, 0,5% და 1% შემცველი კომპოზიტების სრული არაეფექტურობა; RR-MTB შტამის ზრდის დათრგუნვა დაიწყო R/AgNPs 2,5% სუსპენზიის გამოყენებისას და სრული ინჰიბირება დაფიქსირდა R/AgNPs -ის 5% და 10% სუსპენზიის დამატებისას. R/AgNPs 2,5%-იანი კონცენტრაციის შემცველი ნანოკომპოზიტის გამოყენებისას ბაქტერიციდული ეფექტის არსებობა დაფიქსირდა შემთხვევების 80%-ში, რაც 10%-ით აღემატება იზოლირებულად მხოლოდ AgNPs დამატებით მიღებულ ბაქტერიციდულ ეფექტს. R/AgNPs ნანოკომპოზიტის უფრო მაღალი კონცენტრაციით (5%, 10%) გამოყენებამ აჩვენა ბაქტერიციდული ეფექტი შემთხვევათა 100%-ში. კვლევის შედეგად დადგინდა, AgNPs-ისა 2,5% სუსპენზიისა და რიფამპიცინის სტანდარტული დოზის კომბინაციას გააჩნია მინიმალური მაინჰინბირებელი მოქმედება RR-MTB იზოლატებზე, ხოლო AgNPs-ის მინიმალური ბაქტერიციდული კონცენტრაცია რიფამპიცინის სტანდარტულ დოზასთან ერთად ვერცხლის 5% სუსპენზიის ტოლია. In vitro ექსპერიმენტული კვლევის შედეგების საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ვერცხლის ნანონაწილაკები ახდენენ რიფამპიცინის მოქმედების პოტენცირებას აღნიშნული მედიკამენტის მიმართ მდგრადობის გადასალახად. ჩვენი კვლევა არის ერთ-ერთი იმ მცირე რიცხვოვანი კვლევებიდან, რომელიც აფასებს AgNPs-ების და RIF-ის ეფექტურობასა და უსაფრთხოებას *M.tuberculosis* შტამებზე. კრეიცბერგისა და თანაავტორების [150] მიერ ჩატარებული კვლევით დადგინდა, რომ *M.tuberculosis* იზოლატებზე ნანონაწილაკების ტუბერკულოზის საწინააღმდეგო სპეციფიკურ საშუალებებთან ერთობლივი კომბინირებული გამოყენების ეფექტურობა მნიშვნელოვნად აღემატება AgNPs იზოლირებულ ეფექტს. AgNPs-ისა და რიფამპიცინის ერთობლივი გამოყენებისას *M.tuberculosis* იზოლატების ზრდის ინჰიბირება მათ მიერ დაფიქსირდა

შემთხვევათა 93,3%. ელისმა თანაავტორებთან ერთად [146] დაადგინა, რომ მულტიმეტალურ, მათ შორის ვერცხლის ნანონაწილაკებს გააჩნიათ შეზღუდული დამოუკიდებელი ინტრამაკროფაგური ანტიმიკობაქტერიული ეფექტი. ამასთან, AgNPs-ის ერთდროული გამოყენებისას რიფამპიცინის სუბთერაპიულ დოზასთან ერთად დაფიქსირდა რიფამპიცინის მაპოტენცირებელი ეფექტის გაძლიერება *M. tuberculosis*-ის კოლონიების წარმომქმნელი ერთეულების 69%-ის შემცირებით. Farooq-მა და თანაავტორებმა [136] აჩვენეს RIF-ის ანტიბიოფილმის ეფექტურობის ზრდა R/AgNPs კომპოზიტის გამოყენებისას მეთიცილინ-რეზისტენტულ K pneumoniae-სა და S aureus-ის შტამებზე. ზემოთ მოყვანილი სამეცნიერო კვლევების შედეგები სრულ თანხვედრაშია ჩვენი ექსპერიმენტის შედეგებთან R/ AgNPs ნანოკომპოზიტის ეფექტურობასთან დაკავშირებით.

2.5. დასკვნები

კვლევის შედეგად დადგინდა

1. სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების სუსპენზიის ექვსი (0,25%; 0,5%; 1%; 2,5%; 5%; 10%) კონცენტრაციის განსხვავებული ინჰიბიტორული ეფექტის არსებობა ფილტვების ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისაგან მიღებულ რიფამპიცინზე რეზისტენტულ ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის კლინიკურ იზოლატებზე.
2. რომ სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების 0,25%; 0,5%; 1% სუსპენზიებს არ გააჩნიათ დამთრგუნველი ეფექტი RR-MTB კლინიკურ იზოლატებზე.
3. რომ RR-MTB კლინიკური იზოლატების ინჰიბირება იწყება მათზე სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური AgNPs-ის 2,5% სუსპენზიის ზემოქმედებისას, სრული ინჰიბირება კი ფიქსირდება ვერცხლის ნანონაწილაკების 5% და 10% სუსპენზიების ზემოქმედებით.

4. რომ სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური ვერცხლის ნანონაწილაკების 2,5% სუსპენზიას გააჩნია მინიმალური მაინჰიბირებელი, AgNPs-ის 5% სუსპენზიას კი მინიმალური ბაქტერიციდული ეფექტი RR-MTB კლინიკური შტამების მიმართ.
5. რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის იზოლატების მიმართ სფერული ფორმის 20 ნმ ზომის მეტალური AgNPs-ის სუსპენზიის მინიმალური ბაქტერიციდული კონცენტრაციის (5%) ერთჯერადი და მრავალჯერადი გამოყენების სრული უსაფრთხოება ექსპერიმენტული ცხოველების ბიომეტრული, ლაბორატორიული და ფუნქციონალური მაჩვენებლების, ასევე ცხოველების სამიზნე ორგანოების ჰისტოლოგიური კვლევით მიღებული შედეგების საფუძველზე.
6. In vitro რიფამპიცინის მიმართ რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის შტამებზე ინჰიბირების თვალსაზრისით იდენტური ტენდენციის არსებობა რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და ვერცხლის ნანონაწილაკების განსხვავებული კონცენტრაციების სუსპენზიის შემცველი ნანოკომპოზიტებისა და იზოლირებულად AgNPs -ის სუსპენზიის ზემოქმედებისას.
7. რომ AgNPs -ის 0,25%, 0,5% და 1% სუსპენზიების დამატება როგორც იზოლირებულად, ისე რიფამპიცინის სტანდარტულ დოზასთან ერთად კომბინაციაში ტუბ.მიკობაქტერიის ინჰიბირების თვალსაზრისით არაეფექტურია, ე.ი არ იწვევს ტუბ.მიკობაქტერიის ზრდის დათრგუნვას.
8. ფილტვების ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისაგან მიღებული RR-MTB კლინიკური იზოლატების ინჰიბირების პროცესის ინიცირება რიფამპიცინისა და AgNPs-ის 2,5% სუსპენზიის შემცველი ნანოკომპოზიტის დამატებისას, სრული (100%) ბაქტერიციდული ეფექტის არსებობა კი R/ AgNPs-ის 5% სუსპენზიისა და R/ AgNPs-ის 10% სუსპენზიის შემცველი ნანოკომპოზიტების ზემოქმდებისას.
9. ვერცხლის 2,5% კონცენტრაციის შემცველი R/AgNPs-ის ნანოკომპოზიტის მინიმალური მაინჰიბირებელი, ხოლო ვერცხლის 5% კონცენტრაციის შემცველი

R/AgNPs-ის ნანოკომპოზიტის მინიმალური ბაქტერიოციდული ეფექტის არსებობა RR-MTB კლინიკური შტამების მიმართ.

10. რომ in vitro რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და ვერცხლის ნანონაწილაკების 2,5% სუსპენზიის შემცველი ნანოკომპოზიტის ზემოქმედება RR-MTB შტამებზე იწვევს მინიმალური მაინჰიბირებელი ეფექტის 10%-ით (შეადგინა 80%) ზრდას ვერცხლის ნანონაწილაკების 2,5% სუსპენზიის იზოლირებულ გამოყენებასთან (70%) შედარებით, რაც მიუთითებს ვერცხლის ნანონაწილაკების რიფამპიცინის მიმართ მაპოტენცირებელ მოქმედებაზე. აღნიშნული კი განაპირობებს მის მიმართ ტუბ.მიკობაქტერიის გამძლეობის გადალახვას.

ამრიგად, ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგად დადასტურდა 20ნმ ზომის სფერული ფორმის, მეტალური AgNPs-ის

- უსაფრთხოება და ანტიმიკობაქტერიული ეფექტი ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისგან კლინიკურ პირობებში მიღებულ R/R-MTB იზოლატებზე;
- მაპოტენცირებელი ეფექტი რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის იზოლატებში რიფამპიცინის ეფექტურობის აღდგენის კუთხით.

2.6 რეკომენდაცია

ჩვენს მიერ ჩატარებული კვლევის შედეგად, ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებული პაციენტების ნახველისგან კლინიკურ პირობებში მიღებული რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის იზოლატებზე რიფამპიცინის სტანდარტული დოზისა და 20ნმ მეტალური სფერული ფორმის ვერცხლის ნანონაწილაკების კომპოზიტის in vitro ეფექტურობა იძლევა საფუძველს გაღრმავდეს სამეცნიერო კვლევები ამ მიმართულებით და შეიქმნას ადამიანისათვის უსაფრთხო ნანოკომპოზიტი, რომელიც მნიშვნელოვან წვლილს შეიტანს რიფამპიცინზე რეზისტენტული ტუბერკულოზის კონტროლის გაუმჯობესებაში.

3.0 დასკვნითი ნაწილი

3.1 ბიბლიოგრაფია

1. Farhat M, Cox H, Ghanem M, Denkinger CM, Rodrigues C, Abd El Aziz MS, Enkh-Amgalan H, Vambe D, Ugarte-Gil C, Furin J, Pai M. Drug-resistant tuberculosis: a persistent global health concern. Nature Reviews Microbiology. 2024; 22:617–635.
2. World Health Organization (WHO). Global tuberculosis report 2024. Geneva, Switzerland: WHO; 2024.
3. Dheda K, Gumbo T, Maartens G, Dooley K, McNerney R, Murray M, Furin J, Nardell EA, London L, Lessem E, Theron G, van Helden P, Neimann S, Merker M, Dowdy D, Schaaf HS, Chang KC, Lange K, Nahid P, Udwadia ZF, Horsburg CR, Chuchyard GJ, Menzies D, Hesseling AC, Nuermberger E, Mclleron H, Fennelly KP, Goemaere E, Jaramilio E, Low M, Jara CM, Padayatchi N, Warren RM. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis. Lancet Respir Med. 2017; 4 :291-360.
4. Orenstein EW, Basu S, Shah NS, Andrews JR, Friedland GH, Moll AP, Gandhi NR, Galvani AP. Treatment outcomes among patients with multidrug-resistant tuberculosis: systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis.2009; 9:153-161.
5. Migliori GB ,De Iaco G, Besozzi G, R Centis R, Cirillo DM. First tuberculosis cases in Italy resistant to all tested drugs. Euro Surveill, 2007; 12. Article E070517.
6. Somoskovi A, Bruderer V, Homke R, Bloemberg GV, Bottger EC. A mutation associated with clofazimine and bedaquiline cross-resistance in MDR-TB following bedaquiline treatment. Eur Respir J, 2015; 45: 554-557.
7. Patel V, Riyaz SD , Park SW. Bedaquiline: a new hope to treat multi-drug resistant tuberculosis.Curr Top Med Chem.2014; 14: 1866 -1874.
8. Diacon AH, Pym A, Grobusch MP, de los Rios JM, Gotuzzo E, Vasilyeva I, Leimane Vde Andries K, Bakare N, de Merez T, Haxaire-Theeuwes M, Lounis N, Meyvisch P, Paepe ED, van Heeswijk RPG, Dannemann B. Multidrug-resistant tuberculosis and culture conversion with bedaquiline. N Engl J Med.2014; 371: 723-732.

9. Skripconoka V, Danilovits M, Pehme L, Tomson T, Skenders, TKummik T, Cirule A, Leimane V, Kurve A, Levina K, Geiter LJ, Maniessero D, Wells CD. Delamanid improves outcomes and reduces mortality in multidrug-resistant tuberculosis. Eur Respir J. 2013; 4:.1393-1400.
10. Gopal M, Padayatchi N, Metcalfe JZ, O'Donnell MR. Systematic review of clofazimine for the treatment of drug-resistant tuberculosis. Int J Tuberc Lung Dis. 2013; 17 :1001-1007.
11. Alcalá L, Ruiz-Serrano MJ, Pérez-Fernández Turégano C, García De Viedma D, Díaz-Infantes M, Marín-Arriaza M, Bauza E. In vitro activities of linezolid against clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis that are susceptible or resistant to first-line antituberculous drugs. Antimicrob Agents Chemother.2003; 47 :416-417.
12. Zumla AI, Gillespi SH, Hoelscher M, Philips PP, Cole ST, Abubakar I, McHugh TD, Schito M, Maeurer M, Nunn AJ. New antituberculosis drugs, regimens, and adjunct therapies: needs, advances, and future prospects. Lancet Infect Dis. 2014; 14: 327-340.
13. World Health Organization. Consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4. Drug-resistant tuberculosis treatment. 2020.
14. Veziris N, Bernard C, Guglielmetti L, Le Du D, Marigot-Outtandy D, Jaspard M, Caumes E, Lerat I, Rioux C, Yazdanpanah Y, Tiotiu A, Lemaitre N, Brossier F, Jarlier V, Robert J, Sougakoff W, Aubry A. Rapid emergence of Mycobacterium tuberculosis bedaquiline resistance: lessons to avoid repeating past errors. Eur Respir J, 49 (2017), Article 1601719.
15. Bloemberg G, Keller PM, Stucki D, Trauner A, Borrell S, Latshang T , Coscolla M, Rothe T, Homke R, Ritter C, Feldmann J, Schulthess B, Gagneux S, Bottger EC. Acquired resistance to bedaquiline and delamanid in therapy for tuberculosis.N Engl J Med. 2015; 373: pp. 1986-1988.
16. Polsfuss S, Hofmann-Thiel S, Merker M, Krieger D, Niemann S, H Russmann H, Schonfeld N, Hoffmann H, Kranzer K. Emergence of low-level delamanid and bedaquiline resistance during extremely drug-resistant tuberculosis treatment. Clin Infect Dis. 2019; 69:1229-1231.

