

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Факультет радіофізики, біомедичної електроніки та комп'ютерних систем

Кафедра молекулярної та медичної біофізики

До захисту допущено

Кафедрою _____ протокол № _____ від _____

завідувач кафедри _____ Володимир БЕРЕСТ
(підпис) (ім'я, прізвище)

« _____ » _____ 2025 р.

Кваліфікаційна робота
здобувача _____ другого (магістерського) _____ рівня вищої освіти
(першого (бакалаврського) / другого (магістерського))

Проблема резистентності до антибіотиків та шляхи її вирішення за допомогою
наноматеріалів
(назва роботи)

Спеціальність (спеціалізація) 105, прикладна фізика та наноматеріали
(код та найменування спеціальності; спеціалізації спеціальності - за наявності)

Освітня програма біофізика
(назва освітньої програми)

Виконавець _____ Дарина РИБІНА
(підпис) (ім'я, прізвище)

Науковий керівник _____ Олексій БОРИКОВ
(підпис) (ім'я, прізвище)

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Рибіна Д.О. Проблема резистентності до антибіотиків та шляхи її вирішення за допомогою наноматеріалів. Дипломна робота. Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, 2025. 45 с., 11 рис., 1 табл., 0 дод., 31 джерело.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ, МЕХАНІЗМИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ, ESCAPE-ПАТОГЕНИ, НАНОМАТЕРІАЛИ, НАНОЧАСТИНКИ, PIC50, NANOTOXRADAR, ЦИТОТОКСИЧНІСТЬ, БІОСУМІСНІСТЬ.

Об'єкт дослідження: патогенні мікроорганізми, що проявляють стійкість до антибіотиків, та клітини органів і тканин, які підлягають дії наночастинок.

Предмет дослідження: механізми дії наноматеріалів на мікроорганізми.

Мета роботи: проаналізувати причини і механізми формування резистентності до антибіотиків та оцінити можливості застосування наноматеріалів як підходу для її подолання.

Методи дослідження: аналітичний огляд наукових джерел, використання комп'ютерної моделі для аналізу дії наночастинок, порівняльний аналіз, узагальнення результатів експериментальних робіт, аналіз методів застосування наноматеріалів у лабораторній та медичній практиці.

Результати дослідження: за даними комп'ютерного моделювання (multi-target nano-QSAR, NanoToxRadar) для наночастинок різних діаметрів було встановлено, що антимікробна активність напряму залежить від хімічної природи та розміру частинок: зі зменшенням діаметра до 10 нм прогнозована інгібувальна дія зростає у всіх досліджених видів бактерій (*Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*). Максимальні значення IC_{50} отримано для наночастинок срібла. Узагальнення показників для матеріалів із діаметрами 10 та 100 нм підтверджує домінування Ag за

антибактеріальною активністю та демонструє розмірний ефект, пов'язаний зі збільшенням питомої поверхні та інтенсифікацією взаємодії з клітинною стінкою.

Паралельне моделювання цитотоксичності щодо клітин організму (hMSCs, C-17-2 Neural progenitor, COS, Primary human hepatocyte) показало аналогічний результат: вищі значення IC_{50} для менших частинок і найвищі для Ag-наночастинок, що вказує на поєднання максимальної антимікробної ефективності з найвищим потенційним ризиком для клітин-господаря. Для Au та оксидів металів (ZnO, CuO, TiO₂, Fe₃O₄, Al₂O₃) прогнозована токсичність нижча, але й антибактеріальний ефект помірніший. Сукупно це свідчить про обернений компроміс «ефективність/безпека» та визначальну роль розміру в формуванні біологічної дії. Отримані результати окреслюють доцільність пошуку методів для використання даних наноматеріалів на практиці, щоб зберегти антибактеріальну активність за мінімізації токсичного впливу.

ABSTRACT

Rybina D.O. Antibiotic resistance: Challenges and nanomaterial-based solutions. Diploma Thesis. V. N. Karazin Kharkiv National University, 2025. 45 p., 11 fig., 1 tab., 0 app., 31 references.

ANTIBIOTIC RESISTANCE, RESISTANCE MECHANISMS, ESCAPE PATHOGENS, NANOMATERIALS, NANOPARTICLES, PIC50, NANOTOXRADAR, CYTOTOXICITY, BIOCOMPATIBILITY.

Research object: pathogenic microorganisms that exhibit resistance to antibiotics, and cells of organs and tissues exposed to nanoparticles.

Research subject: mechanisms of action of nanomaterials on microorganisms.

Objective of the study: to analyze the causes and mechanisms of antibiotic resistance formation and to assess the potential of nanomaterials as an approach to overcoming it.

Research methods: analytical review of scientific sources, computer-based modeling to analyze the effects of nanoparticles, comparative analysis, generalization of experimental research results, analysis of nanomaterial application methods in laboratory and medical practice.

Research results: based on computer modeling (multi-target nano-QSAR, NanoToxRadar) for nanoparticles of various diameters, it was established that antimicrobial activity directly depends on the chemical nature and size of the particles: as the diameter decreases to 10 nm, the predicted inhibitory effect increases in all studied bacterial species (*Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*). The highest pIC50 values were obtained for silver nanoparticles. A comparison of indicators for materials with diameters of 10 and 100 nm confirms the dominance of Ag in antibacterial activity and demonstrates a size effect associated with an increase in specific surface area and intensification of interactions with the cell wall.

Parallel cytotoxicity modeling for body cells (hMSCs, C-17-2 Neural progenitor, COS, Primary human hepatocyte) showed a similar result: higher pIC50 values for smaller particles and the highest for Ag nanoparticles, indicating a combination of maximal antimicrobial efficacy with the greatest potential risk for host cells. For Au and metal oxides (ZnO, CuO, TiO₂, Fe₃O₄, Al₂O₃), the predicted toxicity is lower but so is the antibacterial effect. Overall, this indicates an inverse «efficacy/safety» trade-off and the decisive role of size in shaping biological activity. The obtained results highlight the relevance of developing practical approaches for using these nanomaterials to retain antibacterial activity while minimizing toxic effects.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	7
ВСТУП.....	8
ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.....	11
1.1. Поняття резистентності до антибіотиків, причини поширення та механізми стійкості до антибіотиків.....	11
1.2. Приклади використання наночастинок.....	18
1.3. Переваги, ризики та перспективи впровадження наноматеріалів у боротьбі з резистентністю до антибіотиків	20
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	23
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	29
ВИСНОВКИ	41
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	42

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

AMR – резистентність до антибіотиків

ESKAPE – група основних патогенів (Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp.)

NPs – наночастинки (nanoparticles)

MDR – мультирезистентність

XDR – екстенсивна резистентність

PDR – панрезистентність

ROS – активні форми кисню

IC₅₀ – концентрація, що пригнічує 50% активності

pIC₅₀ – від’ємний логарифм IC₅₀

QSAR – кількісна залежність «структура-активність»

ВСТУП

Антибіотики у сучасній медицині є невід'ємною складовою, оскільки дозволяють ефективно лікувати широкий спектр бактеріальних захворювань та щороку сприяють збереженню мільйонів людських життів. Проте їх надмірне та нерегламентоване використання у різних галузях спричинило стрімке поширення резистентності до антибіотиків (AMR, від англ. antimicrobial resistance) – здатності мікроорганізмів протистояти дії антибіотиків. Унаслідок цього зростає кількість випадків, коли стандартні інфекції перестають піддаватися терапії, а перебіг захворювання набуває тяжчого характеру, іноді з летальними наслідками навіть за наявності доступу до сучасних медичних засобів.

На сьогоднішній день резистентність до антибіотиків офіційно визнана Всесвітньою організацією охорони здоров'я однією з глобальних проблем для здоров'я людини, безпеки харчування та економічного добробуту. За її оцінками щороку у світі помирає понад 1,3 мільйона людей внаслідок інфекцій, викликаних стійкими до лікування бактеріями, а до 2050 року ця цифра може зрости до 10 мільйонів, перевищивши смертність від онкологічних захворювань [1].

Наноматеріали являють собою сучасний клас речовин, що характеризуються унікальними фізико-хімічними властивостями, які проявляються на нанорівні та зумовлені їх структурною організацією і високим співвідношенням поверхні до об'єму. Дослідження показали, що певні типи наночастинок (наприклад, срібла, цинку, міді, титану) мають виражені антимікробні властивості, зокрема щодо мультистійких штамів бактерій. Завдяки здатності проникати в біоплівки, руйнувати клітинні мембрани, генерувати активні форми кисню та пригнічувати життєво важливі біохімічні процеси, наноматеріали відкривають нові можливості у лікуванні інфекцій, які не піддаються традиційній антибіотикотерапії [9].

Зростання резистентності до антибіотиків серед патогенних мікроорганізмів зумовлює необхідність пошуку нових ефективних антимікробних стратегій. Використання наноматеріалів є перспективним напрямом, оскільки

завдяки своїм фізико-хімічним властивостям на нанорівні вони здатні взаємодіяти з мікроорганізмами, здійснюючи антимікробну дію, але питання їх безпечності для клітин організму людини залишається відкритим. Цитотоксичні властивості таких матеріалів потребують детального вивчення.

Актуальність даної теми зумовлена стрімким поширенням резистентності до антибіотиків серед патогенних мікроорганізмів. Традиційні методи боротьби з інфекціями поступово втрачають ефективність, тому пошук нових підходів до подолання стійкості бактерій є пріоритетним напрямом наукових досліджень. Використання наночастинок як альтернативних антимікробних агентів відкриває перспективу підвищення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків. Застосування комп'ютерного моделювання дає змогу глибше дослідити властивості наночастинок, спрогнозувати їх взаємодію з бактеріальними клітинами та оцінити потенційні ризики токсичного впливу на організм.

Метою дослідження є аналіз взаємозв'язку між антимікробною активністю та цитотоксичністю наночастинок, а також визначення матеріалів, що характеризуються оптимальним співвідношенням ефективності та безпечності. Отримані результати дозволяють оцінити потенціал наноматеріалів як можливої альтернативи традиційним антибіотикам.

Завдання роботи:

- 1) Визначити масштаби та основні фактори, що сприяють поширенню резистентності до антибіотиків.
- 2) Охарактеризувати механізми стійкості патогенних мікроорганізмів до антимікробних препаратів.
- 3) Проаналізувати типи наноматеріалів, що проявляють антимікробну активність та приклади застосування наночастинок у боротьбі з резистентними бактеріями.
- 4) Змодельовати за допомогою комп'ютерної симуляції потенційний вплив на біооб'єкти за їх взаємодії з різними наночастинками.
- 5) Передбачити цитотоксичні властивості сполук за допомогою аналізу отриманих даних.

б) Зробити висновки щодо взаємозв'язку між антимікробною активністю та цитотоксичністю наночастинок різного складу і розміру та виділити, для яких частинок співвідношенням ефективності та безпеки є оптимальним для потенційного використання.

ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

1.1. Поняття резистентності до антибіотиків, причини поширення та механізми стійкості до антибіотиків

Резистентність до антибіотиків (AMR) – це здатність мікроорганізмів протистояти дії антимікробних засобів, які раніше ефективно пригнічували їх ріст або знищували. Актуальність проблеми обумовлена стрімким зростанням кількості випадків, коли навіть потужні антибіотики виявляються неефективними проти поширених бактеріальних інфекцій.

