

УДК 615.451.16:582.573.41]-073/584+615.454.1:546.59]-073.584

ВИЗНАЧЕННЯ РОЗМІРУ НАНОЧАСТИНОК В БІОПРЕПАРАТАХ ЕКСТРАКТУ БУРКУНУ, АЛОЕ ТА ЗОЛОТА В ПОЛІАКРИЛАМІДНОМУ ГЕЛІ

Г. С. Фесюнова, канд. біол. наук, **О. О. Мороз**, канд. мед. наук,
В. Ф. Горчев, канд. фіз.-мат. наук, **С. Є. Литвин**, канд. фіз.-мат. наук

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»
Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України
Інституту електророзварювання ім. Є. О. Патона Національної академії наук України

С помощью метода фотон-корреляционной спектроскопии определены размеры наночастиц в растительных экстрактах алоэ и донника, а также в полиакриламидном геле с золотыми наночастицами. Объёмная доля веществ до 100 нм составила в экстракте донника 8 % со средним размером наночастиц — 40 нм и количественным вкладом 99,9 % (первая фракция), в экстракте алоэ — 50 % и средним размером наночастиц — 90 нм и количественным вкладом 99,9 % (первая фракция). В полиакриламидном геле с золотыми наночастицами объёмная доля наночастиц со средним размером 10 нм составила 92 % с количественным вкладом 99,9 % (первая фракция).

Ключевые слова: размер наночастиц, экстракт донника, экстракт алоэ, полиакриламидный гель, золото, фотон-корреляционная спектроскопия

Ключові слова: розмір наночастинок, екстракт буркуну, екстракт алоє, поліакриламідний гель, золото, фотон-кореляційна спектроскопія

Вступ. Сфера впровадження нанотехнологій в медичну практику значно поширюється. Унікальність нанотехнологій полягає в застосуванні речовин малого розміру (0,1–100 нм) для розробки нових препаратів з поліпшеною специфічністю та особливою методологією застосування з метою діагностики, профілактики і лікування. Інновації наномедицини є одним з способів підвищення якості та тривалості життя і тому належать до найбільш важливих проблем. З метою мінімізації побічної дії нанопрепаратів необхідне проведення ґрунтовних доклінічних і клінічних досліджень, пошуку індивідуального підходу та моніторингу впливу на здоров'я пацієнтів. Обережність впровадження нанотехнологій та співпраця теоретиків і клініцистів у галузі наномедицини з отриманням конкретних результатів ефективності нанопрепаратів є одним з ключових факторів поліпшення стану здоров'я населення. [1, 5, 9].

Як відомо, наночастинки виявляють дещо інші властивості порівняно з макроскопічними об'єктами з тієї ж самої речовини. Останнім часом пильну увагу дослідників привернуло наноструктуроване золото. Це пов'язано з його унікальними властивостями на рівні наночастинок. Такі властивості не характерні для макроскопічного золота і, в основному, пов'язані з великою кількістю поверхнево розташованих атомів, що зумовлено високим співвідношенням площі поверхні до об'єму наночастинок. До цих властивостей відносять поверхневий плазмонний резонанс, гігантське (підсилене поверхнево) раманівське розсіювання, високу каталітичну та хімічну активність [8, 11]. Інша

важлива властивість наночастинок золота, на відміну від макроскопічних об'єктів, — їх хімічна активність. Відомо, що золото нанорівня має високу спорідненість до тіолових (-SH) груп. Це відкриває широкі можливості для поєднання даних функціональних груп із різноманітними молекулами (в тому числі й макромолекулами) шляхом хімічної взаємодії з поверхніми наночастинок. Цей прийом отримав назву кон'югації, а у разі приєднання біологічно активних сполук — біокон'югації. Наночастинки золота можуть переносити специфічні розпізнавальні молекули (антитіла й антигени, ДНК, ферменти, біотин або стрептавідин, тощо) і використовуватись в імунологічних та біохімічних дослідженнях, а також при лікуванні. Іноді, коли молекула не має тілової групи, її приєднують шляхом хімічного синтезу або генно-інженерними методами. У деяких випадках біомолекули приєднуються до поверхні наночастинок не ковалентно, а шляхом електростатичних, гідрофільних та гідрофобних взаємодій [7].