17. Villellas C, Coeck N, Meehan CJ, Lounis N, de Jong B, Rigouts L, Andries K. Unexpected high prevalence of resistance-associated Rv0678 variants in MDR-TB patients without documented prior use of clofazimine or bedaquiline.J Antimicrob. Chemother. 2017; 72: 684-690.

18. Xu J, Wang B, Hu M, Huo F, Guo S, Jing W, Nuermberger E, Lu Y. Primary clofazimine and bedaquiline resistance among isolates from patients with multidrug-resistant tuberculosis. Antimicrob Agents Chemother. 2017; 61.

19. Kaniga K, Hasan R, Jou R, Vasiliauskien E, Chuchottaworn C, Ismail N, Metchock B, Miliauskas S, Viet NhungN, Rodrigues C, Shin S, Simsek H, Smithtikarn S, Le Thi Ngoc A, Jirakan Boonyasopun J, Kazi M, Kim S, Kamolwa P, Musteikiene G, Sacopon CA, Tahseen S, Vasiliauskaitė L, Wu MH, Omar SV. Bedaquiline Drug Resistance Emergence Assessment in Multidrug-Resistant Tuberculosis (MDR-TB): a 5-Year Prospective in vitro Surveillance Study of Bedaquiline and Other Second-Line Drug Susceptibility Testing in MDR-TB Isolates. J Clin Microbiol. 2022; 60(1): e0291920.

20. Virmani T, Kumar G, Virmani R, Sharma A, Pathak K. Nanocarrier-Based Approaches to Combat Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Nanomedicine .2022; 17:1833–1854.

21. Parveen S, Sur T, Sarkar S, Roy R. Antagonist Impact of Selenium-Based Nanoparticles Against Mycobacterium Tuberculosis.Appl. Biochem. Biotechnol. 2023; 195:3606–3614.

22. Virmani R, Virmani T, Pathak K. Chapter 17—Nanovesicles for Delivery of Central Nervous System Drugs. In Applications of Nanovesicular Drug Delivery; Nayak AK, Hasnain MS, Aminabhavi TM, TorchilinVP. Eds.; Academic Press. Cambridge, MA, USA, 2022; pp. 315–339.

23. Buzulukov Yu, Khrenov P, Tchesnova T, Savin E, Subbotina T, Khadartsev A, Antsiferova A. Experimental study of the antibacterial activity of silver nanoparticles on the model of peritonitis and meningoencephalitis in vivo. Journal of New Medical Technologies.EJOURNAL. 2014; 8 (1)-6.

24. Serdyuk A, Mihienkova AI. Silver Nanoparticles: characterization and stability of the antimicrobial action of a composition based on highly dispersed silica. Environment & Health. 2011; 3: 8-11.

25. Khokhlov AL, Kreuzberg GN, Zavoysty IV. The study of antibacterial efficiency of silver nanoparticles colloidal solutions. Health News. 2007; 2: 55-59.

26. Shulgina TA, Norkin IA, Puchinyan DM. Study of aqueous dispersions of antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Fed. new medical. Technologies. 2012; XIX (4): 131-132.

27. Amin M, Hameed S, Ali A, Anwar F, Shahid SA, Shakir I, Yaqoob A, Hasan S, Khan SA, ur-Rachman S. Green Synthesis of Silver Nanoparticles: Structural Features and in vivo and in vitro therapeutic effects against Helicobacter pylori Induced Gastritis. Bioinorg Chem Appl. 2014; 2014: 135824.

28. Bahador A, Esmaeili D, Khaledi A, Chorbanzadeh R. An in vitro assessment of the antibacterial properties of nanosilver Iranian MTA against Porphyromonas gingivalis. Journal of Chemical and Pharmaceutical Reseach. 2013; 5(10): 65-71.

29. Niakan S, Niakan M, Hesaraki S, Nejadmoghaddam MR, Moradi M, Hanafiabdar M, Allamezadeh R, Sabouri M. Comparison of the Antibacterial Effects of Nanosilver with 18 Antibiotics on Multidrug Resistance Clinical Isolates of Acinetobacter baumannii. Jundishapur Journal of Microbiology. 2013; 6(5): e8341.

30. Radzig MA, Nadtochenko VA, Koksharova OA, Kiwi J, Lipasova VA, Khmel IA. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. Colloids and Surfaces B Biointerfaces. 2013; 102: 300-306.

31. Radtsig MA, Koksharova OA, Khmel IA. Antibacterial effects of silver ions: effect on gram-negative bacteria growth and biofilm formation. Molekuliarnaia genetica mickobiologiia i virusologiia. 2009; 4: 27-31.

32. Ezeh CK, Eze C N, Dibua UME, Emencheta SC, Stephen C.A Systematic Review on Antituberculosis Drug Discovery and Antimycobacterial Potential of Biologically Synthesized Silver Nanoparticles: Overview and Future Perspectives. Infectious Microbes & Diseases. 2022; 4(4): 139-148.

33. Ahmad R, Sinha S, Chowdhury K, Haque M. Rifampicin-resistant Tuberculosis: A Global Health Dilemma. Advances in Human Biology.2024; 14(2): 87-91.

34. Menzies NA, Allwood BW, Dean AS, Dodd PJ, Houben RM, James LP, Knight GM, Meghji J, Nguyen LN, Rachow A, Schumacher SG, Mirzayev F, Cohen T. Global burden of disease due to rifampicin-resistant tuberculosis: a mathematical modeling analysis. Nat.ure Commun. 2023; 14(1):6182.

35. Prasad R, Gupta N, Banka A. Multidrug-resistant tuberculosis/rifampicin-resistant tuberculosis: Principles of management. Lung India.2018; 35(1):78-8.

36. WHO. The top 10 causes of death. 2024. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death.

37. Naghavi M, Ong KL, Aali A, Ababneh HS, Yohannes Abate YH, Abbafati C et all. Global burden of 288 causes of death and life expectancy decomposition in 204 countries and territories and 811 subnational locations, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. The Lancet.2024; 403 (10440):2100-2132.

38. WHO. Global Tuberculosis Report. 2024. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379339/9789240101531-eng.pdf?sequence=1.

39. European Centre for Disease Prevention and Control. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2023 - 2021 data. 2023. https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/tuberculosis-surveillance-and-monitoring-europe-2023-2021-data.

40. Georgia – ccm.ge. National Strategy for Tuberculosis Control in Georgia 2023-2025. 2023. https://www.georgia-ccm.ge/wp-content/uploads/საქართველოს-2023-2025-წლების-ტუბერკულოზის-კონტროლის-ეროვნული-სტრატეგია.pdf.

41. Kiria N, Avaliani Z, Chincharauli M, Mikiashvili L. Trends in tuberculosis notification and treatment in Georgia. European Respiratory Journal. 2020; 56 (64): 460. https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2020.460.

42. WHO. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report.2022. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/364996/9789240062702-eng.pdf?sequence=1.

43. Patel J, Harant A, Fernandes G, Mwamelo AJ, Hein W, Dekker D. Measuring the global response to antimicrobial resistance, 2002-21: a systematic governance analysis of 114 countries. The Lancet, Infectious diseases. 2023; 23 (6):706-718.

44. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. The Lancet.2022; 399(10325):629-655.

45. Drug-Resistant Infections: A Threat to Our Economic future (March 2027) https://www.worldbank.org/en/topic/health/publication/drug-resistant-infections-a-threat-to-our-economic-future.

46. Jonas OB, Irwin A, Berthe FCJ, Le Gall FG, Marque PV. Drug-resistant infections: a threat to our economic future. final report (English). . HNP/Agriculture Global Antimicrobial Resistance Initiative Washington, D. C: World Bank. 2017;2. http://documents.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/final-report.

47. Tiberi S, Zumla A, Migliori GB. "Multidrug and Extensively Drug-resistant Tuberculosis: Epidemiology, Clinical Features, Management and Tratment ".2019; Infect.Dis.Clin.N. Am. 2019; 33: 1063-1085.

48. Chisompola NK, Streicher EM, Muchemwa ChM, Warren RM, Sampson LS. Molecular epidemiology of drug resistant Mycobacterium tuberculosis in Africa: a systematic review. BMC Infectious Disease. 2020; 20:344.

49. Mikiashvili L, Kempker RR, Chakhaia TS, Bablishvili N, Avaliani Z, Lomtadze N, Schechter MC, Kipiani M. Impact of Prior Tuberculosis Treatment, with New/Companion Drugs on Clinical Outcomes in Patients Receiving Concomitant Bedaquiline and Delamanid for Multidrug- and Rifampicin-Resistant Tuberculosis. Clin Infect Dis. 2024; 78(4):1043-1052.

50. Tiberi S, Utjesanovic N, Galvin J, Cen Tis R, D'Ambrosio L, Van den Boom M, Zumla A, Migliori JB. Drug resistant TB – latest developments in epidemiology, diagnostics and management. International Journal of Infectious Diseases.2022; 124(1):20-25.

51. Dheda K, Warren RM, Zumla A, Grobusch MP.Extensively Drug-resistant Tuberculosis: Epidemiology and Management Challenges. Infect Dis Clin North Am. 2010; 24(3):705-725.

52. WHO. operational handbook on tuberculosis Module 4: Treatment – drug-resistant tuberculosis treatment. 2022.
https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/365333/9789240065116-eng.pdf?sequence=1.
53. Salari N, Kanjoori AH, Hosseinian-Far A, Hasheminezhad R, Mansouri K, Mohammadi M. Global prevalence of drug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. Infectious Diseases of Poverty. 2023; 12:57.
54. Kogieleum N,· Perumal R, Helen Cox H, Mathema B, Loveday M, Ismail N,Vally Omar Sh, Georghiou SB, Daftary A, O'Donnell M, Ndjeka N. The epidemiology, transmission, diagnosis, and management of drug-resistant tuberculosis—lessons from the South African Experience the Lancet Infectious Deseases.2024; 24(9): 559-575.
55. WHO. Consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment - drug-susceptible tuberculosis treatment. 2022.
https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/353829/9789240048126-eng.pdf?sequence=1.
56. WHO operational handbook on tuberculosis Module 4: Treatment – drug-susceptible tuberculosis treatment. 2022.
https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/354548/9789240050761-eng.pdf?sequence=1.
57. Bernal O, Lopez R, Montoro E[1], Avedillo P, Westby K[1], Ghidinelli M.Introduction and scaling up of new drugs for drug-resistant TB: experiences from the Americas. Int J Tuberc Lung Dis. 2020; 24(10): 1058-1062.
58. lange C, Chesov D, Heyckendorf J, Leung CC, Udwadia Z, Dheda K. Drug-resistant tuberculosis: An update on disease burden, diagnosis and treatment. Respirology (Carlton, Vic.). 2018; 23(7):656-673.
59. Baya B, Achenbach CJ, Kone B, Toloba Y, Dabitao DK, Diarra B, Goita D, Diabate S, Maiga M, Soumare D, Quattara K, Kanoute T, Berthe G, Kamia YM, dit Sadio Sarro Y, Sanogo M, Togo ACG, Dembele BPP, Coulibaly N, Kone A, Akanbi M, Belson M, Dao S, Orsega S, Siddiqui S, Doumbia S, Murphy RL, Dialo S. Clinical risk factors associated with multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) in Mali. *IJID*. 2019;81: 149–55.

60. Xi Y, Zhang W, Qiao RJ, Tang J. Risk factors for multidrug-resistant tuberculosis: A worldwide systematic review and meta-analysis. PLoS ONE.2022; 17(6):e0270003.

61. Timire C, Metcalfe JZ, Chirenda J, Scholten JN, Manyame-Murwira B, Ngwenya M, Matambo R, Charambira R, Mutunzi R, Kalisvaart N, Sandy C. Prevalence of drug-resistant tuberculosis in Zimbabwe: a health facility-based cross-sectional survey. IJID. 2019; 87: 119–25.

62. Ahmad N, Javaid A, Sulaiman SA, Ming LC, Ahmad I, Khan AH. Resistance patterns, prevalence, and predictors of fluoroquinilines resistance in multidrug resistant tuberculosis patients. Rraz J Infect Dis SBI. 2016; 20(1):41-47.

63. Hu Y, Mathema B, Zhao Q, Chen L, Lu W, Wang W, Kreiswirth B, Xu B, Acquisition of second-line drug resistance and extensive drug resistance during recent transmission of Mycobacterium tuberculosis in rural China. Clin Microbiol Infect. 2015;21(12): 1093.e9-1093 e18.

64. Prakash R, Kumar D, Gupta VK, Jain S, Chauhan DS, Tiwari PK, Katoch VM. Status of multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) among the Sahariya tribe of North Central India. Journal of Infection and Public Health. 2016;9(3):289–297.