AMR виникає як результат еволюційного відбору: мікроорганізми, які виживають при впливі антибіотика, можуть передавати стійкі гени нащадкам або іншим бактеріям шляхом горизонтального перенесення (див. рис. 1.1). До основних механізмів такого перенесення належать трансформація (захоплення вільної ДНК), трансдукція (через бактеріофагів) та кон'югація (через плазміди). Ці процеси дозволяють резистентним генам швидко поширюватися серед різних видів бактерій, зокрема навіть серед тих, що не раніше не піддавалися дії конкретного антибіотика [2].

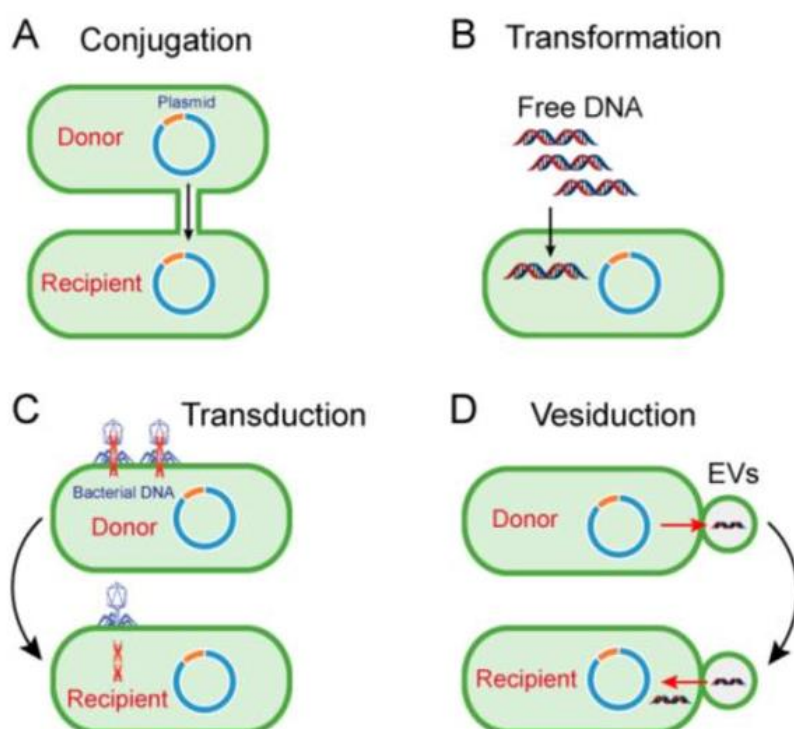


Рисунок 1.1. Горизонтальне перенесення генів у бактерій за етапами (запозичено з [2])

У науковій та клінічній практиці розрізняють два основні типи стійкості: природжену (інтринсичну), що зумовлена особливостями клітинної будови певного виду бактерій, та набути резистентність, яка формується внаслідок тривалого або неправильного використання антибіотиків. Наприклад, бактерія *Pseudomonas aeruginosa* має природну стійкість до багатьох антибактеріальних засобів через знижені проникність зовнішньої мембрани та активну роботу ефлюкських насосів. У той час як *Staphylococcus aureus* може набувати стійкості до метициліну, формуючи штами MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), що є проблемою у клінічній практиці [31].

Більш небезпечною є поява мультирезистентних (MDR), екстенсивно резистентних (XDR) та панрезистентних (PDR) штамів. Мультирезистентні бактерії стійкі до трьох і більше класів антибіотиків, екстенсивно резистентні – до всіх, крім одного-двох, а панрезистентні – практично до всіх відомих препаратів. До таких груп часто належать представники ESKAPE-групи (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*), які здатні «вислизати» з-під дії лікарських засобів, оскільки ці бактерії є грамкомполітними. Вони характеризуються складнішою будовою клітинної стінки, що зумовлює підвищену стійкість до дії антибіотиків. Структурні особливості пептидогліканового шару створюють додатковий бар'єр, який ускладнює проникнення антимікробних речовин у клітину та знижує ефективність окремих препаратів [2].

Проблема ускладнюється тим, що антибіотики втрачають свою ефективність не тільки через бактеріальну адаптацію, але й через повільні темпи розробки нових препаратів. За останні десятиліття було схвалено дуже небагато нових класів антибіотиків, і жоден з них не може повністю вирішити проблему резистентності. Також ускладнення ситуації пов'язане з тим, що фармацевтичні

компанії часто уникають інвестування в розробку антибіотиків через їх короткий курс лікування та відсутність довготривалої комерційної вигоди [17].

На міжнародному рівні AMR офіційно визнана однією з глобальних проблем для охорони здоров'я населення, безпечності харчових продуктів та економічного добробуту суспільства. За даними Глобального тягара хвороб (Global Burden of Disease), щороку у світі реєструється понад 1,27 мільйона смертей, спричинених стійкими до лікування бактеріальними інфекціями, і понад 4,9 мільйона – за участю резистентних збудників як супутнього фактору [1].

Поширення резистентності до антибіотиків обумовлене низкою взаємопов'язаних факторів, які охоплюють як медичну практику, так і агропромисловий сектор, соціальну поведінку населення, економічну політику та екологічні умови. Резистентність не виникає одночасно – це результат постійного еволюційного тиску, спричиненого надмірним, неправильним або неконтрольованим використанням антибактеріальних препаратів [4].

Однією з основних причин є неправильне використання антибіотиків у медицині. Розглядаючи детальніше:

- призначення антибіотиків без наявності чітких показань (наприклад, при вірусних інфекціях, де вони неефективні);
- неправильний вибір препарату або дозування;
- переривання курсу лікування пацієнтами через суб'єктивне полегшення симптомів або побічні ефекти;
- відсутність мікробіологічної діагностики, що веде до емпіричної терапії широкого спектру дії [9].

Також доволі критичним чинником є поширене застосування антибіотиків у ветеринарії та сільському господарстві. Антимікробні засоби активно використовуються для профілактики захворювань та стимуляції росту тварин, що призводить до потрапляння залишків препаратів у харчовий ланцюг і довкілля. У ґрунті, воді та стічних водах створюються сприятливі умови для формування стійких мікробних популяцій, а також для горизонтального перенесення генів

резистентності між патогенними та умовно-патогенними мікроорганізмами [4].

Самолікування також є суттєвими фактором, особливо поширеним у країнах із недостатнім контролем за продажем антибіотиків. У багатьох регіонах ці препарати доступні без рецепта, що сприяє їх масовому і часто недоцільному використанню. Пацієнти самостійно обирають антибіотики, орієнтуючись на власний досвід або поради з неперевірених джерел, не враховуючи специфіку збудника, механізм дії препарату або рекомендовану тривалість лікування [31].

Окремо слід виділити проблему використання антибіотиків у країнах із низьким рівнем доходу, де відсутність належної діагностики, недостатній доступ до якісної медичної допомоги та брак інформаційної роботи серед населення веде до масового використання дешевих антибактеріальних засобів широкого спектру. Це сприяє пришвидшенню формування резистентних штамів та їх подальшому розповсюдженню через міжнародні міграційні та торгові шляхи [28].

Ще одним важливим фактором є нестача нових ефективних антибіотиків, здатних замінити препарати, до яких вже сформувалася резистентність. Причиною цього є висока вартість і тривалість розробки нових молекул, складність клінічних випробувань і низька комерційна привабливість антибіотиків у порівнянні з препаратами хронічної дії. В результаті фармацевтичні компанії дедалі рідше інвестують у цей напрям, що призводить до «інноваційної стагнації» в антибактеріальній терапії [17].

У випадку екологічного фактору, залишки антибіотиків і стійких бактерій потрапляють у природне середовище через стічні води лікарень, фармацевтичних підприємств і сільськогосподарських господарств. Вони можуть залишатися активними у воді, ґрунті або харчових продуктах, створюючи резервуари резистентності, які не контролюються системою охорони здоров'я, але мають прямий вплив на епідеміологічну ситуацію [9].

Здатність мікроорганізмів протистояти дії антибіотиків ґрунтується на складних молекулярних механізмах, що забезпечують виживання бактеріальної клітини в умовах антимікробного тиску. Ці механізми можуть бути природженими, тобто притаманними певному виду з моменту його існування, або

набутими – внаслідок мутацій або горизонтального перенесення генетичних елементів [25].

До основних механізмів AMR належать [16, 17, 31]:

1) Інактивація антибіотика.

Найбільш поширений шлях стійкості – це руйнування або модифікація діючої речовини. Наприклад, ферменти бета-лактамази гідролізують бета-лактамне кільце в молекулі антибіотика, унеможливаючи його зв'язування з мішенями у клітинній стінці. Цей механізм характерний для *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* та інших грамнегативних збудників.

2) Модифікація мішені.

Деякі бактерії змінюють структуру молекул, на які спрямована дія антибіотиків. Наприклад, модифікація пеніцилінзв'язувальних білків (PBP) призводить до втрати ефективності бета-лактамних препаратів, як це відбувається у випадку MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*). Інші приклади – зміни рибосомних білків або ферментів ДНК-гірази при резистентності до макролідів або фторхінолонів.

3) Активне виведення препарату (ефлюкс).

Ефлюксні насоси – це білкові системи, вбудовані в клітинну мембрану, які виводять антибіотики з клітини ще до того, як вони досягнуть цільової структури. Цей механізм особливо характерний для тетрациклінів, хлорамфеніколу, макролідів. Наприклад, система AcrAB-TolC у *E. coli* забезпечує стійкість до широкого спектру препаратів.

4) Порушення проникнення.

Зменшення кількості або зміна функціональності поринів у зовнішній мембрані грамнегативних бактерій обмежує потрапляння антибіотиків до периплазматичного простору. Цей механізм часто поєднується з продукцією ферментів-інактивації і характерний для *P. aeruginosa* та *Acinetobacter baumannii*.

5) Формування біоплівки.

Бактерії, які утворюють біоплівки, стають більш стійкими до антибіотиків. У складі біоплівки клітини щільно прилягають одна до одної і захищені

матриком з позаклітинних полімерів, що обмежує дифузію препарату. Подібну стратегію часто реалізують *Streptococcus aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* та *Listeria monocytogenes* при інфекціях сечовивідних шляхів, легень або при наявності катетерів і протезів.

б) Перехід у стан персистенції.

У несприятливих умовах частина популяції бактерій може переходити у метаболічно неактивний стан, при якому антибіотики стають неефективними. Після припинення дії препарату такі клітини повертаються до активного стану та поновлюють інфекційний процес.

Щоб краще уявити, які структури бактеріальної клітини є мішенями для дії антибіотиків і як їх модифікація або блокування сприяє формуванню стійкості, доцільно звернутись до рис. 1.2.