У ряді робіт зазначається, що наночастинки золота мають низьку цитотоксичність та високу біосумісність [10]. Незважаючи на це, бракує досліджень щодо токсичності нанозолота *in vivo*, що має бути обов'язковим етапом дослідження перед клінічними випробуваннями таких препаратів.

Останнім часом перспективним напрямком науковці вважають розвиток нанофітології як науки, що вивчає наноструктури рослин, їх вплив на організм людини чи тварини, а також застосування

© Г. С. Фесюнова, О. О. Мороз, В. Ф. Горчев, С. Є. Литвин, 2012

продуктів нанотехнологій рослинного походження для профілактики і лікування різних захворювань [4]. Фізіологічно активні речовини рослин, окрім молекулярних, можуть бути і нанорозмірними. Речовини, що включаються в життєво необхідні реакції, мають різну молекулярну масу та різноманітну хімічну будову. Процеси взаємодії компонентів у складі препаратів виступають як проявлення фундаментальної здатності сполук різної розмірності до міжмолекулярних взаємодій. Фітопрепарати містять багато речовин з високою антиоксидаційною, мембраностабілізуючою та антирадикальною активністю. Це численні нанорозмірні поліфенольні сполуки, різноманітні каротиноїди та гідроксикислотні кислоти, аскорбінова кислота, токоферол та ін.

В лабораторії фармакології і тканинної терапії ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії НАМН України» було досліджено фармакологічну активність нових очних лікарських форм біопрепаратів буркуну, алое, колоїдного золота на основі поліакриламідного гелю. Експериментально доведено ефективність даних препаратів при моделюванні травматичного кератиту у кролів при повній відсутності ускладнень. Але саме застосування очних гелів «екстракт алое» і «колоїдне золото» при травматичному запаленні рогівки майже вдвічі прискорювало її епітелізацію, скорочувало термін запалення і тим самим сприятливо впливало на регенерацію рогівки в цілому [6].

Враховуючи вищезазначене, нами було досліджено кількісний і об'ємний розподіл наночастинок у водних екстрактах буркуну, алое та поліакриламідному гелі із золотими наночастинками.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Розподіл за розмірами частинок у колоїдних розчинах досліджували методом фотон-кореляційної спектроскопії [2, 3] на лазерному кореляційному спектрометрі (надалі метод ЛКС) «Zetasizer – 3» фірми Malvern Instruments Ltd. (Англія). Спектрометр був обладнаний корелятором (Multi Computing Correlator Type 7032се). Розрахунок функції розподілу наночастинок за розмірами з експериментально отриманої автокореляційної функції проводили за допомогою програми PCS Size Mode v.1.61. Визначення розподілу частинок за розмірами являється відносним: сумарний розподіл частинок по об'єму, по кількості та по інтенсивності розсіяння приймається за 100 %.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Розчин екстракту буркуну має високу розсіювальну здатність лазерного променя, стабільний в часі та складається з двох фракцій частинок. Об'ємна доля першої фракції наночастинок (15–80 нм) складала 8 % з кількісним вкладом 99,9 % та середнім розміром часток 40 нм. Об'ємна доля другої фракції (92 %) виявилася в мікророзмірному діапазоні (0,4–6 мкм) в кількості 0,1 % та середнім розміром частинок 2 мкм.

Розсіяння лазерного променя на чистому поліакриламідному гелі виявило високу ефективність,

але не піддавалося розрахункам внаслідок великої динамічної в'язкості гелю (7970 сПз). Оскільки метод оснований на теорії броунівського руху частинок, то у нього є обмеження по в'язкості середовища. Ідеальним є водний розчин (динамічна в'язкість води 0,89 сПз) з частинками. Тому, після розведення гелю дистильованою водою в пропорції 1:5, було повторно досліджено розподіл частинок. Розчин виявився стабільним в часі та складався з двох фракцій частинок. За об'ємом перша фракція наночастинок (10 – 50 нм) складала 93 % з кількісним вкладом 99,9 % та середнім розміром частинок 30 нм. 7 %-ий об'єм другої фракції перекирив два порядки за розмірами (90 нм – 2 мкм) з 0,1 %-им кількісним вкладом та середнім розміром частинок 600 нм (рис. 1а).