65. Ghebremichael S, Petersson R, Koivula T, Pennhag A, Romanus V, Berggren I, Petrini B, Hoffner S, K Källenius G. Molecular epidemiology of drug-resistant tuberculosis in Sweden. Microbes Infect. 2008;10(6):699–705.

66. Zhao LL, Chen Y, Chen ZN, Liu HC, Hu PL, Sun Q, Zhao XQ, Jiang Y, Li GL, Tan YH, Wan Kl. Prevalence and molecular characteristics of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis in Hunan, China. Antimicrob Agents Chemother. 2014; 58(6):3475–3480.

67. Villa-Rosas C, Laniado-Laborín R, Oceguera-Palao L. Primary drug resistance in a region with high burden of tuberculosis. A critical problem. Salud Publica de Mexico. 2015;57(2):177–179.

68. Minion J, Pai M. Assays for drug resistant tuberculosis in high burden countries –Authors' reply. Lancet Infect Dis. 2011;11(3):162.

69. Gehre F, Otu J, Kendall L, Forson A, Kwara A, Kudzawu S, Kehinde AO, Adebiyi O, Salako K, Baldeh I, Jallow A, Jallow M, Dagnra A, Disse K, Kadanga EA, Idigbe EO, Onubogu C, Onyejepy N, Gaye-Diallo A, Ba-Diallo A, Rabna P, Mane M, Sanogo M, Diarra B, Dezemon Z, Sanou A, Senghore M, Kwambana-Adams A, Demba A, Faal-Jawara T, Kumar S, Tientcheu LD, Jallow A, Ceesay S, Adetifa I, Jaye A, Pallen MJ, D Alessandro U, Kampmann B, Adegbola RA, Mboup S, Corrah T, de Jong BC, Antonio M. The emerging threat of pre-extensively drug-resistant tuberculosis in West Africa: preparing for large-scale tuberculosis research and drug resistance surveillance. BMC Med. 2016; 14(1):160.

70. Ei PW, Aung WW, Nyunt WW, Swe TL, Htwe MM, Win SM, Aung ST, Chang CL, Lee HY, Lee JS. Extensively drug-resistant tuberculosis in Myanmar: burden and mutations causing second-line drug resistance. Int J Tuberc Lung D. 2018;22(1):47–53.

71. Wang D, Yang C, Kuang T, Lei H, Meng X, Tong A, He J, Jiang Y, Guo F, Dong M. Prevalence of multidrug and extensively drug-resistant tuberculosis in Beijing, China: a hospital-based retrospective study. Japanese Journal of Infectious Diseases. 2010;63(5):368–371.

72. Muhammad A, Muhammad N, Khan ZU, Jamal T, Ishaq M. Burden of multi-drug resistant and extensive drug resistant of Mycobacterium tuberculosis. KJMS. 2019;12(2):1.

73. Utpat KV, Rajpurohit R, Desai U. Prevalence of pre-extensively drug-resistant tuberculosis (PreXDR-TB) and extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) among extra pulmonary (EP) multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) at a tertiary care center in Mumbai in pre Bedaquiline (BDQ) era. Lung India. 2023; 8(9):96–99.

74. Migliori GB, Dheda K, Centis R, Mwaba P, Bates M, O'Grady J, Hoelscher M, Zumla A. Review of multidrug-resistant and extensively drug-resistant TB: global perspectives with a focus on sub-Saharan Africa. Trop Med Int Health. 2010;40(1):19–23.

75. Soodejani MT, Morad B, Mahmudimanesh M. Distribution of Extensively Drug-resistant Tuberculosis in the World Health Organization Regions of the World During 1990-2019. J Infect Microb Antimicrob, 2024; 13(1)16-16.

76. Riccardi N, Occhineri S, Vanino E, Antonello RM, Pontareli A, Saluzzo F, Masini T, Besozzi G, Tadolini M, Codecasa L. How We Treat Drug-Susceptible Pulmonary Tuberculosis: A Practical Guide for Clinicians. *A*ntibiotics. 2023; 12 (12):1733.

77. Ignatius E, Dooley KE. New Drugs for the Treatment of Tuberculosis. Clin Chest Med. 2019; 40(4):811–827.

78. Satapathy R, Itumalla R, Neyazi A, Nabizai Taraki A.M, Khatib MN, Gaidhane Sh, Zahiruddin QS, Rustagi S, Neyazi M.Emerging bedaquiline resistance: A threat to the global fight against drug-resistant tuberculosis. Journal of Biosafety and Biosecurity. 2024; 6(1):13-15.

79. Azimi T, Khoshnood S, Asadi M, Mahmoudi H, Kaviar VH, Hallajzadeh M, Nasiri MJ. Linezolid resistance in multidrug-resistant mycobacterium tuberculosis: A systematic review and meta-analysis. Sec. Pharmacology of Infectious Diseases. 2023; 13. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.955050.

80. Nguyen TV, Anthony RM, Huyen Cao TT, Bañuls AL, Thi NguyenVA, Hoa Vu D, Nguyen NV, C AlffenaarJW. Delamanid Resistance: Update and Clinical Management. Clin Infect Dis. 2020; 71(12):3252-3259.

81. WHO. The endTB strategy 2015. https://www.who.int/westernpacific/activities/implementing-the-end-tb-strategy#.

82. Zazo H, Colino CI, Lanao JM. Current applications of nanoparticles in infectious diseases. J Control Release. 2016; 224:86–102.

83. Costa-Gouveia J, Aínsa JA, Brodin P, Lucía A. How can nanoparticles contribute to antituberculosis therapy? Drug Discovery Today. 2017;22(3):600–607.

84. Bustin SA, Jellinger KA. Advances in Molecular Medicine: Unravelling Disease Complexity and Pioneering Precision Healthcare. Int J Mol Sci. 2023; 24(18):14168.

85. Sezer, A.D. Application of nanotechnology in drug delivery. 2014; Croatia: in Tech.

86. Chowdhury A, Bandyopadhyay A. Compelling Cyclic Peptide Scaffolds for Antitubercular Action: An Account (2011-21) of the Natural Source. Current protein &peptide Science. 2022; 23(12): 823–836.

87. Abaeva LF, Shumsky VI, Petritskaya EN, Rogatkin DA,. Lubchenko PN. Nanoparticles and nanotechnologies today and beyond. Almanac of clinical medicine.2010; 33:10-17.

88. Leid JG, Ditto AJ, Knapp A, Shah PN, Wright BD, Blust R, Christensen L, Clemons CB, Wilber JP, Young GW, Kang AG, Panzner MP, Cannon CL, Yun YH, Youngs WJ, Sekinger NM, Cope EK. In vitro antimicrobial studies of silver carbine complexes: activity of free and nanoparticle carbine formulations against clinical isolates of pathogenic bacteria. J. Antimicrob Chemother.2012; 67(1):138-148.

89. Dolatyari M, Rostami A. Strong anti-viral nano biocide based on Ag/ZnO modified by amodiaquine as an antibacterial and antiviral composite. Scientific reports. 2022; 12(1):1993.

90. Raffi M, Mehrwan S, Bhatti TM, Akhter JI, Hameed A, Yawar W, ul Hasan MM. Investigations into the Antibacterial Behavior of Copper Nanoparticles against Escherichia Coli. Ann.Microbiol.2010; 60(1):75-80.

91. Pham DTN, Khan F, Phan TTV, Park SK, Manivasagan P, Oh J, Kim YM. Biofilm inhibition, modulation of virulence and motility properties by FeOOH Nanoparticles in Pseudolonas Aeruginosa. Braz. J. Microbiol. 2019; 50(3):791-805.

92. Khan F, Manivazagan P, Lee JW, Pham DTN, Oh J, Kim YM. Fucoidan-stabilized gold nanoparticle-mediated biofilm inhibition, attenuation of virulence and motility properties in Pseudomonas Aeruginosa PAO1. Mar. Drugs. 2019; 17(4):208.

93. Roy S, Barua N, Buragohain AK, Ahmed GA. Study of ZnO nanoparticles: Antibacterial property and light depolarization property using light scattering tool. Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Tranfer. 2013; 118:8-13.

94. Javaid A, Oloketuyi SF, Khan MM, Khan F. Diversity of Bacterial Synthesis of Silver Nanoparticles. BioNanoScience. 2017; 8(1):43-59.

95. Pramanik S, Konwarh R, Deka RC, Aidew L, Barua N, Buragohain AK, Mohanta D, Karak N. Microwave-Assisted Poly(Glycidyl Methacrylate)-functionalized multiwall carbon nanotubes with a “tendrillar” nanofibrous polyaniline wrapping and their interaction at bio-interface. Carbon. 2013; 55: 34–43.

96. Khan F, Pham DTN, Oloketuyi SF, Manivasagan P, Oh J, Kim YM. Chitosan and their derivatives: Antibiofilm drugs against pathogenic bacteria. Colloids and surfaces, B Biointerfaces. 2020; 185:110627.

97. Manivasagan P, Khan F, Hoang G, Mondal S, Kim H, Hoang Minh Doan V, Kim YM, Oh J. Thiol Chitosan-Wrapped Gold Nanoshells for near -Infrared Laser-Induced Photothermal Destruction of Antibiotic-Resistant Bacteria. Carbohydr. Polym.2019; 225: 115228.

98. Ellis, D.H.; Maurer-Gardner, E.I.; Sulentic, C.E.W.; Hussain, S.M. Silver nanoparticle antibacterial efficacy and resistance development in key bacterial species. Biomed. Phys. Eng. Express 2018, 5: 015013.

99. Alexander W.“ History of the medical use of silver”. Surg Infect (Larchmt).2009; 10(3): 289-292.

100. Carryn S, Van Bambeke F, Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Comparative intracellular (THP-1 macrophage) and extracellular activities of beta-lactams, azithromycin, gentamicin, and fluoroquinolones against Listeria monocytogenes at clinically relevant concentrations. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46:2095-2103.

101. Prabhu S. “Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects” International Nano Letters.2012; 2(32).

102. Silvestry-Rodriguez N, Sicairos-Ruelas EE, Gerba CP, Bright KR. Silver as a Disinfectant. Rev Environ Contam Toxicol.2007; 191:23–45.

103. Russell AD, Hugo WB. 7 Antimicrobial activity and action of silver. Progress in Medicinal Chemistry. 1994; 31:351–370.

104. Seral C, Bambeke FV, Tulkens PM. Quantitative analysis of gentamicin, azithromycin, telithromycin, ciprofloxacin, moxifloxacin, and oritavancin (LY333328) activities against intracellular Staphylococcus aureus in mouse J774 macrophages”. Antimicrob Agents Chemother.2003; Vol. 47(7):2283-2292.

105. Ramya KA, Sanker AS, Kumar KSH, Krishnan S, Babu N. Antibacterial Activity of Silver, Gold and Amoxicillin-Silver Nanoparticles against Methicillin Resistant Staphylococcus aureus—An In Vitro Study. IJCRR. 2023; 15(10): 1–4.

106. Al Masud MA, Shaikh H, Alam MS, Karim MM, Momin MA, Islam MA, Khan GMA. Green synthesis of silk sericin-embedded silver nanoparticles and their antibacterial application against multidrug-resistant pathogens. Journal genetic engineering and biotechnology. 2021; 19(1): 74.

107. Hayat P, Khan I, Rehman A, Jamil T, Hayat A,Rehman MU, Ullah N, Sarwar A, Alharbi AA, Dablool AS et al. Myogenesis and Analysis of Antimicrobial Potential of Silver Nanoparticles (AgNPs) against Pathogenic Bacteria. Molecules. 2023; 28(2):637.

108. Murillo-Rábago EI, Vilchis-Nestor AR, Juarez-Moreno K, Garcia-Marin LE, Quester K, Castro-Longoria E. Optimized Synthesis of Small and Stable Silver Nanoparticles Using Intracellular and Extracellular Components of Fungi: An Alternative for Bacterial Inhibition. Antibiotics. 2022; 11 (6):800.

109. Zhaorigetu S, Yanaka N, Sasaki M, Watanabe H, Kato N. Inhibitory effects of silk protein, sericin on UVB-induced acute damage and tumor promotion by reducing oxidative stress in the skin of hairless mouse. J Protochem Photobiol B Biol. 2003; 71(1-3):11-17.

110. Hayat P, Khan I, Rehman A, Jamil T, Hayat A,Rehman MU, Ullah N, Sarwar A, Alharbi AA, Dablool AS et al. Myogenesis and Analysis of Antimicrobial Potential of Silver Nanoparticles (AgNPs) against Pathogenic Bacteria. Molecules. 2023; 28(2):637.

111. Murillo-Rábago EI, Vilchis-Nestor AR, Juarez-Moreno K, Garcia-Marin LE, Quester K, Castro-Longoria E. Optimized Synthesis of Small and Stable Silver Nanoparticles Using Intracellular and Extracellular Components of Fungi: An Alternative for Bacterial Inhibition. Antibiotics. 2022; 11 (6):800.

112. Rodrigues AS, Batista JGS, Rodrigues MÁV, Thipe VC, Minarini LAR, Lopes PS, Lugão AB. Advances in silver nanoparticles: a comprehensive review on their potential as antimicrobial agents and their mechanisms of action elucidated by proteomics. Frontiers in microbiology. 2024; 15:1440065.

113. Ahmed B, Ameen F, Rizvi A, Ali K, Sonbol H, Zaidi A, Khan MS, Musarrat J. Destruction of Cell Topography, Morphology, Membrane, Inhibition of Respiration, Biofilm Formation,

and Bioactive Molecule Production by Nanoparticles of Ag, ZnO, CuO, TiO_2, and Al_2O_3 toward Beneficial Soil Bacteria. ACS Omega 2020; 5(14): 7861–7876.