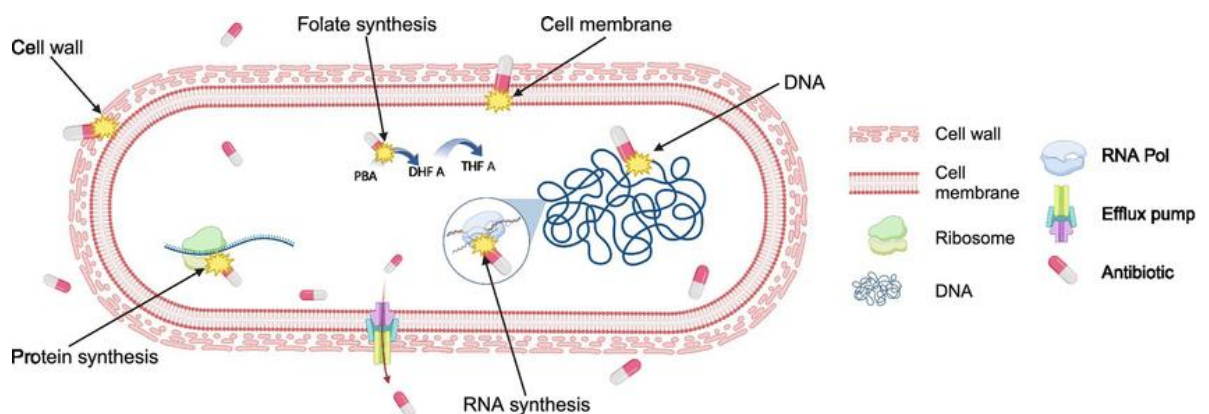


Рисунок 1.2. Основні мішені антибіотиків у бактеріальній клітині: клітинна стінка, рибосоми, ДНК, клітинна мембрана, ефлюксні насоси (запозичено з [31])

На поданій схемі зображено ключові структурні елементи бактеріальної клітини, які слугують мішенями для дії різних класів антибіотиків. Як видно, антибактеріальні засоби можуть впливати на синтез клітинної стінки, білків, РНК і ДНК, а також на метаболічні шляхи (синтез фолієвої кислоти). Ефлюксні насоси виводять антибіотики з клітини, знижуючи їх внутрішньоклітинну концентрацію та, відповідно, ефективність. Порушення або модифікація кожної з цих мішеней може призводити до формування резистентності. Наприклад, мутації в рибосомах

або ДНК-полімеразі знижують зв'язування антибіотиків, тоді як надмірна експресія ефлюкських насосів забезпечує активне виведення препарату.

Ситуацію ускладнює те, що багато патогенів здатні комбінувати кілька механізмів резистентності одночасно. Штами *Acinetobacter baumannii* або *Klebsiella pneumoniae* можуть не тільки продукувати карбапенемази, а також знижувати експресію поринів та активізувати ефлюкські насоси, що робить їх практично нечутливими до більшості відомих антибіотиків. Подібна мультирезистентність (MDR) призводить до невдач лікування, потреби у тривалішій госпіталізації, застосування токсичних резервних препаратів або навіть відсутності ефективних терапевтичних опцій. За даними ВООЗ, інфекції, спричинені резистентними штамми, щороку забирають сотні тисяч життів і становлять пряму загрозу глобальній безпеці [17].

З огляду на зростання поширеності таких патогенів, наукова спільнота дедалі активніше звертає увагу на нетрадиційні підходи до боротьби з інфекціями, поширеним з яких є використання наноматеріалів. Завдяки своїм фізико-хімічним властивостям наночастинки здатні долати окремі стійкі бар'єри – проникати через захисні оболонки, порушувати структуру біоплівки та діяти мультимішенево.

Наноматеріали здатні взаємодіяти з бактеріальною клітиною на молекулярному рівні, змінюючи проникність клітинної стінки, руйнуючи біоплівки або впливаючи на метаболічні процеси мікроорганізмів. Такі механізми можуть посилювати ефективність традиційних антибіотиків і зменшувати стійкість бактерій до них [9].

У сучасних дослідженнях вивчається і безпосередня антимікробна дія наночастинок, і їх потенціал у комплексному застосуванні з антибіотиками для досягнення спільного ефекту. Комп'ютерне моделювання дає змогу прогнозувати ці взаємодії, оцінювати вплив складу, розміру та поверхневих властивостей наночастинок на бактеріальні клітини, що відкриває можливість цілеспрямованого проєктування наноматеріалів із заданими протимікробними характеристиками.

1.2. Приклади використання наночастинок

Розвиток нанотехнологій у біомедичній галузі відкрив нові підходи до профілактики та лікування інфекцій, спричинених патогенами з множинною стійкістю до антибіотиків. Одним з активних напрямів є створення антимікробних поверхонь, зокрема покриттів медичних виробів, які перебувають у контакті з тканинами пацієнта або мають високий ризик контамінації. Пристрої тривалого користування (катетери, шунти, штучні клапани, ендопротези, ортопедичні конструкції) часто стають об'єктами мікробної колонізації, що призводить до утворення біоплівки і виникнення внутрішньолікарняних інфекцій, які є складними для лікування [2].

Використання наночастинок срібла (AgNPs) у таких покриттях є одним із найкраще досліджених підходів. Грампозитивні бактерії мають товстий відкритий пептидоглікановий шар без зовнішньої мембрани, тому для багатьох антибіотиків клітинна стінка є доволі доступною мішенню, коли грамнегативні бактерії мають тонкий пептидоглікан, але додаткову зовнішню мембрану з ліпосахариду, яка обмежує проникнення препаратів і забезпечує вищу природну резистентність. Срібло чинить виражену бактерицидну дію навіть у низьких концентраціях, має широкий спектр активності та демонструє ефективність проти грампозитивних і грамнегативних бактерій, включаючи MRSA та *Pseudomonas aeruginosa*. Нанопокриття на основі AgNPs уже впроваджуються у комерційні вироби, такі як сечові катетери, ендотрахеальні трубки та хірургічні шви. Крім срібла, перспективними є наночастинок міді (CuNPs) і оксидів металів, зокрема ZnO та TiO₂, які проявляють фотокаталітичну активність і можуть бути активовані ультрафіолетовим або навіть видимим світлом, що посилює їх антимікробну ефективність [3].

Іншим важливим напрямом є використання наночастинок у терапевтичних формах для зовнішнього застосування – пов'язки, мазі та гелі з протимікробною дією. Пов'язки з вбудованими наночастинками, особливо AgNPs, активно застосовуються у лікуванні опіків, трофічних виразок, хронічних ран та післяопераційних ускладнень. Вони не лише пригнічують ріст патогенів, а й

сприяють загоєнню, завдяки стимуляції клітинної проліферації та незначній протизапальній активності. Дослідження показують, що така форма терапії знижує потребу в системному застосуванні антибіотиків, зменшує частоту перев'язок та сприяє кращому естетичному результату [2].

Також перспективним є застосування наночастинок як носіїв для цільової доставки антибіотиків. Це дозволяє локалізувати дію препарату безпосередньо в зоні інфекції, зменшити системне навантаження та подолати проблеми, пов'язані з проникністю тканинних бар'єрів. Наприклад, наноліпосоми, полімерні нанокапсули та тверді ліпідні частинки використовуються як платформи для інкапсуляції антибіотиків, що підвищує їх стабільність і пролонгує дію. Експериментальні системи на основі AgNPs з ванкомицином показали значно вищу ефективність проти MRSA у порівнянні з використанням вільного антибіотика. Аналогічно, наноккомпозити з доксицикліном та ZnO виявляють синергічну дію, що дозволяє знизити терапевтичну дозу при збереженні повного ефекту [2, 3].

Ще одним перспективним напрямом є створення наноімплантів із пролонгованим вивільненням антимікробних агентів. Наприклад, полімерні матриці з наночастинками можуть вивільняти антибіотик протягом кількох днів або навіть тижнів. Це важливо для пацієнтів, які мають високий ризик реінфекцій, або коли недоцільне використання внутрішньовенних форм. Такі системи вивчалися на прикладах остеомієлітів, післяопераційного профілактичного введення, а також у лікуванні інфекцій м'яких тканин [31].

Тип наночастинок	Область застосування	Мішень	Ефективність
AgNPs	Пов'язки для ран, катетери	Клітинна стінка	Проти MRSA, широкого спектру
ZnO	Імплантати, антисептичні гелі	ROS + мембрана	Має фотокаталітичну активність
Liposome+AB	Цільова доставка антибіотиків	Вогнище інфекції	Пролонгована дія, локальна ефективність

CuO	Покриття протезів, трубок	Мембрана, ензими	Дешева альтернатива срібла
-----	------------------------------	---------------------	----------------------------

Таблиця 1.1. Приклади клінічного та експериментального застосування наночастинок

Також варто відмітити, що зараз розробляються діагностичні наноплатформи, які одночасно можуть виконувати функції виявлення та лікування інфекцій (т. зв. «theranostics»). Це особливо цінно при стійких або рецидивуючих інфекціях, де звичайні діагностичні підходи не дають результату. У таких системах наночастинок поєднуються з флуоресцентними або магнітними мітками для візуалізації, а також несуть на собі антибіотики або антисептики для миттєвої дії [18].

На сьогодні існує вже низка комерційних продуктів з використанням наночастинок срібла та цинку, а також активні клінічні дослідження щодо комбінацій антибіотиків із наноструктурами. Проте широке впровадження цих технологій у практику все ще обмежується питаннями біосумісності, регуляторних затверджень і довгострокової безпеки. Незважаючи на це, результати досліджень свідчать про високу ефективність наноматеріалів у боротьбі з інфекціями, викликаними стійкими збудниками, і мають потенціал для створення нових шляхів для подолання AMR.

1.3. Переваги, ризики та перспективи впровадження наноматеріалів у боротьбі з резистентністю до антибіотиків

Використання наноматеріалів у боротьбі з резистентністю до антибіотиків пропонує низку важливих переваг, які роблять цей підхід особливо актуальним на тлі зниження ефективності традиційної антибіотикотерапії. Найбільш очевидною перевагою є багатофакторність антимікробної дії наночастинок. На відміну від класичних антибіотиків, які часто діють через взаємодію з однією конкретною мішенню (наприклад, рибосомою або ферментом), наноматеріали здатні впливати

на кілька клітинних процесів одночасно. Вони ушкоджують клітинну мембрану, генерують активні форми кисню, інгібують ферментативні системи та порушують реплікацію нуклеїнових кислот. Це ускладнює розвиток резистентності, оскільки мікроорганізмам важче адаптуватися до комбінованого стресу [22].

Ще однією суттєвою перевагою є ефективність наноматеріалів проти бактерій, що утворюють біоплівки, – структури, які є особливо стійкими до традиційних антибіотиків. Завдяки малій розмірності та фізико-хімічним властивостям наночастинки можуть проникати в матрикс біоплівки, порушувати її структуру та досягати вразливих внутрішніх клітин. Такі властивості можуть бути особливо корисними у лікуванні хронічних та пристроєво-асоційованих інфекцій. Також наноматеріали демонструють активність навіть проти клітин у стані персистенції – метаболічно неактивної форми бактерій, яка не реагує на дію антибіотиків. У таких умовах традиційна терапія часто виявляється безсилою, тоді як наночастинки зберігають здатність зруйнувати або дестабілізувати персистентні структури [10, 22].

Серед практичних переваг також слід відзначити потенціал зменшення дози антибіотика при комбінованому застосуванні з наноматеріалами. Завдяки синергічному ефекту можливо досягати однакового або кращого терапевтичного результату при значно нижчих концентраціях антибіотика, що зменшує ризик побічних ефектів, токсичних реакцій та алергій. Більше того, наноматеріали можна функціоналізувати – тобто додавати до них біологічно активні речовини або надавати їм цільової спрямованості до певних тканин або патогенів, що відкриває можливості для персоналізованої терапії [28].

Попри очевидні переваги, впровадження наноматеріалів у клінічну практику супроводжується низкою ризиків. Актуальною є проблема біосумісності та потенційної токсичності. Певна доля наночастинок, особливо металевих, здатні накопичуватись у тканинах, взаємодіяти з клітинами організму-господаря та спричиняти побічні ефекти. Найчастіше це стосується оксидів металів, які при надлишку можуть індукувати окислювальний стрес, запалення або навіть генотоксичні ефекти [5, 31]. Довготривалі наслідки застосування наноматеріалів

досі недостатньо вивчені, особливо щодо їх поведінки у кровотоці, печінці, нирках і головному мозку. Тому перед масовим впровадженням нанопрепаратів необхідні ретельні токсикологічні дослідження *in vitro* та *in vivo*.

Окрему складність становить масштабування виробництва наноматеріалів у стандартизованій формі. У лабораторних умовах легко отримати стабільні зразки з заданими характеристиками, проте їх масштабне відтворення з однаковою якістю потребує дорогого устаткування, складного контролю чистоти та дотримання нормативів GMP (Good Manufacturing Practice). Крім того, стабільність нанопрепаратів у готовій лікарській формі (суспензії, гелі, інгалятори) може змінюватися в залежності від температури, рН та взаємодії з іншими компонентами препарату, що потребує додаткових рішень на етапі фармацевтичної розробки [28, 31].

Незважаючи на перераховані ризики, перспективи впровадження наноматеріалів залишаються широкими. У найближчому майбутньому очікується поява так званих «розумних» наносистем, здатних розпізнавати патоген, вивільняти діючу речовину у відповідь на інфекційний сигнал або змінювати свою активність під впливом температури, рН або ферментативного середовища. Такі платформи можуть забезпечити високоточну та мінімально інвазивну терапію інфекцій з високим ступенем стійкості. Активно вивчаються також біоінспіровані наноматеріали, створені на основі природних структур – вірусоподібних частинок, екзосом або білкових нанокліток, які об'єднують високу ефективність із кращою переносимістю [31].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вивчення специфіки поширення резистентності, її клінічних наслідків і причин зростання було проаналізовано звіти Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), Глобального тягара хвороб (Global Burden of Disease) та Європейської системи нагляду за стійкістю до антибіотиків (EARS-Net) [17, 28]. Ці джерела надали статистичну та аналітичну базу щодо масштабів проблеми на регіональному і глобальному рівні, а також дозволили простежити епідеміологічні тенденції.

Окрему увагу було приділено роботам, що описують біофізичні та хімічні властивості наноматеріалів, їх механізми дії на бактеріальні клітини, потенціал подолання бактеріальної резистентності та можливі токсикологічні наслідки [31]. У фокус потрапили дослідження, які стосуються дії наночастинок на так звані «супербактерії», зокрема штами з групи ESKAPE (Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp.) [2, 28].

Також були використані джерела з відкритим доступом, які містять оглядові матеріали, результати експериментів *in vitro* та *in vivo*, а також моделі взаємодії наночастинок з мікробними структурами. Для об'єктивності аналізу враховувалися не тільки позитивні результати застосування наноматеріалів, а й публікації, що описують їх обмеження (щодо токсичності, біоаккумуляції, впливу на нецільові клітини та навколишнє середовище) [31].

Було використано комплексний аналітичний підхід, що поєднує методи систематичного огляду наукової літератури, контент-аналізу, порівняльного аналізу та критичного узагальнення результатів. Основна увага приділялася джерелам, опублікованим протягом останніх трьох-п'яти років, які висвітлюють сучасний стан проблеми резистентності до антибіотиків та можливості її подолання із застосуванням наноматеріалів.

Під час аналізу джерел використовувався метод контент-огляду, що передбачав вивчення структурних та функціональних особливостей

антимікробної дії наноматеріалів, описаних у дослідженнях з *Microbiology Spectrum*. Зібрані дані узагальнювались за ключовими напрямками: механізми дії, спектр активності, ефективність проти мультирезистентних штамів, токсикологічні характеристики та перспективи медичного застосування. Зокрема, були зіставлені ефекти наночастинок срібла, оксиду цинку, міді та діоксиду титану у контексті різних моделей дії на клітинні мембрани, білкові комплекси та нуклеїнові кислоти [6, 19].

Також застосовувався метод порівняльного аналізу між класичними антимікробними засобами та наноматеріалами на основі даних, викладених у звітах ВООЗ, статтях із *Materials Today: Bio* та інших. Це дозволило визначити переваги наноструктур, спектр дії та нижчу ймовірність розвитку стійкості, їх потенційні ризики (цитотоксичність, вплив на здорові тканини, відсутність довготривалих клінічних досліджень).

Завдання дослідження полягало в моделюванні за допомогою комп'ютерної симуляції поведінки та взаємодії різних наночастинок металів та оксидів металів по відношенню до грам-позитивних та грам-негативних бактерій *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, а також у прогнозуванні їх впливу на біологічні об'єкти. Основну увагу приділено передбаченню цитотоксичних властивостей сполук і проведенню кількісного аналізу взаємозв'язку між структурними особливостями молекул та їх біологічною активністю.

Робота передбачає двоетапний підхід. Перший етап спрямований на прогнозування впливу наночастинок на різні види патогенних бактерій із метою виявлення потенційних переваг їх застосування як антимікробних агентів. Другий етап полягає в оцінюванні можливих токсичних ефектів цих речовин для організму-господаря, зокрема гепатотоксичності, нейротоксичності та інших форм системної токсичності. Розглядається використання наночастинок без поєднання з антибіотиками. За допомогою комп'ютерного моделювання через онлайн-платформу *NanoToxRadar* [30] здійснювався аналіз різних типів наночастинок, їх бактеріостатичних і бактерицидних властивостей залежно від

матеріалу, структури та розміру частинок.

Науково-технічні досягнення в галузі нанотехнологій призвели до створення наночастинок зі складною структурою. У цьому контексті були розроблені моделі nano-QSAR (кількісного аналізу структури та активності наноматеріалів) для оцінки їх токсичності. Однак сфера застосування (AD – applicability domain) таких моделей залишається обмеженою певними типами наночастинок, зокрема неорганічними оксидами, металами з покриттям або вуглецевими наноматеріалами, а також конкретними типами клітинних ліній. З цією метою була створена NanoToxRadar [30] – веб платформа для прогнозування токсичності багатокомпонентних наночастинок (MC-NPs) для різних клітинних ліній, яка розширює сферу застосування моделі nano-QSAR. Для опису молекулярної структури багатокомпонентних наночастинок використовувався розмірозалежний електронно-конфігураційний «відбиток» (fingerprint) (див. рис. 2.1), а для прогнозування токсичності щодо 110 клітинних ліній – одноразове кодування типів клітин (one-hot encoding) [12].

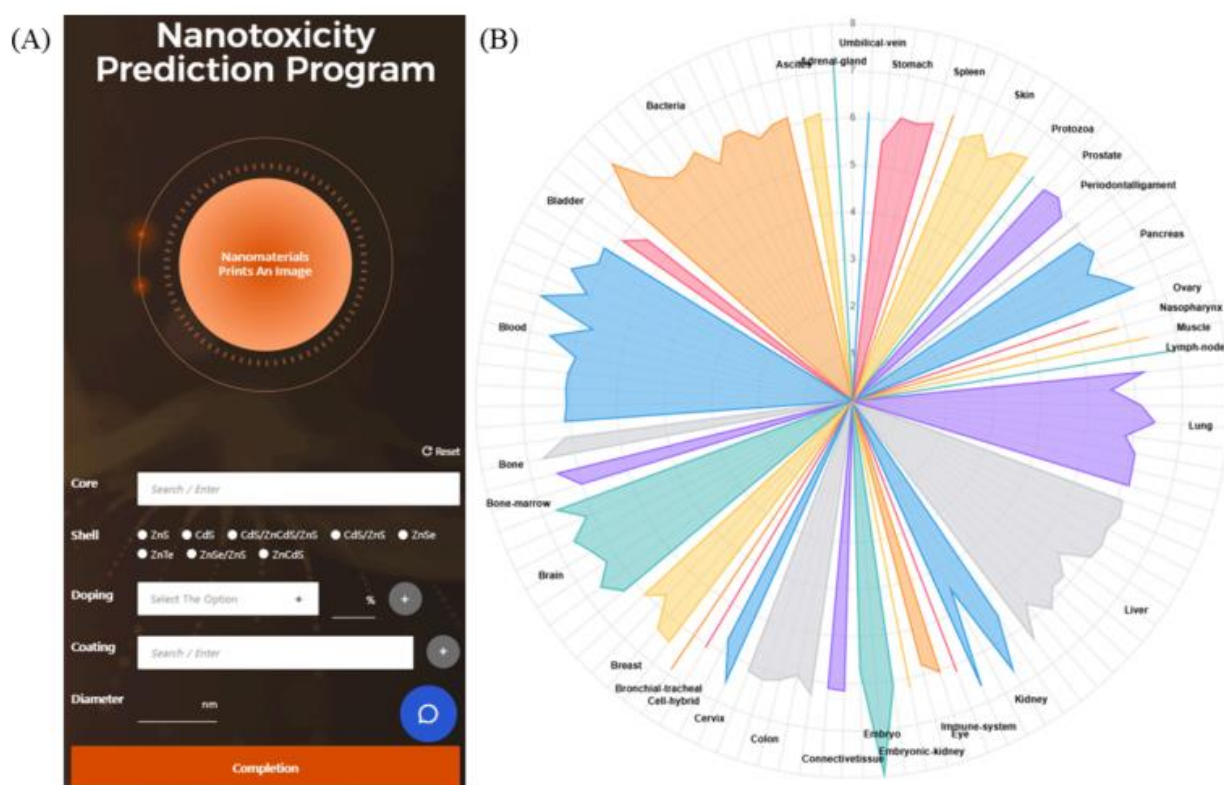


Рисунок 2.1. Веб інтерфейс NanoToxRadar і розподіл прогнозованих

показників токсичності для різних клітинних ліній: (А) інтерфейс користувача для введення параметрів наночастинки, що включає склад ядра, оболонки, домішок і покриття, а також співвідношення легування та діаметр; (В) діаграма типу «радар», яка відображає розподіл значень рIC50 (запозичено з [12])

Наявні дескриптори для складних наноматеріалів зазвичай розраховуються лише за двома основними характеристиками – хімічним складом або розміром частинок. Це означає, що більшість моделей не враховує детальну внутрішню структуру наночастинок, їх поверхневі властивості або просторову організацію атомів. Винятком є квантово-механічні (QM) та молекулярно-динамічні (MD) дескриптори, які здатні описувати наноматеріали з більшою точністю, оскільки базуються на складних фізико-хімічних розрахунках взаємодії частинок на атомному рівні, проте обчислення цих параметрів вимагає значних ресурсів [21].

Метою роботи платформи було розширити можливості наявних моделей nano-QSAR, які зазвичай обмежуються окремими типами наночастинок і клітинних ліній. Вона включає дані про 637 наночастинок із відомими значеннями цитотоксичності (pIC50) для 110 клітинних ліній, для яких була проведена стандартизація за принципами FAIR і створений новий дескриптор – size-dependent electron configuration fingerprint (SDEC FP), який враховує розмір та електронну конфігурацію наночастинки, але є менш обчислювально затратним, ніж квантово-механічні або молекулярно-динамічні розрахунки [12].

Для моделювання застосовувались різні алгоритми машинного навчання (Random Forest, XGBoost, CatBoost, SVR, MLP, Transformer). Найкращі результати показала модель CatBoost, яку було обрано для реалізації в онлайн-сервісі. Вона дозволяє вводити склад наночастинки (ядро, оболонку, домішки, покриття) та її діаметр, після чого система прогнозує pIC50 для 110 клітинних ліній одночасно [20, 21].

Позначення pIC50 походить від фармакологічного показника IC50

(inhibitory concentration 50%) – концентрації речовини, за якої інгібується 50 % біологічної активності (наприклад, росту клітин) [8].