114. More PR, Pandit S, Filippis AD, Franci G, Mijakovic I, Galdiero M. Silver nanoparticles: Bactericidal and mechanistic approach against drug resistant pathogens. Microorganisms 2023, 11(2), 369.

115. Niyonshuti I, Rogers A, Okyere D, Wang Y, Chen J. Engineering silver nanoparticle surfaces for antimicrobial applications. Encyclopedia of Nanomaterials. 2023; 2:435–449.

116. Kreytsberg GN, Gracheva IE, Kibrik BS, Golikov IV. Antituberculous effect of silver nanoparticles. J Phys Conf Ser. 2011; 291(1):012030.

117. Song B, Zhang C, Zeng G, Gong J, Chang Y, Jiang Y. Antibacterial properties and mechanism of graphene oxide-silver nanocomposites as bactericidal agents for water disinfection. Arch Biochem Biophys. 2016; 604:167–176.

118. Liu C, Guo J, Yan X, Tang Y, Mazumder A, Wu S, Liang Y. Antimicrobial nanomaterials against biofilms: an alternative strategy. Environ Rev. 2016;25(2):225–244.

119. Franci G, Falanga A, Galdiero S, Palomba L, Rai M, Morelli G, Galdiero M. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. Review>Molecules. 2015;20(5):8856–8874.

120. Dakal TC, Kumar A, Majumdar RS, Yadav V. Mechanistic Basis of Antimicrobial Actions of Silver Nanoparticles. Frontiers in Microbiology. 2016; 7:1831.

121. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramirez JT, Yacaman MJ. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology. 2005;16(10):2346-2353.

122. Kumar DA, Palanichamy V, Roopan SM. Green synthesis of silver nanoparticles using Alternanthera dentata leaf extract at room temperature and their antimicrobial activity. Spectrochim Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2014; 127:168–171.

123. Jain J, Arora S, Rajwade JM, Omray P, Khandelwal S, Paknikar KM. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use. Molecular pharmaceutics. 2009; 6(5):1388–1401.

124. Le Ouay B, Stellacci F. Antibacterial activity of silver nanoparticles: a surface science insight. NanoToday. 2015;10(3):339–354.

125. Huh AJ, Kwon YJ. "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. J Control Release. 2011;156(2):128–145.

126. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, Kim SH, Park YK, Park YH, Hwang CY, Kim YK, Lee YS, Jeong DH, Cho MH. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomedicine. 2007; 3(1):95–101.

127. Al-Sharqi A, Apun K, Vincent M, Kanakaraju D, Bilung LM. Enhancement of the antibacterial efficiency of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria using blue laser light. International Journal of Photoenergy. 2019; article ID 2528490.

128. Rai M, Ingle AP, Pandit R, Paralikar P, Gupta I, Chaud MV, Dos Santos KA. Broadening the spectrum of small-molecule antibacterials by metallic nanoparticles to overcome microbial resistance. Int J Pharm. 2017; 532(1):139–148.

129. Baptista PV, McCusker MP, Carvalho A, Ferreira DA, Mohan NM, Martins M, Fernandes AM. Nano-strategies to Fight Multidrug Resistant Bacteria - "A Battle of the Titans. Front Microbiol. 2018; 9:1441.

130. Deng Y, McShan D, Zhang Y, Sinha SS, Arslan Z, Ray PC, YU H. Mechanistic study of the synergistic antibacterial activity of combined silver nanoparticles and common antibiotics. Environ Sci Technol. 2016; 50(16):8840–8848.

131. Birla SS, Tiwari VV, Gade AK, Ingle AP, Yadav AP, Rai MK. Fabrication of silver nanoparticles by Phoma glomerata and its combined effect against Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus. Letters in applied microbiology. 2009; 48(2):173–179.

132. Brown AN, Smith K, Samuels TA, Lu J, Obare SO, Scott ME. Nanoparticles functionalized with ampicillin destroy multiple-antibiotic-resistant isolates of Pseudomonas aeruginosa and Enterobacter aerogenes and methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Applied and environmental microbiology. 2012; 78(8):2768–2774.

133. Saratale GD, Saratale RG, Benelli G, Kumar G, Pugashendhi A, Kim DS, Shin HS. Anti-diabetic potential of silver nanoparticles synthesized with argyreia nervosa leaf extract high synergistic antibacterial activity with standard antibiotics against foodborne bacteria. J Clust Sci. 2017; 28(3):1709–1727.

134. Shanmuganathan R, MubarakAli D, Prabakar D, Muthukumar H, Thajuddin N, Kumar SS, Pugazhendhi A. An enhancement of antimicrobial efficacy of biogenic and ceftriaxone-conjugated silver nanoparticles: green approach. Environ Sci Pollut Res. 2018; 25(11):10362–10370.

135. Hwang IS, Hwang JH, Choi H, Kim KJ, Lee DG. Synergistic effects between silver nanoparticles and antibiotics and the mechanisms involved. J Med Microbiol. 2012; 61(12):1719–1726.

136. Farooq U, Ahmad T, Khan A, Sarwar R, Shafiq J, Raza Y, Ahmed A, Ullah S, Rehman NU, Al-Harrasi A. Rifampicin conjugated silver nanoparticles: a new arena for development of antibiofilm potential against methicillin resistant Staphylococcus aureus and Klebsiella pneumoniae. Int J Nanomedicine. 2019; 14:3983–3993.

137. Kote JR, Mulani RM, Kadam AS, Solankar BM. AntiMycobacterial Activity of Nanoparticles from Psidium Guajava L. Journal of Microbiology and Biotechnology Research. 2014; 4(5):14-17.

138. Banu A, Rathod V. Biosynthesis of Monodispersed Silver Nanoparticles and their Activity against Mycobacterium tuberculosis. Journal of Nanomedicine& Biotherapeutic Discovery. 2013; 3(1):211-220.

139. Jaryal N, Kaur H. Plumbago auriculata leaf extract-mediated AgNPs and its activities as antioxidant, anti-TB and dye degrading agents. Journal of biomaterials science. Polymer edition. 2017; 28(16):1847–1858.

140. Agarwal P, Mehta A, Kachhwaha S, Kothari SL. Green synthesis of silver nanoparticles and their activity against Mycobacterium tuberculosis. Advancesd Science, Engineering and Medicine. 2013; 5709–714.

141. Raja A, Salique SM, Gajalakshmi P, James A. Antibacterial and hemolytic activity of green silver nanoparticles from Catharanthus roseus. International journal of Pharmaceutical Sciencec and Nanotechnology. 2016; 9(1):3112-3117.

142. Daniel SCGK , Banu BN, Harshiny M, Nehru K, Ganesh PS, Kumaran S, Sivakumar M. Ipomea carnea -based silver nanoparticle synthesis for antibacterial activity against selected human pathogens. J Exp Nanosci. 2014;9(2):197–209.

143. Paarakh PM. Anti-tubercular activity of silver nanoparticle synthesized from the fruits of coriandrum sativum linn. World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2017; 6(8):1720–1727.

144. Kote JR, Kadam AS, Patil SS, Mane RS. Green functionalized silver nanoparticles with significantly enhanced antimycobactericidal and cytotoxicity performances of asparagus racemosus Linn. International ournal of New Technologies in Science and Engineering. 2016; 3(2):12-26.

145. Heidary M, Zaker Bostanabad S, Amini SM, Jafari A, Ghalami Nobar M, Ghodousi A, Kamalzadeh M, Darban-Sarokhalil D. The anti-mycobacterial activity of Ag, ZnO, And Ag-ZnO nanoparticles against MDR- and XDR-Mycobacterium tuberculosis. Infection and Drug Resistance. 2019; 12:3425–3435.

146. Ellis T, Chiappi M, García-trenco A, Al-Ejji M, Sarkar S, Georgiou TK, Shaffer MSP, Tetley TD, Schwander S, Ryan MP, Porter AE. Multimetallic microparticles increase the potency of rifampicin against intracellular Mycobacterium tuberculosis. ACS Nano. 2018; 12(6):5228–5240.

147. Jafari A, Mosavari N, Movahedzadeh F, Nodooshan SJ, Safarkar R, Moro R, Kamalzadeh M, Majidpour A, Boustanshenas M, Mosavi T. Bactericidal impact of Ag, ZnO and mixed AgZnO colloidal nanoparticles on H_{37}Rv Mycobacterium tuberculosis phagocytized by THP-1 cell lines. Microbial Pathogenesis. 2017; 110:335–344.

148. Mohanty S, Jena P, Mehta R, Pati R, Banerjee B, Patil S, Sonawane A. Cationic antimicrobial peptides and biogenic silver nanoparticles kill mycobacteria without eliciting

DNA damage and cytotoxicity in mouse macrophages. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2013; 57(8):3688–3698.

149. Jena P, Mohanty S, Mallick R, Jacob B, Sonawane A. Toxicity and antibacterial assessment of chitosancoated silver nanoparticles on human pathogens and macrophage cells. Int J Nanomedicine. 2012;7:1805-1818.

150. Kreytsberg GN, Gracheva IE, Kibrik BS, Golikov IV. Antituberculous effect of silver nanoparticles. J Phys Conf Ser. 2011; 291(1):012030.

151. Selim A, Elhaig MM, Taha SA, Nasr EA. Antibacterial activity of silver nanoparticles against field and reference strains of Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis and multiple-drug-resistant tuberculosis strains. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics). 2018; 37(3):823–830.

152. Sivaraj A, Kumar V, Sunder R, Parthasarathy K, Kasivelu G. Commercial yeast extracts mediated green synthesis of silver chloride nanoparticles and their anti-mycobacterial activity. J Clust Sci. 2019; 31:1.

153. Patel S. Biogenic silver nanoparticles as potential agent against mycobacterium tuberculosis. International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology (IJRASET). 2018; 6(1):505–511.

154. Abdel-Aziz MM, Elella MHA, Mohamed RR. Green synthesis of quaternized chitosan/silver nanocomposites for targeting mycobacterium tuberculosis and lung carcinoma cells (A-549). Int J Biol Macromol. 2020; 142: :244-253.

155. Seth D, Choudhury SR, Pradhan S, Gupta S, Palit D, Das S, Debnath N, Goswami A. Nature-inspired novel drug design paradigm using nanosilver: efficacy on multi-drugresistant clinical isolates of tuberculosis. Current Microbiology. 2011; 62 (3):715–726.

156. Velescu BS, Ilie MI, Amzăr AL, Lupascu RE, Marandiuc IM, Apetroaei MM, ArseneAL, Blejan EI, Nedea OA, Fistos T, Fierăscu RC, Bărbuceanu F, Toca K, Fierăscu I, Udeanu DI, Chika M, Drăgănescu D, Cobeischi PC. Development and Experimental Evaluation of Some Silver Nanoparticles with Antimicrobial Potential. Processes. 2023; 111(4);1212.

157. Panda A, Manna U, Choudhary DK. Evaluating the Antimicrobial Potential of Silver Nanoparticles against Two Prominent Mycobacterium tuberculosis Strains. International Journal of Research Publication and Reviews. 2023; 4(9):173–178.

158. Sadhu S, Karmakar T, Chatterjee AG, Kumari U, Mondal P, Sarkar S, Sur T, Tarafdar S. Determination of the antagonistic efficacy of silver nanoparticles against two major strains of Mycobacterium tuberculosis. International Journal of Experimental Research and Review. 2022; 29: 67–72.

159. Soleimani FF, Saleh T, Shojaosadati SA, Poursalehi R. Green synthesis of different shapes of silver nanostructures and evaluation of their antibacterial and cytotoxic activity. BioNanoScience. 2018; 8:72–80.

160. Uraskulova BB, Gyusan AO. The clinical and bacteriological study of the effectiveness of the application of silver nanoparticle for the treatment of tuberculosis. Kliniko-bakteriologicheskoe issledovanie éffektivnosti ispol'zovaniia nanochastits serebra dlia lecheniia tuberkuleza verkhnikh dykhatel'nykh puteĭ [The clinical and bacteriological study of the effectiveness of the application of silver nanoparticle for the treatment of tuberculosis]. Vestnik otorinolaringologii. 2017; 82(3), 54–57.

161. Gmoshinski IV, Shumakova AA, Shipelin VA, Maltsev GYu, Khotimchenko SA. Influence of orally introduced silver nanoparticles on content of essential and toxic trace elements in organism. Nanotechnologies in Russia. 2016;11(9–10):646–652.

162. Singh R, Nawale L, Arkile M, Wadhwani S, Shedbalkar U, Chopade S, Sarkar D, Chopade BA.Phytogenic silver, gold, and bimetallic nanoparticles as novel antitubercular agents. Int J Nanomedicine. 2016; 11:1889-1897.

163. Song HY, Ko KK, Oh IH, Lee BT. Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms. Europeab Cells and Materials. 11:58.

164. Tăbăran AF, Matea CT, Mocan T, Tăbăran A, Mihaiu M, Iancu C, Mocan L. Silver Nanoparticles for the Therapy of Tuberculosis. REVIEW. International Journal of Nanomedicine. 2020; 15: 2231–2258.

165. Kalmantaeva OV, Firstova VV, Potapov VD, Zyrina EV, Gerasimov VN, Ganina EA, Borisov AV, Burmistrov VA. Silver-nanoparticle exposure on immune system of mice depending on the route of administration. Nanotechnologies in Russia. 2014; 9(9): 571-576.