Значення pIC_{50} є логарифмічною формою IC_{50} , що записується як:

$$pIC_{50} = -\log_{10} IC_{50}$$

Тобто, чим вище значення pIC_{50} , тим сильніша цитотоксичність (або інгібуюча активність) наночастинки, оскільки менша концентрація речовини потрібна для досягнення 50% ефекту [8]. У дослідженні NanoToxRadar цей показник використовується як кількісна міра токсичності наночастинок щодо клітинних ліній.

Для даної роботи вводилися параметри наночастинок на платформі NanoToxRadar. Система на основі моделі multi-target nano-QSAR прогнозувала значення pIC_{50} , що характеризують рівень цитотоксичності наночастинок щодо клітин певних видів бактерій. Отримані результати були узагальнені в таблицях в Excel і візуалізовані у вигляді стовпчикових діаграм для чотирьох бактеріальних видів: *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* та *Listeria monocytogenes*, щоб визначити залежність прогнозованої токсичності від розміру наночастинок (10 нм, 100 нм) для різних матеріалів – Ag, Au, ZnO, CuO, TiO₂, Fe₃O₄ та Al₂O₃.

Аналогічне моделювання було проведено для оцінювання потенційної токсичності наночастинок для клітин організму. На платформі NanoToxRadar досліджувалися ті самі матеріали (Ag, Au, ZnO, CuO, TiO₂, Fe₃O₄, Al₂O₃) та розміри частинок (10 нм, 100 нм), однак розрахунки виконувалися для клітинних ліній людини – кісткового мозку (hMSCs), нервових клітин (C-17-2 Neural progenitor), ниркових клітин (COS) і гепатоцитів печінки (Primary human hepatocyte). Метою цього етапу було визначити рівень цитотоксичності наночастинок для клітин-господаря та порівняти отримані результати з прогнозованою антимікробною активністю, щоб виявити матеріали з оптимальним співвідношенням ефективності та безпечності.

На завершальному етапі роботи результати, отримані для бактеріальних клітин, порівнювалися з прогнозами токсичності для клітин організму людини.

Такий підхід дав змогу оцінити баланс між антимікробною ефективністю наночастинок та їх потенційною небезпекою для клітин-господаря. Порівняльний аналіз дозволив визначити, які матеріали демонструють високу інгібувальну активність щодо патогенних бактерій (*Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*) за одночасно низьких показників цитотоксичності для клітин людини (hMSCs, C-17-2, COS, Primary human hepatocyte).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Наноматеріали становлять собою частинки з розмірами від 1 до 100 нанометрів, які мають особливі фізико-хімічні властивості, значною мірою відмінні від тих, що характерні для їх об'ємних аналогів. Завдяки своїм нанорозмірам, вони володіють високим співвідношенням площі поверхні до об'єму, здатністю до поверхневої функціоналізації, фотокаталітичною активністю, а також можливістю генерації активних форм кисню (ROS) [3].

Для послаблення AMR часто використовують металеві та металоксидні наночастинки на основі срібла (Ag), цинку (ZnO), міді (CuO), титану (TiO₂), а також графенові похідні, нанокompозити та квантові точки. Багато з них демонструють широкий спектр протимікробної активності, як проти грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, включаючи стійкі до антибіотиків штами [2].

Основні антимікробні механізми дії наноматеріалів включають [3, 13, 31]:

1) Порушення цілісності клітинної стінки і мембрани.

Багато наночастинок взаємодіють з фосфоліпідним бішаром мембрани бактерії, викликаючи механічну деструкцію, утворення пор і втрату клітинного вмісту. Цей механізм універсальний і не залежить від конкретного біохімічного рецептора, тому менш схильний до формування стійкості.

2) Генерація активних форм кисню (ROS).

Під дією світла або у водному середовищі наночастинки можуть каталізувати утворення супероксид-аніонів, гідроксильних радикалів та пероксиду водню. Ці сполуки спричиняють окисне пошкодження білків, ліпідів та ДНК бактеріальної клітини, що веде до її загибелі.

3) Зв'язування з бактеріальними білками та нуклеїновими кислотами.

Іони металів або функціональні групи на поверхні наночастинок можуть безпосередньо взаємодіяти з ензимами бактерій або з ДНК, блокуючи ключові метаболічні процеси, реплікацію та транскрипцію.

4) Інгібування утворення біоплівки.

Наноматеріали здатні або запобігати формуванню біоплівки, або руйнувати вже сформовані структури, знижуючи захищеність бактерій від зовнішніх впливів. Це має особливу цінність у випадку хронічних інфекцій та інфекцій, пов'язаних із медичними пристроями.

5) Підсилення ефекту традиційних антибіотиків.

Поєднання наноматеріалів із антибіотиками дозволяє знизити ефективну дозу останніх і подолати вже наявну стійкість. Наприклад, наночастинки срібла можуть підвищувати проникність клітинної стінки для ванкоміцину або тетрацикліну, підвищуючи їх ефект [23].

Слід зазначити, що механізми дії наноматеріалів у ряді випадків не залежать від активного метаболізму бактерій, тому можуть бути ефективними навіть проти клітин у стані персистенції або у складі біоплівки. Також вони менш схильні до втрати ефективності внаслідок мутацій на відміну від класичних антибіотиків, які діють через вузьконаправлену взаємодію з мішенями (наприклад, рибосомами або ферментами) [23, 29]. Завдяки комбінованій та багатоцільовій дії наноматеріали розглядаються як перспективна альтернатива або доповнення до традиційної антибактеріальної терапії, здатне частково подолати проблему зростаючої резистентності бактерій.

Завдяки комп'ютерному моделюванню на основі платформи NanoToxRadar, що реалізує підхід multi-target nano-QSAR, та було змодельовано вплив наночастинок металів та оксидів металів (Ag, Au, ZnO, CuO, TiO₂, Fe₃O₄, Al₂O₃) із різними діаметрами (10 нм та 100 нм) на бактеріальні клітини *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* та *Listeria monocytogenes* для дослідження антимікробної активності наночастинок різного хімічного складу. Результати представлені у вигляді прогнозованих значень pIC₅₀, що є логарифмічним показником інгібуючої концентрації речовини: чим вище його значення, тим вираженіша антимікробна дія.

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що антимікробна активність наночастинок безпосередньо залежить від їх хімічного складу та розміру. Найвищі значення pIC₅₀, які свідчать про виражену антибактеріальну

дію, спостерігалися для наночастинок срібла (Ag), тоді як наночастинки золота та оксидів металів (ZnO, CuO, TiO₂, Fe₃O₄, Al₂O₃) демонстрували помірну або низьку ефективність. Зменшення діаметра частинок з 100 нм до 10 нм призводило до підвищення їх біологічної активності, що пояснюється збільшенням питомої поверхні та полегшеним проникненням крізь клітинну стінку бактерій [29].

На рисунку 3.1 наведено результати прогнозування токсичності наночастинок різного складу щодо *Pseudomonas aeruginosa*. З діаграми видно, що наночастинок срібла (Ag) характеризуються найвищими значеннями рІС50, що свідчить про виражену антибактеріальну активність. Для наночастинок золота (Au) та оксидів металів (ZnO, CuO, TiO₂, Fe₃O₄, Al₂O₃) показники значно нижчі. Також спостерігається закономірність: частинки меншого діаметра (10 нм) проявляють вищу активність, ніж частинки 100 нм, що пов'язано зі збільшенням питомої поверхні та здатністю до більш ефективного проникнення крізь клітинну стінку бактерій [29].

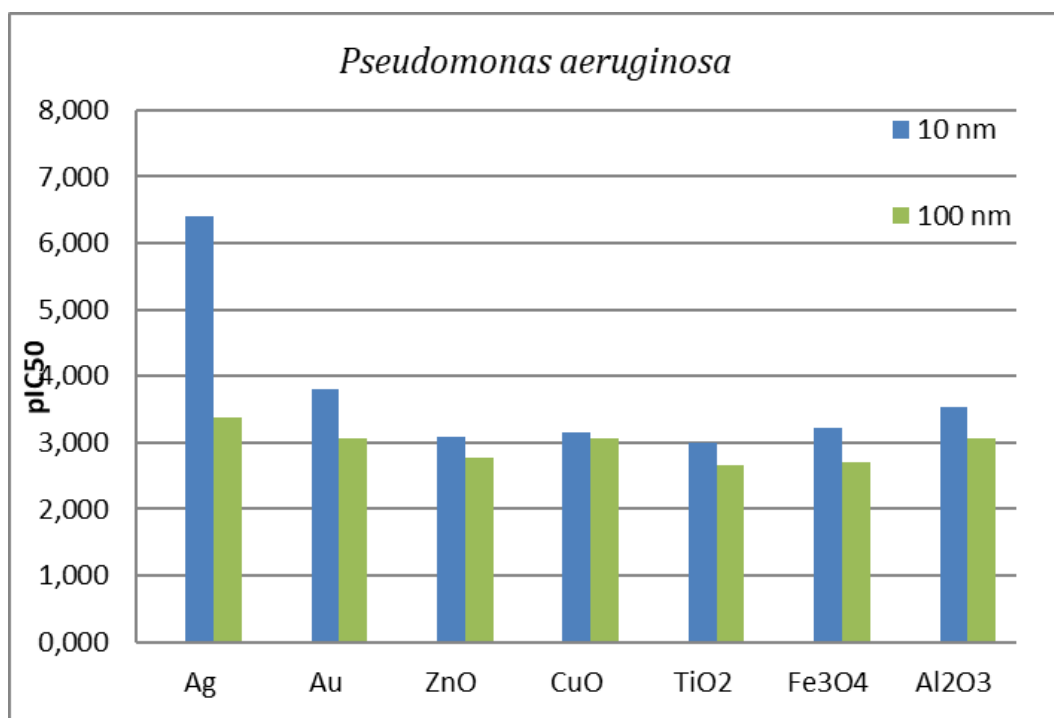


Рис 3.1. Прогнозовані значення рІС50 для наночастинок різного складу для бактерії *Pseudomonas aeruginosa*

На рисунку 3.2 подано результати моделювання впливу наночастинок на *Streptococcus aureus*. Тут також видно, що наночастинки срібла мають найвищу антимікробну активність, тоді як інші досліджені наноматеріали демонструють значно слабшу дію. Як і у випадку з *Pseudomonas aeruginosa*, спостерігається виражена залежність антимікробної ефективності від розміру наночастинок: зменшення діаметра з 100 нм до 10 нм супроводжується підвищенням активності. Це також пояснюється збільшенням питомої поверхні менших частинок, що забезпечує інтенсивніший контакт із бактеріальною клітиною, кращу адсорбцію на її поверхні та ефективніше вивільнення іонів металу, які пригнічують життєві процеси мікроорганізмів.