166. Zaharov AV, Khokhlov AL, Ergeshov AE. Silver Nanoparticles in the solution of the problem of drug resistance in Mycobacterium Tuberculosis. Archive of Internal Medicine.2017; 3 :188-199.

167. Pugazhendhi A, Edison TNJI, Karuppusamy I, Kathirvel B. Inorganic nanoparticles: a potential cancer therapy for human welfare. Int J Pharm. 2018; 539(1-2):104–111.

168. Srinivasan M, Venkatesan M, Arumugam V, Geetha N, Saravanan N, Selvakumar M, Ramachandran S, Ayyasamy R, Pugazhendhi A. Green synthesis and characterization of titanium dioxide nanoparticles (TiO_2 NPs) using Sesbania grandiflora and evaluation of toxicity in zebrafish embryos. Process Biochemistry. 2019; 80:197–202.

169. Vazquez-Muñoz R, Borrego B, Juárez-moreno K, García-García M, Mota Morales JD, Bogdanchikova N, Huerta-Saquero A. Toxicity of silver nanoparticles in biological systems: Does the complexity of biological systems matter? Toxicology letters. 2017; 276:11–20.

170. Tarannum N, Divya, Gautam YK. Facile green synthesis and applications of silver nanoparticles: a state-of-the-art review. RSC Adv. 2019; 9(60):34926–34948.

171. Dey Bhowmik A, Bandyopadhyay A, Chattopadhyay A. Cytotoxic and mutagenic effects of green silver nanoparticles in cancer and normal cells: a brief review. The Nucleus. 2019; 62:277–285.

172. Saravanan M, Arokiyaraj S, Lakshmi T, Pugazhendhi A. Synthesis of silver nanoparticles from Phenerochaete chrysosporium (MTCC-787) and their antibacterial activity against human pathogenic bacteria. Microbial Pathogenesis. 2018;117:68–72.

173. OECD Guideline for testung of Chemicals, “Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method,” 2002. doi: 10.1787/9789264071001.

174. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, “Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents,” 2018. doi: https://doi.org/10.1787/20745788.

175. IslaM S, Akter N, Rahman MM, Shi C, Islam MT, Zeng , Azam MS. Mussel-inspired immobilization of silver nanoparticles toward antimicrobial cellulose paper. ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2018; 6(7):9178-9188.

176. Nguyen HL, Jo YK, Cha M, Cha YG, Yoon DK, Sanandyia ND, Prajatelistia E, Oh DX, Hwang DS. Mussel-inspired anisotropic nanocellulose and silver nanoparticle composite with improved mechanical properties, electrical conductivity and antibacterial activity. Polymers. 2016; 8(3):102.

177. Ahmad A, Wei Y, Syed F, Tahir K, Rehman AU, Khan A, Ullah S, Yuan Q. The effects of bacteria-nanoparticles interface on the antibacterial activity of green synthesized silver nanoparticles. Microb. Pathog. 2017; 102: 133–142.

178. Tang S, Zheng J. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. Adv Healthc Mater. 2018; 7(13): e1701503

179. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Ramirez JT. The bactericidal effect of silver nanoparticles .Nanotechnology. 2005.16:2346-2350.

180. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for gram-negative bacteria. J Colloid Interface Sci. 2004. 275: 177-182.

181. Zhao J, Castranova V. Toxicology of nanomaterials used in nanomedicine. J Toxicol Environ Health B Grit Rev. 2011;14 (8): 593-632.

182. Dkhil MA, Al-Quraishy S, Diab MM, Othman MS, Aref AM, Abdel Moneim AE. The potential protective role of Physalis peruviana L. fruit in cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity.Food and Chemical Toxicology:an international journal published for the British Industrial Biological Research Association. 2014; 74:98–106.

183. Di Naso FC, Simões Dias A, Porawski M, Marroni NA. Exogenous superoxide dismutase: action on liver oxidative stress in animals with Streptozotocin-Induced Diabetes. Experimental Diabetes Research. 2011; 2011:754132.

184. Maiti S, Ali KM, Jana K, Chatterjee K, De D, Ghosh D. Ameliorating effect of mother tincture of Syzygium jambolanum on carbohydrate and lipid metabolic disorders in

streptozotocin-induced diabetic rat: Homeopathic remedy. Journal of natural science, biology and medicine. 2013; 4(1): 68–73.

185. Lala V, Zubair M, Minter DA. Liver Function Tests, 2023;

186. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver function tests. enzyme alteration: A guide for clinicians. CMAJ. 2005; 172 (3):367–379.

187. Yang X, Gondikas AP, Marinakos SM, Auffan M, Liu J, Hsu-Kim H, Meyer JN. Mechanism of silver nanoparticle toxicity is dependent on dissolved silver and surface coating in Caenorhabditis elegans . Environmenthal science & technology. 2012; 46(2):1119-1127.

188. Nel A, Xia T, Madler L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel Science. 2006; 311(5761) :622-627.

189. Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J.Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. Environmental Health Perspectives.2005; 113 (7): 823-839.

190. Winterbourn CC. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. Nat. Chem. Biol. 2008; 4 (5): – 278-286.

191. Franco R, Sanchez-Olea R, Reyes-Reyes EM, Panayiotidis MI. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: menage a trios. Mutat. Res.2009; 674(1-2):3-22.

192. Miethling-Graff R, Rumpke R, Richter M, Verano-Braga T, Kjeldsen TF, Brewer Hoyland J, Rubahn HG, Erdmann H. Exposure to silver nanoparticles induces size- and dosedependent oxidative stress and cytotoxicity in human colon carcinoma cells. Toxicol InVitro. 2014; 28 (7):1280-1289.

193. Soderstjerna E, Bauer P, Cedervall T, Abdshill H, Johansson F, Johansson UE. Silver and Gold Nanoparticles Exposure to InVitro Cultured Retina – Studies on Nanoparticle Internalization, Apoptosis, Oxidative Stress, Glial- and Microglial Activity.PLoS ONE. 2014; 9(8).

194. Hua X, Li HW, Long YT.Investigation of Silver Nanoparticle Induced Lipids Changes on a Single Cell Surface by Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry.Analytical Chemistry. 2017; 9(2):1072-1076.

195. Konstandi M, Shah YM, Matsubara T, Gonzalez FJ. Role of PPARα and HNF4α in Stress-Mediated Alterations in Lipid Homeostasis. PLoS One. 2013; 8 (8):e70675.

196. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol Adv. 2009;27(1):76–83.

197. Sambhy V, MacBride MM, Peterson BR, Sen A. Silver bromide nanoparticle/polymer composites: dual action tunable antimicrobial materials. J Am Chem Soc. 2006;128(30):9798–9808.

3.2 გამოქვეყნებული ნაშრომების სია

1. **Nino Kiria,** Teona Avaliani, Nino Bablishvili, Nino Chichiveishvili, Giorgi Phichkhaia, Lali Sharvadze, Nana Kiria. Efficacy and safety of silver nanocomposites on rifampicin-resiistant M. tuberculosis strains. Georgian Medical News. 2024; 6(351):102-108. https://www.geomednews.com/Articles/2024/6_2024/102-108.pdf
2. Teona Avaliani, **Nino Kiria**, Nino Bablishvili, Giorgi Phichkhaia, Lali Sharvadze, Nana Kiria. Usage of silver nanoparticles to restore moxifloxacin efficacy for fluoroquinolone-resistant M. tuberculosis cultures. Georgian Medical News. 2024; 9(354):6-12. https://www.geomednews.com/Articles/2024/9_2024/6-12.pdf
3. **ნინო ქირია,** თეონა ავალიანი, ნინო ბაბლიშვილი, გიორგი ფიჩხაია, ნანა ქირია. ვერცხლის ნანონაწილაკების მაინჰიბირებელი ეფექტის შესწავლა ექსტენსიურად რეზისტენტული ტუბერკულოზის მიკობაქტერიის შტამებზე. სამეცნიერო. ჟურნალი სპექტრი. 2024; 9(1). DOI: https://doi.org/10.52340/spectri.2024.09.01.12
4. **Nino Kiria**, Teona Avaliani, Giorgi Phichkhaia, Nino Bablishvili, Nana Kiria. Usage of Silver Nanoparticles to Restore Rifampicin Efficacy for Rifampicin-Resistant M.Tuberculosis Cultures. ERS International Congress abstracts. 2023; DOI: https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2023.PA1053
5. Teona Avaliani, **Nino Kiria**, Giorgi Phichkhaia, Nino Bablishvili, Nana Kiria. Study of Moxifloxacin and Silver Nanoparticle Composite Efficacy on pre-XDR Mycobacterium

Tuberculosis Strains. ERS International Congress 2023 abstracts.2023. DOI: https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2023.PA4545

6. **Nino Kiria**, Teona Avaliani, Giorgi Phichkhaia, Nino Bablishvili, Nana Kiria. Study of rifampicin and silver nanoparticle composite efficacy on rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains. ERS International Congress 2022 abstracts. 2022; DOI: https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2022.1198
7. Teona Avaliani, **Nino Kiria,** Giorgi Phichkhaia, Nino Bablishvili, Nana Kiria. Usage of silver nanoparticles to restore Moxifloxacin efficacy for fluoroquinolone-resistant M.tuberculosis cultures. ERS International Congress abstracts. 2022. DOI: https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2022.1592
8. ნინო ქირია, თეონა ავალიანი, ლალი შარვაძე, გიორგი ფიჩხაია, ნანა ქირია. ნანოტექნოლოგიები-რეზისტენტულ ტუბერკულოზთან ბრძოლის პერსპექტიული მიმართულება.საქართველოს რესპირაციული ჟურნალი. 2022; 18(1):26-33.
9. თეონა ავალიანი, ნინო ქირია, ლალი შარვაძე, გიორგი ფიჩხაია, ნანა ქირია. ვერცხლის ნანონაწილაკების გამოყენების პერსპექტივები რეზისტენტული ტუბერკულოზის მკურნალობაში.საქართველოს რესპირაციული ჟურნალი. 2022; 18(1):22-25.

3.3 მოხსენებები ნაშრომის თემაზე

1. Usage of Silver Nanoparticles to Restore Rifampicin Efficacy for Rifampicin-Resistant M.Tuberculosis Cultures. ევროპის რესპირაციული საზოგადოების ყოველწლიური კონგრესი. 09-13.09.2023, მილანი, იტალია
2. Study of rifampicin and silver nanoparticle composite efficacy on rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis strains. ევროპის რესპირაციული საზოგადოების ყოველწლიური კონგრესი. 04-06.09.2022, ბარსელონა, ესპანეთი

3. New challenges in the management of Rifampicin Resistant Tuberculosis (RR-TB). Fifth International Scientific conference on" Seeking ways to eliminate TB in Asia". 15-16.09. 2022, ულან ბატორი, მონღოლეთი.

3.4. დანართები

დანართი 1. ბიოქიმიური ტესტების განხორციელების მეთოდიკა და საჭირო მასალები

- Albumin liquicolor კოლორიმეტრული ტესტი

კატ. #10560 1x1000მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #156004 4x100მლ ტესტების სრული ნაკრები

ნაკრების შემადგენლობა:

2.STD 1x 3 მლ – ალბუმინის სტანდარტი

რეაგენტის მომზადება:

ფერადი ხსნარი და სტანდარტი მზა მდგომარეობაშია.

რეაგენტის სტაბილურობა:

რეაგენტი სტაბილურია ყუთზე მითითებული შენახვის ვადის განმავლობაში. ინახება 2-2,5^{0}C. გახსნის შემდეგ უნდა მოერიდოთ რეაგენტების დაბინძურებას.

ნიმუშები:

შრატი ჰეპარინიზებული ან EDTA პლაზმა.

შრატი სტაბილურია 1 თვემდე 2-8^{0}C ან 1 კვირამდე 15-25^{0}C.

ცდის პირობები:

ტალღის სიგრძე: Hg 546 ნმ;

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 20 - 25^{0}C;

გაზომვები: რეაგენტის ბლანკის მიმართ.

ჩაწვეთების სქემა: რეაგენტები, კიუვეტები უნდა გავათბოთ ოთახის ტემპერატურამდე და სტაბილურობა უნდა შენარჩუნდეს მთელი ცდის განმავლობაში.

ჩაწვეთება კიუვეტებში	რეაგენტის ბლანკი	სტანდარტი	სინჯი
სტანდარტი	---	10მკლ	---
სინჯი	---	---	10მკლ
ფერადი რეაგენტი	1000მკლ	1000მკლ	1000მკლ
კიუვეტი შევანჯღრიოთ, ინკუბაცია 5წთ 20-25^{0}C. გავზომოთ სინჯისა და სტანდარტის შთანთქმის მნიშვნელობები ΔAბლანკის მიმართ 30 წთ განმავლობაში			

<u>ალბუმინის კონცენტრაციის განსაზღვრა:</u>

$$C = 4x \frac{\Delta A \text{ სინჯი}}{\Delta A \text{ სტანდარტი}} \quad [\text{გ/დლ}]$$

$$C = 40x \frac{\Delta A \text{ სინჯი}}{\Delta A \text{ სტანდარტი}} \quad [\text{გ/ლ}]$$

<u>წრფივობა</u>

ტესტი წრფივია 6,5გ/დლ ან 65გ/ლ ალბუმინის კონცენტრაციამდე, მეტი კონცენტრაციების შემთხვევაში სინჯი უნდა განზავდეს 1+1 თანაფარდობით ფიზიოლოგიურ (0,9%) ხსნარში და ცდა უნდა განმეორდეს. შედეგი უნდა გამრავლდეს 2-ზე. ნორმა პლაზმაში ან შრატში 3,8-5,1გ/დლ ან 38-51გ/ლ.