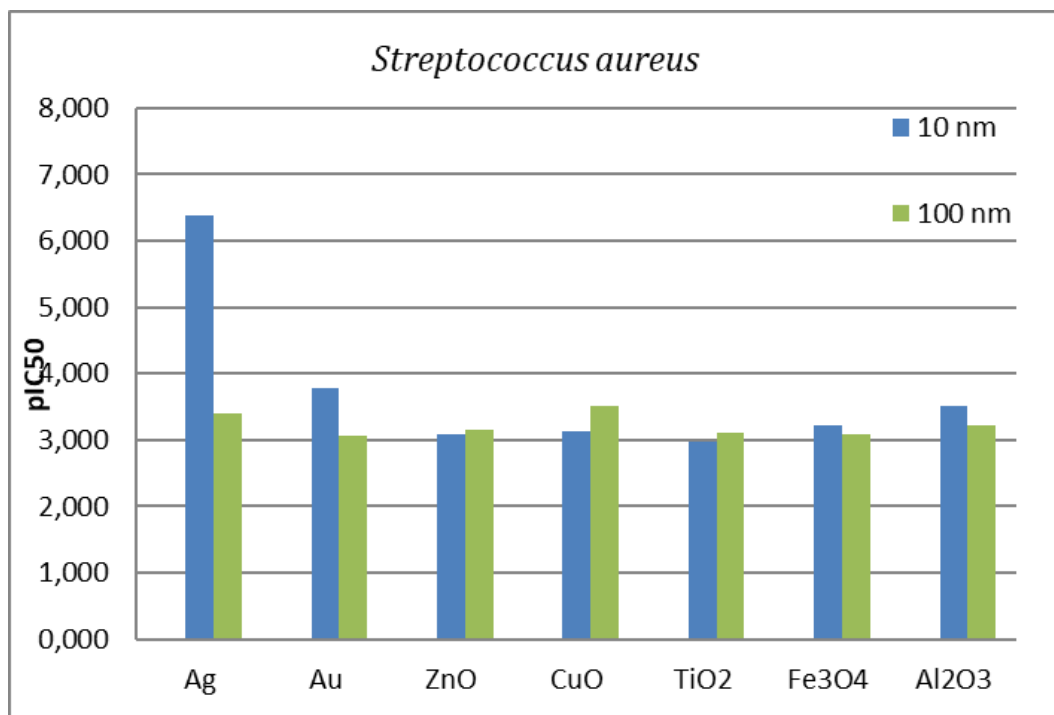


Рис. 3.2. Прогнозовані значення pIC50 для наночастинок різного складу для бактерії *Streptococcus aureus*

Аналогічну ситуацію можна побачити на діаграмах, отриманих для бактеріальних клітин *Klebsiella pneumoniae* та *Listeria monocytogenes* (див. рис. 3.3-3.4).

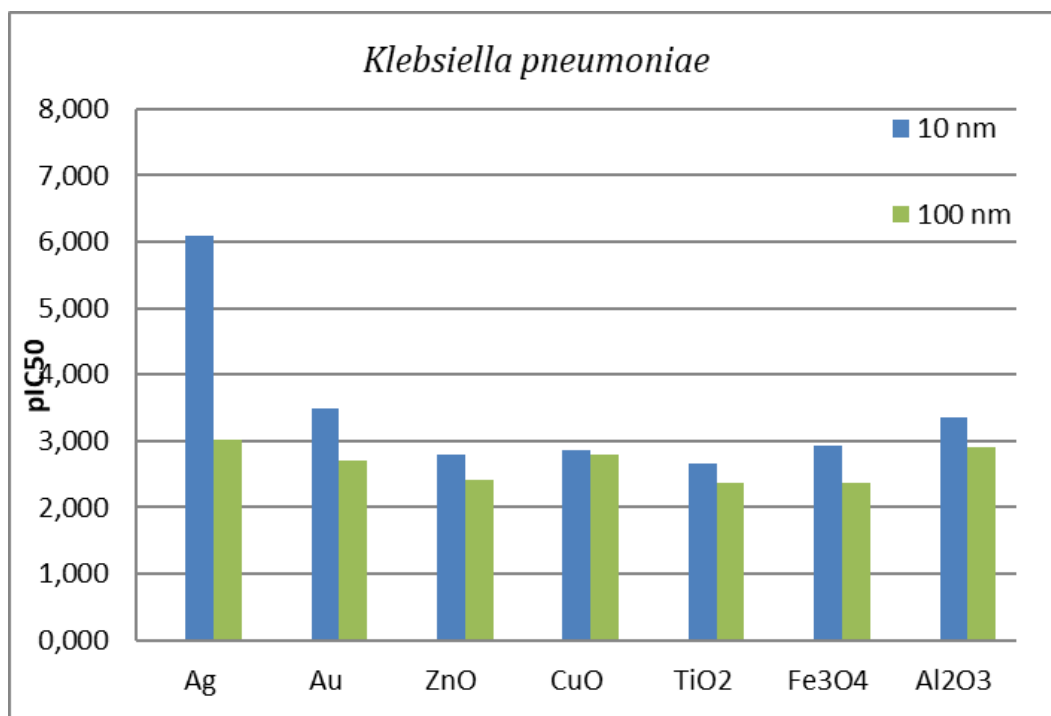


Рис 3.3. Прогнозовані значення pIC50 для наночастинок різного складу для бактерії *Klebsiella pneumoniae*

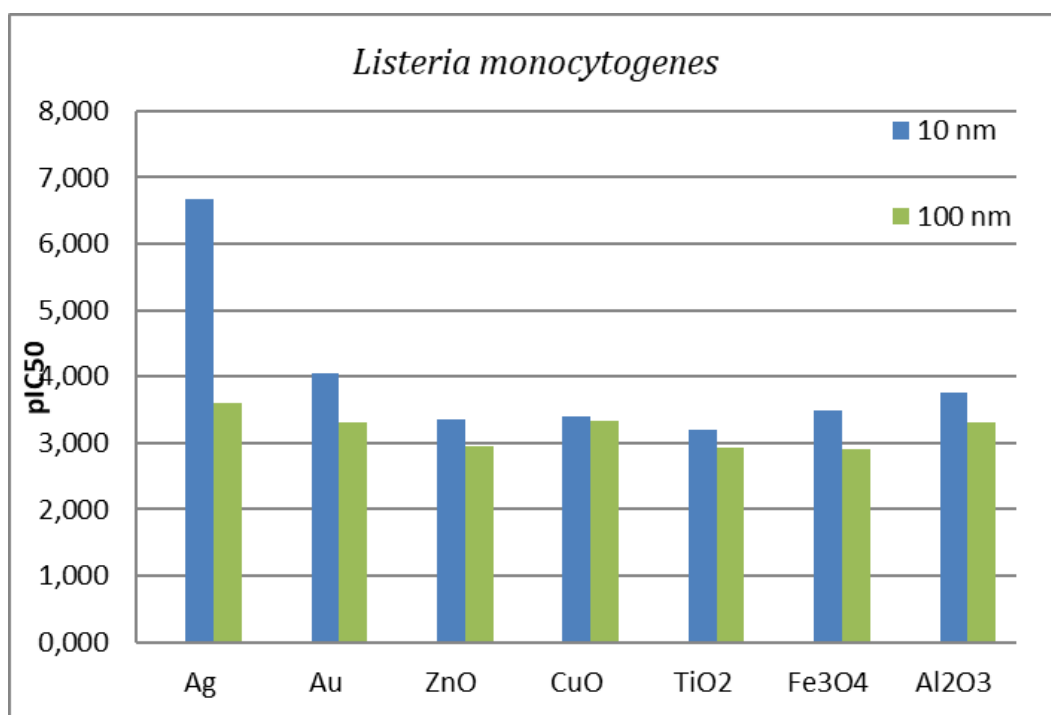


Рис 3.4. Прогнозовані значення pIC50 для наночастинок різного складу для бактерії *Listeria monocytogenes*

Отримані дані для *Klebsiella pneumoniae* та *Listeria monocytogenes*

підтверджують узагальнену закономірність, спостережену для попередніх видів бактерій. Найвищі значення IC_{50} у всіх випадках демонструють наночастинки срібла діаметром 10 нм, що вказує на виражену антимікробну дію цього матеріалу. Для наночастинок розміром 100 нм рівень активності знижується майже вдвічі, що підтверджує залежність від розміру частинок у визначенні їх біологічних властивостей. Зменшення діаметра сприяє збільшенню питомої поверхні частинок, підвищенню їх реакційної здатності та полегшеному контакту з клітинною стінкою бактерій [29].

Моделювання цитотоксичності щодо клітин організму людини (кістковий мозок, нейронні, ниркові та печінкові клітини) показало подібну тенденцію: наночастинки меншого розміру мають вищу токсичність. Було встановлено, що ті самі властивості, які визначають антимікробну дію наночастинок, зумовлюють і потенційний ризик для клітин-господаря. Найвищі значення IC_{50} для клітинних моделей також спостерігалися у наночастинок срібла, що вказує на їх високу цитотоксичність (див. рис. 3.5).

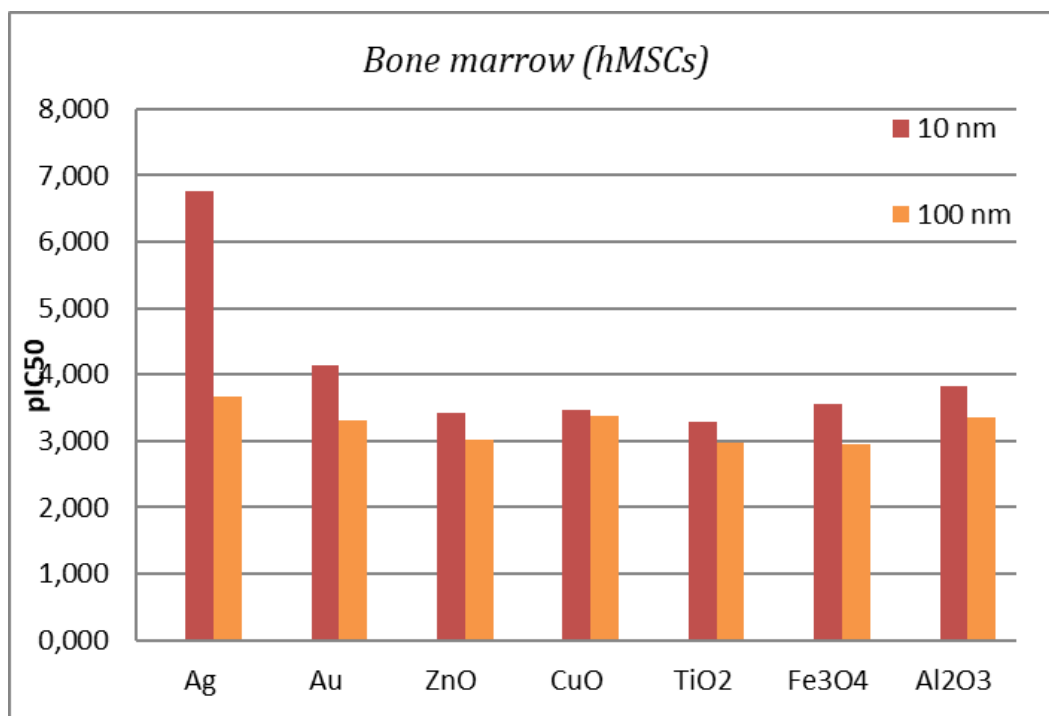


Рис. 3.5. Прогнозовані значення IC_{50} для наночастинок різного складу для клітин кісткового мозку людини (hMSCs)

Для оцінки потенційної токсичності наночастинок для клітин організму було проведено моделювання їх впливу на мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку людини (hMSCs – human mesenchymal stem cells). Ці клітини активно приймають участь у регенеративних процесах організму, оскільки мають здатність до диференціації в остеобласти, хондроцити та адипоцити, а також забезпечують підтримку гомеостазу тканин. Тому саме hMSCs часто використовуються як тестова модель для оцінки цитотоксичності наноматеріалів і визначення їх біосумісності [14].

Як видно з результатів, наночастинок срібла (Ag) демонструють найвищу цитотоксичність серед усіх досліджених матеріалів, особливо у випадку з розміром 10 нм ($pIC_{50} = 6,768$). Це свідчить про те, що саме срібло, яке показало найвищу антимікробну активність у попередніх дослідженнях, одночасно має і найвищий потенціал токсичного впливу на клітини організму. Для інших матеріалів (золота, оксидів цинку, міді, титану, заліза та алюмінію) показники токсичності суттєво нижчі (pIC_{50} у межах 3,2-4,1 для 10 нм і 2,9-3,6 для 100 нм).

Також було проаналізовано потенційну токсичність наночастинок щодо клітин трьох життєво важливих органів – головного мозку, нирок і печінки. Для цього використано лінії клітин C-17-2 Neural progenitor, COS та Primary human hepatocyte, які є загальновизнаними модельними системами для оцінки нейротоксичності, нефротоксичності та гепатотоксичності відповідно.

Клітини C-17-2 Neural progenitor є попередниками нейронів та гліальних клітин, тому їх реакція на наноматеріали дозволяє оцінити можливі ризики впливу на нервову систему. Клітини COS походять з епітелію нирок ссавців і відображають поведінку ниркових клітин при контакті з наночастинками. Модель Primary human hepatocyte, що базується на первинних гепатоцитах людини, відтворює метаболічні процеси печінки, забезпечуючи точну оцінку потенційної гепатотоксичності наноматеріалів [11, 24, 27].

Клітини C-17-2 належать до безсмертної мишачої лінії нейрональних прогеніторів, яку запропонували як *in vitro* заміну первинним нервовим культурам. Їх часто використовують як лабораторну модель нервової тканини,

щоб оцінити, як наночастинки впливають на клітини мозку. Такі експерименти показують, що певні наночастинки можуть проникати в клітину, змінювати роботу генів або навіть викликати загибель клітин при високих концентраціях. Завдяки цьому модель C-17-2 допомагає зрозуміти, які наноматеріали потенційно небезпечні для нервової системи [11].

Клітини COS у дослідженнях наноматеріалів використовують як зручну, відтворену модель ниркового епітелію: вони швидко ростуть, мають добре описані ендоцитозні шляхи та дозволяють порівнювати токсичність звичайних і модифікованих частинок. Їх використовують, щоб з'ясувати, чи накопичуються частинки в клітинах, чи викликають вони пошкодження, і як покриття або розмір частинок впливають на їх безпечність. Нирки є одним з головних органів, через який організм виводить біоматеріал, включаючи наноматеріали, тому результати з лінії COS дозволяють передбачити можливі ризики для видільної системи людини [24].

Первинні гепатоцити людини (Primary human hepatocytes) – це клітини, які безпосередньо ізолюють із тканини печінки, тому вони зберігають природну будову, активність ферментів і типові метаболічні шляхи, властиві цьому органу. Таку модель застосовують, щоб оцінити, чи можуть наночастинки викликати пошкодження печінки, змінювати роботу ферментів або накопичуватися в тканинах. Ці клітини є універсальними для перевірки гепатотоксичності, оскільки саме печінка найчастіше першою стикається з наноматеріалами після потрапляння їх у кров [27].

Як і в попередніх випадках, найбільш токсичними залишаються наночастинки срібла (Ag), що демонструють максимальні значення IC_{50} у межах 6,5-7,0 для клітин мозку, нирок і печінки. Це свідчить про потенційно виражений цитотоксичний ефект, який посилюється при зменшенні розміру частинок до 10 нм. Для решти матеріалів як і в минулому випадку спостерігаються нижчі показники – у межах 3,0-4,0 (див. рис. 3.6-3.8).

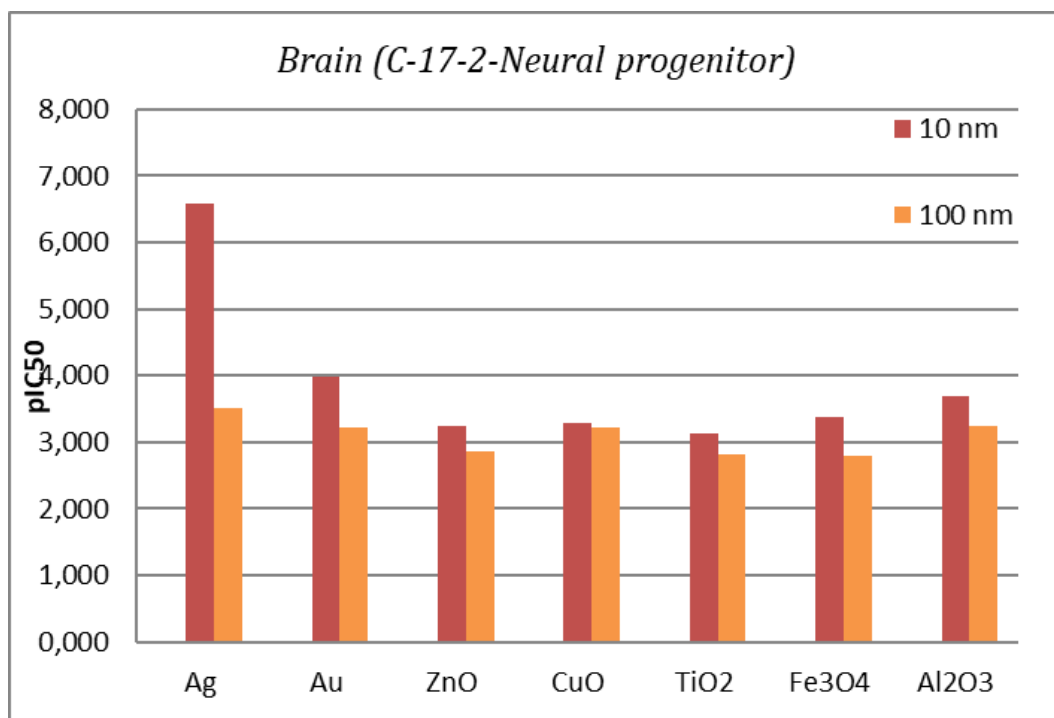


Рис. 3.6. Прогнозована цитотоксичність наночастинок для клітин головного мозку (C-17-2-Neural progenitor)

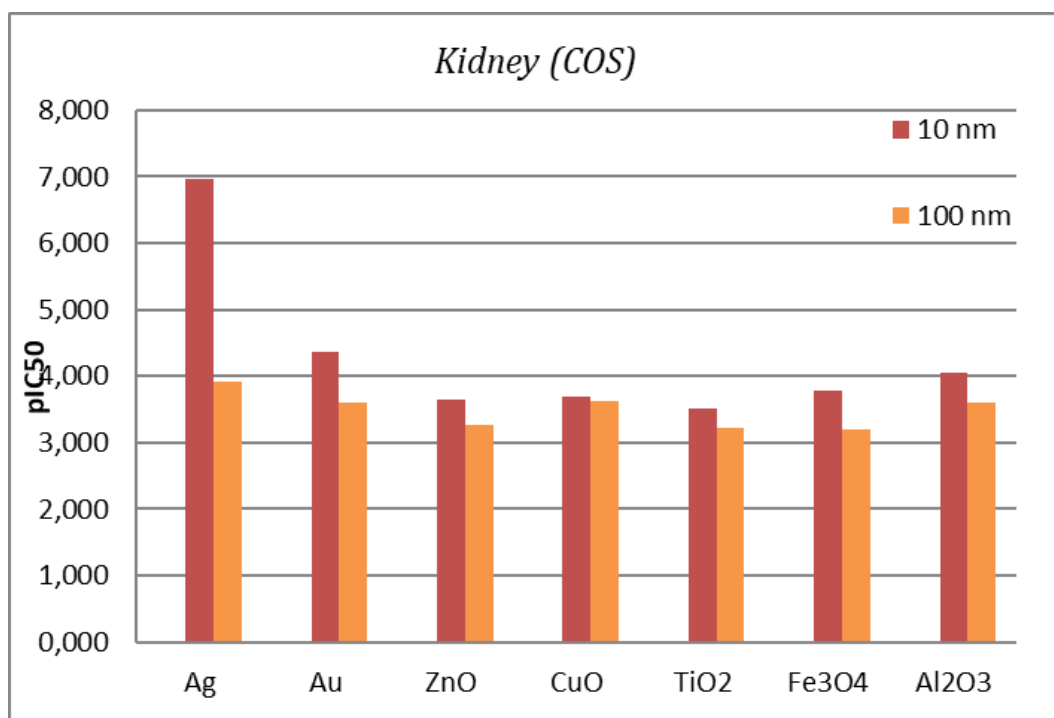


Рис. 3.7. Прогнозована цитотоксичність наночастинок для клітин нирок (COS)

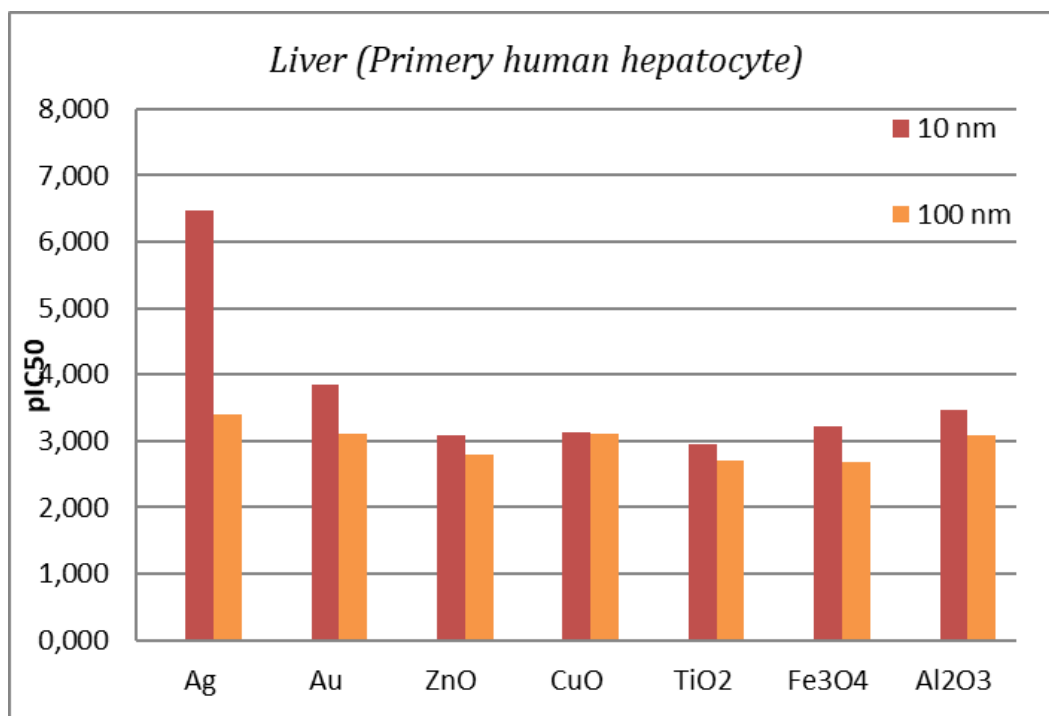


Рис. 3.8. Прогнозована цитотоксичність наночастинок для клітин печінки (Primery human hepatocyte)

Отже, незалежно від типу клітин організму, тенденція залишається подібною: зменшення розміру наночастинок призводить до підвищення їх токсичності. Найвищі значення pIC50 для срібла підтверджують, що цей матеріал є одночасно найбільш активним і має найбільші ризики у випадку використання з точки зору біобезпеки. Це особливо важливо для клітин життєво важливих органів та тканин – мозку, кісткового мозку, печінки та нирок, які чутливі до впливу металевих та металооксидних наноструктур.