- <u>**Cholesterol liquicolor ფერმენტულ-კოლორიმეტრული ტესტი ქოლესტერინის განსაზღვრისთვის ლიპიდების გამწმენდი ფაქტორით.**</u>

კატ. #10017 4x30მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #10019 3x250მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #10028 4x100მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #10015 9x3მლ სტანდარტი

<u>ნაკრების შემადგენლობა:</u>

1. RGT. 4x30ml ფერმენტული რეაგენტი

   3x250მლl

   4x100მლ

2.STD 3 მლ ქოლესტერინისსტანდარტი

<u>რეაგენტის მომზადება:</u>

ფერმენტული რეაგენტი და სტანდარტი მზა მდგომარეობაშია.

<u>რეაგენტის სტაბილურობა:</u>

გახსნის შემდეგ რეაგენტები სტაბილურია ყუთზე მითითებული შენახვის ვადის განმავლობაში 2-8^{0}C ან 2 კვირის განმავლობაში15-25^{0}C გახსნის შემდეგ უნდა მოერიდოთ რეაგენტების დაბინძურებას.

<u>ნიმუშები:</u>

შრატი ჰეპარინიზებული ან EDTA პლაზმა.

შრატი სტაბილურია 1 თვემდე 2-8^{0}C ან 1 კვირამდე 15-25^{0}C.

<u>შენიშვნა:</u>

ჩვეულებრივ, ცხიმოვანი ნიმუშები იწვევს სინჯისა და რეაგენტის ნარევის შემღვრევას, რასაც მივყავართ მცდარ შედეგამდე. ამას ადგილი არა აქვს ჰუმანის წარმოების ქოლესტერინის ტესტში, რადგან იგი შეიცავს ცხიმის გამწმენდ ფაქტორს (LCF). LCF მთლიანად წმენდს ნიმუშის ცხიმიანობით გამოწვეულ სიმღვრივეს.

ცდის პირობები:

ტალღის სიგრძე: 500 ნმ Hg 546 ნმ;

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 20 - 25^{0}C ან 37^{0}C;

გაზომვები: რეაგენტის ბლანკის მიმართ.

ჩაწვეთების სქემა:

ჩაწვეთება კიუვეტებში	რეაგენტის ბლანკი	სტანდარტი	სინჯი
სტანდარტი	---	10მკლ	---
სინჯი	---	---	10მკლ
ფერადი რეაგენტი	1000მკლ	1000მკლ	1000მკლ
კიუვეტი შევანჯღრიოთ, ინკუბაცია 10წთ 20-25^{0}C ან 5 წთ 37^{0}C. გავზომოთ სინჯისა (ΔAსინჯი) და სტანდარტის(ΔAსტანდ,) შთანთქმის მნიშვნელობები რეაგენტ ბლანკის მიმართ 60 წთ განმავლობაში			

<u>ქოლესტერინის კონცენტრაციის განსაზღვრა</u>

ფაქტორით:

ტალღის სიგრძე	მგ/დლ	მმოლ/ლ
Hg 546 ნმ	840x ΔA	21,7x ΔA
500ნმ	553x ΔA	14,3x ΔA

სტანდარტით:

“Human-is” მიერ რეკომენდირებული სტანდარტი კატ. # 10015

$$C = 5{,}17 \times \frac{\Delta A \text{ სინჯი}}{\Delta A \text{ სტანდარტი}} \quad [\text{მმოლ/ლ}]$$

ΔA სინჯი

C= 200 x ---------- [მგ/დლ]

ΔA სტანდარტი

<u>წრფივობა</u>

ტესტი წრფივია 750მგ/დლ ან 19,3 მმოლ/ლ ქოლესტერინის კონცენტრაციამდე. მაღალი კონცენტრაციების შემთხვევაში სინჯები უნდა განზავდეს 1+2 თანაფარდობით ფიზიოლოგიურ (0,9%) ხსნარში და ცდა უნდა განმეორდეს. მიღებული შედეგი უნდა გამრავლდეს 3-ზე.

ნორმა

საეჭვო	220 მგ/დლ	5,7 მმოლ/ლ
მეტი	260 მგ/დლ	6,7 მმოლ/ლ

- <u>Creatinine liquicolor -ფოტომეტრული-კოლორიმეტრული ტესტი კინეტიკური გაზომვისათის დეპროტეინიზაციის გარეშე</u>

კატ. #10051 200 მლ სრული ნაკრები

<u>ნაკრების შემადგენლობა:</u>

1.PIC 1 x 100მლ პიკრინის მჟავა

2. NAOH 1 x 100 მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდი

3. STD 1 x 25 მლ კრეატინინის სტანდარტი

<u>რეაგენტის მომზადება:</u>

ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (NAOH) უნდა განზავდეს გამოხდილ წყალში 1:4 თანაფარდობით 25^0C -ზე მუშაობის პირობებში. 37^0C -ზე მუშაობის პირობებში კი ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (NAOH) უნდა განზავდეს გამოხდილ წყალში 1:7 თანაფარდობით. ხსნარი შევინახოთ პლასტმასის ბოთლში. პიკრინის მჟავა (PIC) შევურიოთ განზავებულ ნატრიუმის ჰიდროქსიდს (NAOH) 1:1 თანაფარდობით. სტანდარტი მზა მდგომარეობაშია.

რეაგენტის სტაბილურობა:

გახსნის შემდეგ რეაგენტები სტაბილურია ყუთზე მითითებული შენახვის ვადის განმავლობაში 15-25^{0}C . სამუშაო რეაგენტი სტაბილურია 4 კვირის განმავლობაში 15-25^{0}C.

ნიმუშები:

შრატი, ჰეპარინიზებული პლაზმა ან შარდი. უნდა მოერიდოთ ჰემოლიზს.

შრატი სტაბილურია 24სთ 2-8^{0}C. შარდი უნდა განზავდეს გამოხდილ წყალში1:49 თანაფარდობით.

ცდის პირობები:

ტალღის სიგრძე: Hg 492 ნმ (490 – 510 ნმ);

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 25^{0}C / 37^{0}C;

გაზომვები: ჰაერის მიმართ.

რეაგენტები და კიუვეტები უნდა გავათბოთ ჰაერის ტემპერატურაზე და ეს ტემპერატურა უნდა შენარჩუნდეს მთელი ცდის განმავლობაში.

ჩაწვეთების სქემა:

ჩაწვეთება კიუვეტებში	ნახევრად მიკრო	მაკრო
სტანდარტი	100 მკლ	200 მკლ
სინჯი	100 მკლ	200 მკლ
სამუშაო რეაგენტი	1000 მკლ	2000 მკლ
კიუვეტი შევანჯღრიოთ და ჩავრთოთ წამზომი. 30წმ0ს შემდეგ წავიკითხოთ აბსორბციის მნიშვნელობა A_1. ზუსტად 2 წუთის შემდეგ წავიკითხოთ აბსორბციის მნიშვნელობა A_2. $A_2 - A_1 = \Delta A_{\text{სინჯი}}$ ან $\Delta A_{\text{სტანდარტი}}$		

<u>კალკულაცია:</u>

1. შრატი/პლაზმა

გამოყენებულ უნდა იქნას მხოლოდ ნაკრებში არსებული სტანდარტი

$$C = 2{,}0 \times \frac{\Delta A_{\text{სინჯი}}}{\Delta A_{\text{სტანდარტი}}} \quad [\text{მგ/დლ}]$$

ან

$$C = 176{,}8 \times \frac{\Delta A_{\text{სინჯი}}}{\Delta A_{\text{სტანდარტი}}} \quad [\text{მმოლ/ლ}]$$

2. შარდი

$$C = 100 \times \frac{\Delta A_{\text{სინჯი}}}{\Delta A_{\text{სტანდარტი}}} \quad [\text{მგ/დლ}]$$

ან

კრეატინინის კონცენტრაცია 24 სთ შარდში.

C=მგ/დლ x მლ შარდი/24სთ x 0,01[მგ/24სთ]

C=მგ/დლ x 0,00884 [მმოლ/24სთ]

$$\text{კრეატინინის სისუფთავე} = \frac{\text{მგ კრეატ/დლ შარდი x მლ შარდი/24სთ}}{\text{მგ კრეატ/დლ შრატი x 1440}} \quad [\text{მლ/წთ}]$$

გადამყვანი კოეფიციენტები მგ/დლ-დან მკმოლ/ლ-ზე და პირიქით:

[მგ/დლ] x 88.402 = [მკმოლ/ლ]

[მკმოლ/ლ] x 0.0113 =[მგ/დლ]

<u>წრფივობა</u>

ტესტი წრფივია 13 მგ/დლ ან 1150 მკმოლ/ლ, ხოლო შარდში 500 მგ/დლ ან 44200 მმოლ/ლ კრეატინინის კონცენტრაციამდე. კრეატინინის მაღალი კონცენტრაციების შემთხვევაში სინჯები უნდა განზავდეს 1:5 თანაფარდობით ფიზიოლოგიურ (0,9%) ხსნარში და ცდა უნდა განმეორდეს. მიღებული შედეგი უნდა გამრავლდეს 6-ზე. ნორმალური სიდიდეები:

შრატი	მგ/დლ	მკმოლი/ლ
მამაკაცები	0,6-1,1	53-97
ქალები	0,5-0,9	44-80
შარდი	1000-1500მგ/24სთ	
მამაკაცები	კრეატინინის სისუფთავე 98-156 მლ/წთ	
ქალები	95-160 მლ/წთ	

- <u>Glucosae liquicolor - ფერმენტული კოლორიმეტრული მეთოდი დეპროტეინიზაციის გარეშე</u>

კატ. #10121 1000 მლ ფერმენტული რეაგენტი

კატ. #10260 4x100 მლ ფერმენტული რეაგენტი

კატ. #10123 9x3 მლ მლ ფერმენტული რეაგენტი

<u>ნაკრების შემადგენლობა:</u>

1. RGT x 100მლ ან
2. STD 3 მლ სტანდარტი

<u>რეაგენტის მომზადება:</u>

რეაგენტი და სტანდარტი მზა მდგომარეობაშია

რეაგენტის სტაბილურობა:

რეაგენტები სტაბილურია გახსნის შემდეგაც ყუთზე მითითებული შენახვის ვადის განმავლობაში 2-8^{0}C შენახვის პირობებში. 15-25^{0}C შენახვის პირობებშიფერმენტული რეაგენტები სტაბილურია 2 კვირის განმავლობაში გახსნიდან. ერიდეთ რეაგენტების დაბინძურებას.

ნიმუშები:

შრატი, პლაზმა .

გლუკოზა სტაბილურია 24სთ 2-8^{0}C< თუ შრატი ან პლაზმა მომზადდება სისხლის აღებიდან 30 წთ განმავლობაში.

ცდის პირობები:

ტალღის სიგრძე: 500ნმ Hg 446 ნმ;

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 25^{0}C / 37^{0}C;

გაზომვები: ბლანკის მიმართ.

ჩაწვეთების სქემა:

ჩააწვეთეთ კიუვეტებში	მაკრო მეთოდი			ნახევრად მიკრო მეთოდი		
	რეაგენ. ბლანკი	სტან.	სინჯი	რეაგენ. ბლანკი	სტან.	სინჯი
სტანდარტი	---	20		---	10	
სინჯი			20			10
რეაგენტი	2000	2000	2000	1000	1000	1000
შევანჯღრიოთ, გავაკეთოთ ინკუბაცია 10წთ 20^{0}C -25^{0}C ან 5 წთ 37^{0}C. გაზომეთ სტანდარტი და სინჯის შთანთქმის მნიშვნელობა რეაგენტის ბლანკის მიმართ 60 წთ-ში (ΔA)						

გლუკოზის კონცენტრაციის განსაზღვრა:

$$C = 100 \times \frac{\Delta A_{\text{სინჯი}}}{\Delta A_{\text{სტანდარტი}}} \quad [\text{მგ/დლ}]$$

ან

$$C = 5{,}55 \times \frac{\Delta A_{\text{სინჯი}}}{\Delta A_{\text{სტანდარტი}}} \quad [\text{მმოლ/ლ}]$$

<u>წრფივობა</u>

ტესტი წრფივია 400 მგ/დლ ან 22.2 მკმოლ/ლ გლუკოზის კონცენტრაციამდე. გლუკოზის მაღალი კონცენტრაციების შემთხვევაში სინჯი უნდა განზავდეს გამოხდილ წყალში, ცდა უნდა განმეორდეს და მიღებული შედეგუ გამრავლდეს 3-ზე.

- **GOT(ASAT) IFCC mod. liquiUV** ტესტი. ასპარტატ ამინორტრანსფერაზას განსაზღვრა კინეტიკური მეთოდით

კატ. #12011 10 x10 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #12021 8 x50 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #12031 4 x250 მლ ტესტების სრული ნაკრები

<u>ნაკრების შემადგენლობა:</u>

კატ. #12011, 12021,12031

BUF(R_1) 10 x 8 მლ 8 x 40მლ 4 x 200მლ

SUB(R_2) 2x10 მლ 8 x 10 მლ 4 x 50მლ

რეაგენტის მომზადება და სტაბილურობა:

პროცედურა 1 რეაგენტით

რეაგენტი და სტანდარტი მზა მდგომარეობაშია.რეაგენტის შნახვის ვადა მთითებულია ყუთზე და ინახება 2-8^{0}C. გახსნის შემდეგ ერიდეთ რეაგენტების დაბინძურებას.

პროცედურა 2 სინჯით

12021,12031: SUB ერთი ბოთლი მთლიანად გახსენით BUF ერთ ბოთლში.ნარევი კარგად უნდა აირიოს.

12011: ჩააწვეთეთ 2 მლ SUB ერთ ბოთლ BUF, ნარევი კარგად უნდა აირიოს.

სამუშაო რეაგენტები სტაბილურია 4 კვირა 2-8^{0}C და 5 დღე 15-25^{0}C .

ნიმუშები:

შრატი, ჰეპარინიზებული ან EDTA პლაზმა . ერიდეთ ჰემოლიზს.

3 დღის განმავლობაში შრატის აწტიურობა კლებულობს 4^{0}C-ზე 8%-ით და 20^0-25^{0}C -ზე 10%-ით.

ცდის პირობები:

ტალღის სიგრძე: 365 ნმ, 340 ნმ ან Hg 334 ნმ;

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 25^{0}C , 30^{0}C ან 37^{0}C;

გაზომვები: ჰაერის მიმართ.

ჩაწვეთების სქემა:

რეაგენტები, კიუვეტები უნდა გათბეს შესაბამის ტემპერატურამდე და ტემპერატურა უნდა შენარჩუნდეს მთელი ცდის განმავლობაში.

პროცედურა 1 რეაგენტით

ჩააწვეთეთ კიუვეტებში	25^{0}C; 30^{0}C	37^{0}C
სინჯი	200მკლ	200მკლ
BUF	1000მკლ	1000მკლ

შეანჯღრიეთ, ინკუბაცია 5წთ შესაბამის ტემპერატურაზე		
SUB	250მკლ	250მკლ
შეანჯღრიეთ, წაიკითხეთ შთანთქმის მნიშვნელობა1 წთ-ის შემდეგ, ჩართეთ წამზომი და წაიკითხეთშთანთქმის მნიშვნელობა1,2 და 3 წთ-ის შემდეგ		

პროცედურა 2 სინჯით

ჩააწვეთეთ კიუვეტებში	25^0C; 30^0C	37^0C
სინჯი	200მკლ	100მკლ
სამუშაო რეაგენტი	1000მკლ	1000მკლ
შეანჯღრიეთ, წაიკითხეთ შთანთქმის მნიშვნელობა1 წთ-ის შემდეგ, ჩართეთ წამზომი და წაიკითხეთშთანთქმის მნიშვნელობა1,2 და 3 წთ-ის შემდეგ		

ნახევრად მიკრო მეთოდი. მაკრო მეთოდისათვის მოცულობები უნდა გაორმაგდეს.

კალკულაცია:

როდესაც აბსორბციული ცვალებადობა წუთში (ΔA/წთ) არის 0.06-0.08 (Hg 365 nm) ან 0.12-0.16 (Hg 334 ნმ, 340 ნმ), კალკულაციისათვის გამოიყენება მხოლოდ პირველი 2წთ-ის გაზომვები. GOT(ASAT)-ის აქტივობა სინჯში გამოითვლება შემდეგი ფაქტორების გამოყენებით:

პროცედურა 1 რეაგენტით

	Hg 334 ნმ	334 ნმ	Hg 365 ნმ
U/I 25^0C, 30^0C=ΔA/minx	1173	1151	2132
U/I 37^0C= ΔA/minx	2184	2143	3971

პროცედურა 2 სინჯით

	Hg 334 ნმ	334 ნმ	Hg 365 ნმ
U/I 25^{0}C, 30^{0}C=ΔA/minx	971	952	1765
U/I 37^{0}C= ΔA/minx	1780	1745	3235

<u>წრფივობა</u>

როდესაც აბსორბციული ცვალებადობა წუთში (ΔA/min) გადააჭარბებს

25^{0}C, 30^{0}C, 37^{0}C

Hg 365 ნმ ΔA/min=0.08 ან 170 U/I 320 U/I

Hg 334/340 ნმ, ΔA/min=0.16 ან 190 U/I 350 U/I

განაზავეთ 0,1მლ სინჯი 0,9 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში და ცდა უნდა განმეორდეს. შედეგი უნდა გამრავლდეს 10-ზე.

- **GPT (ALAT) IFCC mod. liquiUV** ტესტი. ალანინ ამინოტრანსფერაზას განსაზღვრა კინეტიკური მეთოდით

კატ. #12012 10 x10 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #12022 8 x50 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #12032 4 x250 მლ ტესტების სრული ნაკრები

<u>ნაკრების შემადგენლობა:</u>

კატ. #12012, 12022,12032

BUF(R_1) 10 x 8 მლ 8 x 40მლ 4 x 200მლ

SUB(R_2) 2x10 მლ 8 x 10 მლ 4 x 50მლ

<u>რეაგენტის მომზადება და სტაბილურობა:</u>

პროცედურა 1 რეაგენტით

რეაგენტი მზა მდგომარეობაშია.რეაგენტის შენახვის ვადა მითითებულია ყუთზე და ინახება 2-8^{0}C. გახსნის შემდეგ ერიდეთ რეაგენტების დაბინძურებას.

პროცედურა 2 სინჯით

12022,12032: SUB ერთი ბოთლი მთლიანად გახსენით BUF ერთ ბოთლში.ნარევი კარგად უნდა აირიოს.

12012: ჩააწვეთეთ 2 მლ SUB ერთ ბოთლ BUF, ნარევი კარგად უნდა აირიოს.

სამუშაო რეაგენტები სტაბილურია 4 კვირა 2-8^{0}C და 5 დღე 15-25^{0}C .

<u>ნიმუშები:</u>

შრატი, ჰეპარინიზებული ან EDTA პლაზმა . ერიდეთ ჰემოლიზს. 3 დღის განმავლობაში შრატის აქტიურობა კლებულობს 4^{0}C-ზე 8%-ით და 20^0-25^{0}C -ზე 10%-ით.

ცდის პირობები:

ტალღის სიგრძე: Hg 365 ნმ, 340 ნმ ან Hg 334 ნმ;

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 25^{0}C , 30^{0}C ან 37^{0}C;

გაზომვები: ჰაერის მიმართ.

<u>ჩაწვეთების სქემა:</u>

რეაგენტები, კიუვეტები უნდა გათბეს შესაბამის ტემპერატურამდე და შეინარჩუნეთ სტაბილურობა მთელი ცდის განმავლობაში.

პროცედურა 1 რეაგენტით

ჩააწვეთეთ კიუვეტებში	25^{0}C; 30^{0}C	37^{0}C
სინჯი	200მკლ	200მკლ
BUF	1000მკლ	1000მკლ

შეანჯღრიეთ, ინკუბაცია 5წთ შესაბამის ტემპერატურაზე		
SUB	250მკლ	250მკლ
შეანჯღრიეთ, წაიკითხეთ შთანთქმის მნიშვნელობა1 წთ-ის შემდეგ, ჩართეთ წამზომი და წაიკითხეთშთანთქმის მნიშვნელობა1,2 და 3 წთ-ის შემდეგ		

პროცედურა 2 სინჯით

ჩააწვეთეთ კიუვეტებში	25^0C; 30^0C	37^0C
სინჯი	200მკლ	100მკლ
სამუშაო რეაგენტი	1000მკლ	1000მკლ
შეანჯღრიეთ, წაიკითხეთ შთანთქმის მნიშვნელობა1 წთ-ის შემდეგ, ჩართეთ წამზომი და წაიკითხეთშთანთქმის მნიშვნელობა1,2 და 3 წთ-ის შემდეგ		

ნახევრად მიკრო მეთოდი. მაკრო მეთოდისათვის მოცულობები უნდა გაორმაგდეს.

<u>კალკულაცია:</u>

როდესაც აბსორბციული ცვალებადობა წუთში (ΔA/წთ) არის 0.06-0.08 (Hg 365 ნმ) ან 0.12-0.16 (Hg 334 ნმ, 340 ნმ), კალკულაციისათვის გამოიყენება მხოლოდ პირველი 2წთ-ის გაზომვები. GPT(ALAT)-ის აქტივობა სინჯში გამოითვლება შემდეგი ფაქტორების გამოყენებით:

პროცედურა 1 რეაგენტით

	Hg 334 ნმ	334 ნმ	Hg 365 ნმ
U/I 25^0C, 30^0C=ΔA/minx	1173	1151	2132
U/I 37^0C= ΔA/minx	2184	2143	3971

პროცედურა 2 სინჯით

	Hg 334 ნმ	334 ნმ	Hg 365 ნმ
U/I 25^0C, 30^0C=ΔA/minx	971	952	1765
U/I 37^0C= ΔA/minx	1780	1745	3235

<u>წრფივობა</u>

როდესაც აბსორბციული ცვალებადობა წუთში (ΔA/min) გადააჭარბებს

25^0C, 30^0C, 37^0C

Hg 365 ნმ ΔA/min=0.08 ან 170 U/I 320 U/I

Hg 334/340 ნმ, ΔA/min=0.16 ან 190 U/I 350 U/I

განაზავეთ 0,1მლ სინჯი 0,9 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში და ცდა უნდა განმეორდეს. შედეგი უნდა გამრავლდეს 10-ზე.

- **GPT (ALAT) IFCC mod. liquiUV** ტესტი. ალანინ ამინოტრანსფერაზას განსაზღვრა კინეტიკური მეთოდით

კატ. #12012 10 x10 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #12022 8 x50 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #12032 4 x250 მლ ტესტების სრული ნაკრები

<u>ნაკრების შემადგენლობა:</u>

კატ. #12012, 12022,12032

BUF(R_1) 10 x 8 მლ 8 x 40მლ 4 x 200მლ

SUB(R_2) 2x10 მლ 8 x 10 მლ 4 x 50მლ

<u>რეაგენტის მომზადება და სტაბილურობა:</u>

პროცედურა 1 რეაგენტით

რეაგენტი მზა მდგომარეობაშია.რეაგენტის შენახვის ვადა მითითებულია ყუთზე და ინახება 2-8^{0}C. გახსნის შემდეგ ერიდეთ რეაგენტების დაბინძურებას.

პროცედურა 2 სინჯით

12022,12032: SUB ერთი ბოთლი მთლიანად გახსენით BUF ერთ ბოთლში.ნარევი კარგად უნდა აირიოს.

12012: ჩააწვეთეთ 2 მლ SUB ერთ ბოთლ BUF, ნარევი კარგად უნდა აირიოს.

სამუშაო რეაგენტები სტაბილურია 4 კვირა 2-8^{0}C და 5 დღე 15-25^{0}C .

<u>ნიმუშები:</u>

შრატი, ჰეპარინიზებული ან EDTA პლაზმა. ერიდეთ ჰემოლიზს.

3 დღის განმავლობაში შრატის აქტიურობა კლებულობს 4^{0}C-ზე 8%-ით და 20^0-25^{0}C -ზე 10%-ით.

ცდის პირობები:

ტალღის სიგრძე: Hg 365 ნმ, 340 ნმ ან Hg 334 ნმ;

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 25^{0}C , 30^{0}C ან 37^{0}C;

გაზომვები: ჰაერის მიმართ.

<u>ჩაწვეთების სქემა:</u>

რეაგენტები, კიუვეტები უნდა გათბეს შესაბამის ტემპერატურამდე და შეინარჩუნეთ სტაბილურობა მთელი ცდის განმავლობაში.

პროცედურა 1 რეაგენტით

ჩააწვეთეთ კიუვეტებში	25^0C; 30^0C; 37^0C
სინჯი BUF	100მკლ 1000მკლ
SUB	250მკლ
შეანჯღრიეთ, წაიკითხეთ შთანთქმის მნიშვნელობა1 წთ-ის შემდეგ, ჩართეთ წამზომი და წაიკითხეთ შთანთქმის მნიშვნელობა1,2 და 3 წთ-ის შემდეგ	

პროცედურა 2 სინჯით

ჩააწვეთეთ კიუვეტებში	25^0C; 30^0C; 37^0C
სინჯი სამუშაო რეაგენტი	100მკლ 1000მკლ
შეანჯღრიეთ, წაიკითხეთ შთანთქმის მნიშვნელობა1 წთ-ის შემდეგ, ჩართეთ წამზომი და წაიკითხეთშთანთქმის მნიშვნელობა1,2 და 3 წთ-ის შემდეგ	

ნახევრად მიკრო მეთოდი. მაკრო მეთოდისათვის მოცულობები უნდა გაორმაგდეს.

კალკულაცია:

გამოთვალეთ GGT-ს აქტივობა სინჯში შემდეგი ფაქტორების გამოყენებით:

პროცედურა 1 (Hg 405 ნმ)

U/I ($25\ ^0$C, 30^0C, 37^0C)= ΔA/min x 1421

IFCC მეთოდისთვის ΔA/min x 1606

პროცედურა 2 (Hg 405 ნმ)

U/I (25 ^{0}C, 30^{0}C, 37^{0}C)= ΔA/min x 1158

IFCC მეთოდისთვის ΔA/min x 1309

<u>წრფივობა</u>

თუ წუთში სტანდარტული ცვლილება (ΔA/min) გადააჭარბებს 0,200-ს Hg 405 ნმ-ზე, მაშინ 0,1 მლ სინჯი უნდა განზავსეს 0,5 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში და მიღებული შედეგი უნდა გამრავლდეს 6-ზე.

HDL ქოლესტერინის კონცენტრაცია 150მგ/დლ-მდე წრფივია. თუ შრატში HDL ქოლესტერინის კონცენტრაცია მეტია ამ სიდიდეზე, მაშინ სინჯი უნდა განზავდეს ფიზიოლოგიურ ხსნარში1:1 თანაფარდობით და გამეორდეს ცდა, მიღებული შედეგი მრავლდება 2-ზე.