Порівняльний аналіз результатів моделювання впливу наночастинок на бактерії та клітини організму дозволив встановити взаємозв'язок між їх антимікробною активністю та потенційною токсичністю для людини. В усіх досліджених випадках наночастинок срібла проявили найвищу ефективність щодо патогенних бактерій, але водночас і найвищу цитотоксичність. Це свідчить про те, що механізми, які зумовлюють антибактеріальну дію (окиснювальний стрес, руйнування клітинної мембрани, утворення активних форм кисню), можуть одночасно бути шкідливими і для клітин-господаря.

Для наночастинок золота, оксидів цинку, міді, титану, заліза та алюмінію спостерігався нижчий рівень токсичності порівняно із сріблом, проте їх антимікробний ефект також був слабшим. Це дозволяє зробити висновок, що залежність «ефективність/безпека» є обернено пропорційною – чим активніші наночастинок щодо бактерій, тим вищий ризик їх токсичного впливу на клітини організму.

У ході дослідження було встановлено, що рівень токсичності наночастинок має обернену залежність від їх розміру: чим менші частинки, тим більш виражена їх здатність проникати крізь клітинні стінки шляхом пасивної дифузії. Це пояснюється збільшенням питомої площі поверхні наночастинок при зменшенні їх діаметра, що підвищує їх реакційну здатність та полегшує контакт із клітинними мембранами. Отже, саме нанорозмір визначає біологічну активність і цитотоксичність таких систем, впливаючи і на бактерії, і на клітини організму.

Отримані результати підтверджують, що антибактеріальні властивості наночастинок залежать не лише від хімічної природи матеріалу, а й від розміру частинки. Металеві наночастинок, зокрема на основі срібла, золота, цинку, міді, титану, заліза та алюмінію, демонструють вищу антимікробну активність за зменшення розміру до 10 нм. Проте їх висока токсичність проявляється і щодо клітин організму, що свідчить про відсутність достатньої селективності дії. Таким чином, незважаючи на перспективність таких матеріалів для фармакологічних застосувань, пряме використання подібних наночастинок у терапевтичних засобах без додаткової модифікації є недоцільним.

У цілому отримані результати свідчать, що застосування наночастинок у медицині вимагає ретельного підбору матеріалів і параметрів частинки залежно від цільового використання. Для створення терапевтичних і профілактичних засобів на основі наночастинок металів та їх оксидів важливо досягти компромісу між ефективністю антимікробної дії та безпечністю для клітин-господаря. Одним із перспективних напрямів подальших досліджень є модифікація поверхні наночастинок або створення наноконструкцій, які б забезпечували селективне проникнення в бактеріальні клітини, мінімізуючи вплив на клітини людського

організму [7, 15].

У межах виконаного моделювання можна зробити висновок, що наночастинки металів дійсно демонструють виражену двоїстість у своїй дії: вони ефективно пригнічують ріст бактерій, але водночас становлять потенційну небезпеку для клітин людини. Проведене порівняння показників IC_{50} для бактеріальних та еукаріотичних клітин підтверджує відсутність достатнього селективного ефекту, що є головним обмеженням у безпосередньому медичному використанні таких наноматеріалів.

Найкраще співвідношення між ефективністю та безпечністю спостерігається для частинок оксидів заліза та алюмінію, які виявили відносно низьку токсичність для клітин організму при збереженні помірної антимікробної активності, але їх дія все ще є шкідливою і не настільки ефективною для клітин органів та тканин, щоб використовувати їх не тільки у лабораторних умовах, оскільки різниця між показниками токсичності цих наночастинок для бактерій та клітин організму є незначною, що видно з отриманих даних.

ВИСНОВКИ

1. За результатами комп'ютерного моделювання (NanoToxRadar) найвищу прогнозовану антибактеріальну активність демонструють наночастинки срібла, що супроводжується одночасно більшою токсичністю для клітин-господаря.

2. Зменшення діаметра наночастинок із 100 до 10 нм підсилює як антибактеріальну дію, так і токсичність для клітин-господаря, що підтверджує визначальний вплив розміру на біологічну активність і безпечність наноматеріалів.

3. Наночастинки Au, ZnO, CuO, TiO₂, Fe₃O₄ та Al₂O₃ загалом поступаються Ag за антибактеріальною активністю, проте характеризуються нижчими рівнями прогнозованої цитотоксичності, що формує компроміс між ефективністю та безпекою.

4. Для терапевтичних або профілактичних засобів на основі наночастинок металів та їх оксидів доцільним є пошук балансу між антимікробною дією та мінімальною цитотоксичністю. Одним із потенційних напрямів подальших досліджень є модифікація поверхні наночастинок або створення нанокомпозитів, здатних вибірково взаємодіяти з бактеріальними клітинами, знижуючи при цьому негативний вплив на клітини організму людини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Barros, C. H. N., Fulaz, S., Stanisic, D., & Tasic, L. Biogenic nanosilver against multidrug-resistant bacteria (MDRB). *Nanomaterials*. 2018; 8(2): 93. DOI: 10.3390/nano8020093
2. Beltran, A. M., Meza-Radilla, G., & Ponce-Alquicira, E. Nanomaterials against antimicrobial resistance. *Microbiology Spectrum*. 2023; 11(2): e14510. DOI: 10.1128/spectrum.01451-0
3. Beyth, N., Hourri-Haddad, Y., Domb, A., Khan, W., & Hazan, R. Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015; Article ID 246012. DOI: 10.1155/2015/246012
4. Bharti, S. Harnessing the potential of bimetallic nanoparticles: Exploring a novel approach to address antimicrobial resistance. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2024; 40: 89. DOI: 10.1007/s11274-024-03923-1
5. Bi, J., et al. Immunotoxicity of metal and metal oxide nanoparticles. *Biomaterials Science*. 2023; 11(3): 725–748. DOI: 10.1039/D3BM00271C
6. Bianchini Fulindi, R., et al. Zinc-based nanoparticles reduce bacterial biofilm formation. *Microbiology Spectrum*. 2023; 11(2): e04831-22. DOI: 10.1128/spectrum.04831-22
7. De Oliveira, J. F. A., Campos, A. P. C., De Menezes, L. R., et al. Defeating bacterial resistance and preventing mammalian cells toxicity through rational design of antibiotic-functionalized nanoparticles. *Scientific Reports*. 2017; 7: 1–13. DOI: 10.1038/s41598-017-01209-1
8. Ducho, C. Getting the numbers right in medicinal chemistry. *ChemMedChem*. 2025; 20(1): e202400620. DOI: 10.1002/cmdc.202400620
9. Huh, A. J., & Kwon, Y. J. «Nanoantibiotics»: a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of Controlled Release*. 2011; 156(2): 128-145. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.07.002
10. Hwang, G., Liu, Y., Kim, D., Li, Y., Krysan, D. J., Koo, H. Antimicrobial

nanoparticles effectively target persister cells. *Scientific Reports*. 2017; 7: 12455. DOI: 10.1038/s41598-017-12564-6

11. Kermanizadeh, A., Gosens, I., MacCalman, L., et al. Primary human hepatocytes vs. hepatic cell line – assessing their suitability for in vitro nanotoxicology. *Nanotoxicology*. 2013; 7(7): 1255–1271. DOI: 10.3109/17435390.2012.734341

12. Lee, S., Park, J., Kim, T., Jeong, J., & Cho, K. NanoToxRadar: A Multitarget Nano-QSAR Model for Predicting the Cytotoxicity Values of Multicomponent Nanoparticles. *Environmental Science & Technology*. 2023. DOI: 10.1021/acs.est.3c02672

13. Liao, C., Li, Y., & Tjong, S. C. Bactericidal and cytotoxic properties of silver nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(2): 449. DOI: 10.3390/ijms20020449

14. Liu, X., Yang, Z., Sun, J., Ma, T., Hua, F., & Shen, Z. A brief review of cytotoxicity of nanoparticles on mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *International Journal of Nanomedicine*. 2019; 14: 3875–3892. DOI: 10.2147/IJN.S205574

15. Ma, J., Wang, H., Liu, J., & Zhang, X. Selective strategies for antibacterial regulation of nanomaterials. *RSC Advances*. 2022; 12(7): 4198–4219. DOI: 10.1039/D1RA08996J

16. Makabenta, J.M.V., Nabawy, A., Li, C.-H., Schmidt-Malan, S., Patel, R., Rotello, V.M. Nanomaterial-Based Therapeutics for Antibiotic-Resistant Bacterial Infections. *Nature Reviews Microbiology*. 2021; 19: 23-36. DOI: 10.1038/s41579-020-00498-5

17. Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 2022; 399(10325): 629-655. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0

18. Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007; 73(6): 1712-1720. DOI: 10.1128/AEM.02218-06

19. Palau, M., Contreras, M., Ferrer, M. In vitro antibacterial activity of silver nanoparticles against multidrug-resistant clinical isolates. *Microbiology Spectrum*. 2023; 11(5): e00280-23. DOI: 10.1128/spectrum.00280-23
20. Park, J. et al. NanoToxRadar: A Multitarget Nano-QSAR Model for Predicting the Cytotoxicity Values of Multicomponent Nanoparticles. *ACS Nanoscience Au*. 2025. DOI: 10.1021/acsnanoscienceau.5c00035
21. Prokhorenkova, L., Gusev, G., Vorobev, A., Dorogush, A. V., Gulin, A. CatBoost: unbiased boosting with categorical features. *Advances in Neural Information Processing Systems*. 2018; 31.
22. Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 2009; 27(1): 76-83. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.09.002
23. Shkodenko, L., Kassirov, I., Koshel, E. Metal oxide nanoparticles against bacterial biofilms: perspectives and limitations. *Microorganisms*. 2020; 8(10): 1545. DOI: 10.3390/microorganisms8101545
24. Shu, M., He, F., Li, Z., Zhu, X., Ma, Y., Zhou, Z., Yang, H. Biosynthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles using *Saccharomyces cerevisiae*, and cytotoxicity evaluation in COS-7 cells. *Nanoscale Research Letters*. 2020; 15: 14. DOI: 10.1186/s11671-019-3244-z
25. Singh, P., Pandit, S., & Mokkaapati, V. R. S. S. Gold nanoparticles in diagnostics and therapeutics for human cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 19(7): 1979. DOI: 10.3390/ijms19071979
26. Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O., & Bach, H. Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*. 2017; 15(1): 65. DOI: 10.1186/s12951-017-0308-z
27. Sun, D., Gong, L., Xie, J., He, X., Chen, S., Li, Q., Gu, Z., Xu, H. Evaluating the toxicity of silicon dioxide nanoparticles on neural stem cells using RNA-Seq. *RSC Advances*. 2017; 7. DOI: 10.1039/C7RA09512K
28. Ventola, C. L. The antibiotic resistance crisis: Part 1: Causes and threats. *P&T*. 2015; 40(4): 277-283.

29. Wang L., Hu C., Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects. *Journal of Nanobiotechnology*. 2017; 15: 65. DOI: 10.1186/s12951-017-0308-1
30. Web platform «NanoToxRadar». 2021. URL: <https://www.kitox.re.kr/nanotoxradar>
31. Zhou, Y., Kong, Y., Kuss, M., Duan, B., & Zhang, Y. Antimicrobial applications of metal-based nanomaterials: mechanisms, challenges, and perspectives. *Antibiotics*. 2023; 14(2): 207. DOI: 10.3390/antibiotics14020207