- **HDL Cholesterol liquicolor**

ფერმენტული კოლორიმეტრული ტესტი HDL ქოლესტერინის განსაზღვრისათვის

კატ. #10084 80 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #10284 200 მლ ტესტების სრული ნაკრები

HDL Cholesterol liquicolor წარმოადგენს ჰომოგენურ ფერმენტულ მეთოდს HDL ქოლესტერინის რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის. HDL განიხილება, როგორც დამცველი ლიპიდური კომპონენტი გულის კორონარული დაავადებების (CHD) განვითარების საწინააღმდეგოდ. იგი LDL ქოლესტერინთან ერთად აუცილებელია CHDის რისკ-ფაქტორის განსასაზღვრავად.

<u>ნაკრების შემადგენლობა:</u>

ENZ 1 x 60 მლ ფერმენტები

SUB 1 x 20 მლ სუბსტრატი

CAL 1 x 4 მლ კალიბრატორი

რეაგენტის მომზადება და სტაბილურობა:

ENZ და SUB რეაგენტი მზა მდგომარეობაშია.გახსნის შემდეგ რეაგენტის შენახვის ვადაა 2 თვე 2-8^{0}C. ერიდეთ რეაგენტების დაბინძურებას. არ გაყინოთ ENZ . დაიცავით მზის სინათლის ზემოქმედებისაგან.

კალიბრატორის შემადგენლობა გახსენით 4მლ გამოხდილ წყალში, თავი კარგად დაახურეთ, ანჯღრიეთ ფხვნილის სრულ გახსნამდე, ერიდეთ ქაფის წარმოქმნას. გამოყენებამდე გააჩერეთ 30 წთ.

გახსნილი კალიბრატორი სტაბილურია 10 დღემდე 2-8^{0}C. თუ გახსნილ კალიბრატორს გაყინავთ -20^{0}C, იგი ასეთ მდგომარეობაში სტაბილურობას შეინარჩუნებს 30 დღე. უმჯობესია გაყინოთ პორციებად. გაყინეთ მხოლოდ ერთხელ, გალღობისას კარგად აურიეთ.

ნიმუშები: შრატი, პლაზმა. რეკომენდირებულია ტესტირება სინჯის აღებისთანავე, წინააღმდეგ შემთხვევაში შრატი შეინახეთ 20 ^{0}C რამდენიმე კვირა, ერიდეთ განმეორებით გაყინვას და გალღობას.

პლაზმაში დასაშვებია ანტიკოაგულანტის შემდეგი კონცენტრაციები: EDTA–2Na < 1000მგ/ლ; ნატრიუმის ციტრატი <5000მგ/ლ; ჰეპარინი<50მგ/ლ; NaF<2000მგ/ლ. წინააღმდეგობას არ აქვს ადგილი ტრიგლიცერიდებისათვის 1200მგ/დლ-მდე, ჰემოგლობინისათვის 500მგ/დლ-მდე, ბილირუბინისათის 30მგ/დლ-მდე, ასკორბინის მჟავისათვის 50მგ/დლ-მდე, მცირედ შემღვრეული სინჯებისათვის. თუ ტრიგლიცერიდებიმეტია 1200მგ/დლ-ზე, მაშინ სინჯი უნდა განზავდეს ფიზიოლოგიურ ხსნარში (0,9% NaCl) 1:1 თანაფარდობით და მიღებული შედეგი გამრავლდეს 2-ზე.

<u>ცდის პირობები:</u>

ტალღის სიგრძე: Hg 578 ნმ, 593 ნმ, (570-610 ნმ) .

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 37^{0}C;

გაზომვები: რეაგენტის ბლანკის მიმართ.

პროცედურა (მანუალური):

რეაგენტები, კიუვეტები უნდა გათბეს 37^0C და აღნიშნული ტემპერატურა უნდა შენარჩუნდეს სტაბილურად მთელი ცდის განმავლობაში.

კალკულაცია: სინჯის კონცენტრაცია გამოითვლება შემდეგნაირად:

$$C_{სინჯი} = C_{კალიბრატორი} \times \frac{\Delta A \text{ სინჯი}}{\Delta A \text{ კალიბრატორი}} \text{ მგ/დლ}$$

კონვერსიის ფაქტორი

C (მგ/დლ) x 0.02586 = C (მმოლ/ლ)

წრფივობა

თუ წუთში სტანდარტული ცვლილება (ΔA/min) გადააჭარბებს 0,200-ს Hg 405 ნმ-ზე, მაშინ 0,1 მლ სინჯი უნდა განზავსეს 0,5 მლ ფიზიოლოგიურ ხსნარში და მიღებული შედეგი უნდა გამრავლდეს 6-ზე.

- **Triglycerides GPO-ტრიგლიცერიდების განმსაზღვრელი ფერმენტული კოლორიმეტრული მეთოდი ცხიმის გამწმენდი ფაქტორით**

კატ. #10720P 9x15 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #10724 4x100 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #10725 3x250 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #10163 9x 3 მლ სტანდარტი

ნაკრების შემადგენლობა:

1. RGT 4 x 100 მლ ან 3 x 250 მლ მონო რეაგენტი
2. STD 3მლ სტანდარტი

რეაგენტის მომზადება და სტაბილურობა:

მონო და სტანდარტული რეაგენტები მზა მდგომარეობაშია. რეაგენტები სტაბილურია 2-8^0C ყუთზე მითითებული შენახვის ვადის განმავლობაში. 20- 25^0C -ზე რეაგენტები

სტაბილურია 4 კვირის განმავლობაში. ერიდეთ რეაგენტების დაბინძურებას. დაიცავით მზის სინათლის ზემოქმედებისაგან.

ნიმუშები: შრატი, ჰეპარინიზებული ან EDTA პლაზმა.
სტაბილურობა - 3 დღე, 2-8^{0}C, 4 თვე კი -20^{0}C .

<u>შენიშვნა:</u>

ჩვეულებრივ ცხიმოვანი ნიმუშები წარმოქმნიან რეაგენტის სინჯის ნარევისს სიმღვრივეს, რასაც მივყავართ მომატებულ მცდარ შედეგამდე. ჰუმანის ტრიგლიცერიდების GPO ტესტი გამორიცხავს მცდარ მომატებულ შედეგებს, რადგან მასში გათვალისწინებულია ცხიმის გამწმენდი ფაქტორი (LCF). LCF წმენდს ინკუბაციის დროს წარმოქმნილ სიმღვრივეს, გამოწვეულს ცხიმოვანი ნიმუშებით.

<u>ცდის პირობები:</u>

ტალღის სიგრძე: 500 ნმ, Hg 546 ნმ.
ოპტიკური გზა: 1სმ;
ტემპერატურა: 20^{0}C; 25^{0}C; 37^{0}C;
გაზომვები: რეაგენტის ბლანკის მიმართ.

<u>ჩაწვეთების სქემა:</u>

ჩაწვეთება კიუვეტებში	რეაგენტის ბლანკი	სტანდარტი	სინჯი
სინჯი/სტანდარტი	---	10 მკლ	10 მკლ
რეაგენტი	1000 მკლ	1000 მკლ	1000 მკლ
კიუვეტი შევანჯღრიოთ, ინკუბაცია 10 წთ 20-25^{0}C ან 5 წთ 37^{0}C; უნდა გაიზომოს სინჯის (ΔA სინჯი) და სტანდარტის (ΔA სტანდარტი) შთანთქმის მნიშვნელობები რეაგენტ ბლანკის მიმართ 60წთ-ის განმავლობაში.			

ტრიგლიცერიდების კონცენტრაციის განსაზღვრა:

გამოყენებულ უნდა იქნას მხოლოდ „ჰუმანას“ წარმოების ტრიგლიცერიდების სტანდარტი.

$$C = 200 \times \frac{\Delta A \text{ სინჯი}}{\Delta A \text{ სტანდარტი}} \text{ [მგ/დლ]}$$

ან

$$C = 2{,}28 \times \frac{\Delta A \text{ სინჯი}}{\Delta A \text{ სტანდარტი}} \text{ [მმოლი/ლ]}$$

<u>წრფივობა</u>

ტესტი წრფივია 1000მგ/დლ ან 11,4 მმოლი/ლ ტრიგლიცერიდებამდე, სინჯები უფრო მაღალი კონცენტრაციებით უნდა განზავდეს ფიზიოლოგიურ ხსნარში 1:4 თანაფარდობი, შედეგები გამრავლდეს 5-ზე.

საეჭვო:>150მგ/დლ ან 1,71 მმოლი/ლ

მომატებული:>200 მგ/დლ ან 2,28 მმოლი/ლ

- **Urea liquicolor - შარდოვანას განმსაზღვრელი ფერმენტული კოლორიმეტრული ტესტი**

კატ. #10 505 2x100 მლ ტესტების სრული ნაკრები

კატ. #10 506 1x1000 მლ რეაგენტი 1,3, და სტანდარტული

კატ. #10 507 1x1000 მლ რეაგენტი 2

კატ. #10 104 9x 3 მლ სტანდარტი

<u>ნაკრების შემადგენლობა:</u>

3. RGT 1 100 მლ ან 1000მლ რეაგენტი 1

4. RGT 1 100 მლ ან 1000მლ რეაგენტი 2
5. ENZ 1მლ ან 10მლ ფერმენტული კონცენტრატი
6. STD 3 მლ სტანდარტი

რეაგენტი 2 და სტანდარტი მზა მდგომარეობაშია. ფერმენტული რეაგენტი 1ა-ს მოსამზადებლად - ბოთლი 3 ENZ (ფერმენტული კონცენტრატი) უნდა შევურიოთ 1 ბოთლ RGT 1. მაგალითად: 1 მლ ENZ ფერმენტული კონცენტრატი+100მლ RGT 1 რეაგენტი1 ან 100მლ ENZ ფერმენტული კონცენტრატი+1000მლ RGT 1 რეაგენტი1.

სტაბილურობა:

რეაგენტები სტაბილურია 2-8^{0}C ყუთზე მითითებული შენახვის ვადის განმავლობაში.

რეაგენტი 1,2 და 3 გახსნის შემდეგ სტაბილურია 6 კვირა 2-8^{0}C ან 10 დღე 15- 25^{0}C -ზე.

სტანდარტი გახსნის შემდეგაც სტაბილურია ყუთზე მითითებულ პირობებში.

ფერმენტული რეაგენტი 1ა სტაბილურია 4 კვირა 2-8^{0}C ან 2 კვირა 15- 25^{0}C -ზე.

გახსნის შემდეგ უნდა ვერიდოთ რეაგენტების დაბინძურებას.

ნიმუშები: შრატი, პლაზმა (გარდა ამონიუმით ჰეპარინიზებული პლაზმისა) ან შარდი.

შარდი უნდა განზავდეს გამოხდილ წყალშუ 1:100 თანაფარდობით. შრატი და პლაზმა ინახება 3 დღე 4^{0}C , უფრო მეტი ხნით შენახვისათვის უნდა გაიყინოს -20^{0}C .

<u>ცდის პირობები:</u>

ტალღის სიგრძე: 570-600 ნმ, Hg 578 ნმ.

ოპტიკური გზა: 1სმ;

ტემპერატურა: 20^{0}C- 25^{0}C ან 37^{0}C;

გაზომვები: რეაგენტის ბლანკის მიმართ.

<u>ჩაწვეთების სქემა:</u>

ჩაწვეთება კიუვეტებში	რეაგენტის ბლანკი	სტანდარტი	სინჯი

სტანდარტი	--	10 მკლ	--
სინჯი	--	--	10 მკლ
ფერმენტული რეაგენტი1ა	1000 მკლ	1000 მკლ	1000 მკლ
კიუვეტი შევანჯღრიოთ, ინკუბაცია 5 წთ 20-25^{0}C ან 3 წთ 37^{0}C			
რეაგენტი 2	1000 მკლ	1000 მკლ	1000 მკლ
შეანჯღრიეთ, ინკუბაცია 10წთ 20^{0}C- 25^{0}C ან 5წთ 37^{0}C; გაზომეთ სინჯის (ΔAსინჯი) და სტანდარტის (ΔAსტანდ.) შთანთქმების მნიშვნელობები რეაგენტი ბლანკის მიმართ 60 წთ-ის განმავლობაში			

შარდოვანას და BUN კონცენტრაციის განსაზღვრა

	შარდოვანა			
შრატი/პლაზმა	[მგ/დლ]	[მმოლი/ლ]	[მგ/დლ]	[მმოლი/ლ]
ΔAსინჯი x ΔAსტანდ.	80	13,3	37,28	6,2
შარდი	[გ/ლ]	[მმოლი/ლ]	[გ/ლ]	[მმოლი/ლ]
ΔAსინჯი x ΔAსტანდ.	80,8	1343	37,65	626,2

გადამყვანი კოეფიციენტი შარდოვანასა და BUN შორის

C(BUN) = 0.466 x C (შარდოვანა)

C (შარდოვანა) = 2.14 x C (BUN)

<u>წრფივობა</u>

შრატი/პლაზმა: 400მგ/დლ ან 66,6 მმოლი/ლ (შარდოვანა)

შარდი: 400გ/ლ ან 6600 მმოლი/ლ (შარდოვანა)

მაღალი კონცენტრაციების შემთხვევაში სინჯები განაზავეთ1:1 თანაფარდობით გამოხდილ წყალში და მიღებული შედეგები გაამრავლეთ 2-ზე.