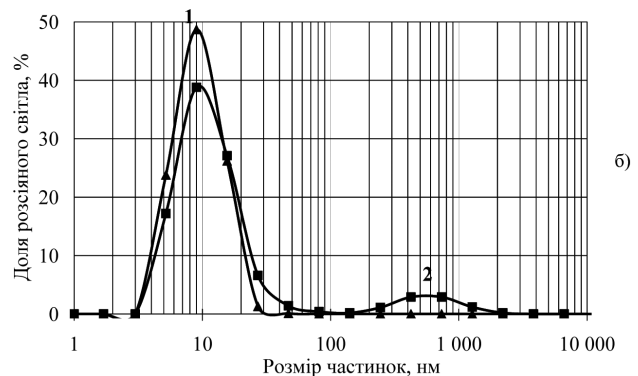
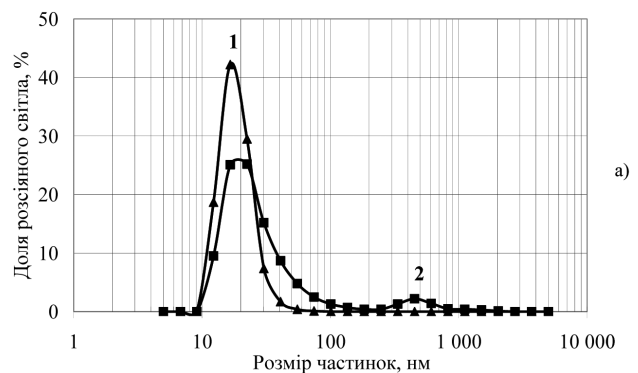


Рис. 1. Кількісний (1) та об'ємний (2) розподіл частинок за розмірами у водному розчині чистого поліакриламідного гелю (а) та гелю з золотими наночастинками (б).

Поліакриламідний гелі із золотими наночастинками також був розведений дистильованою водою в пропорції 1:5 для отримання можливості його дослідити методом ЛКС. Розчин виявився стабільним в часі та складався з двох фракцій частинок. По об'єму перша фракція наночастинок (5 – 40 нм) складала 92 % з кількісним вкладом 99,9 % та середнім розміром частинок 10 нм. Об'єм другої фракції склав 8 % в діапазоні розмірів (140 нм – 2 мкм) з 0,1 %-им вкладом по кількості та середнім розміром частинок 530 нм. В порівнянні з водним розчином

ЛІТЕРАТУРА

чистого поліакриламідного гелю інтенсивність розсіяння лазерного променя виросла вдвічі, що вказує на більшу концентрацію частинок в цьому розчині, а всі інші дані свідчать про схожість (з точки зору ЛКС) отриманих водних розчинів чистого гелю та гелю з золотими наночастинками (рис. 1б).

Розчин екстракту алое виявив високу розсіювальну здатність лазерного променя, стабільність в часі та мав склад з двох фракцій частинок. По об'єму перша фракція наночастинок (20 – 200 нм) складала 50 % з кількісним вкладом 99,9 % та середнім розміром часток 90 нм. 50 % вклад об'єму другої фракції в діапазоні розмірів (100 – 900 нм) склав 0,1 %-ий кількісний вклад з середнім розміром частинок 400 нм (рис. 2).

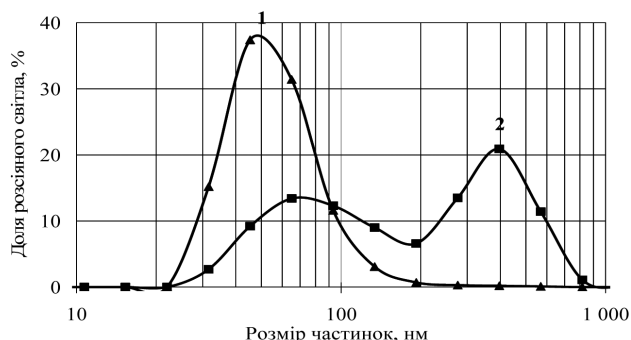


Рис. 2. Кількісний (1) та об'ємний (2) розподіл частинок за розмірами в екстракті алое.

ВИСНОВОК

Таким чином, всі досліджені розчини виявили високу розсіювальну здатність лазерного променя, стабільні в часі та склалися з двох фракцій частинок. В рослинних екстрактах виявлені різні за розмірністю компоненти, але об'ємна доля речовин малого розміру до 100 нм склала у екстракті буркуну 8 % з середнім розміром наночастинок у 40 нм та кількісним вкладом 99,9 % (перша фракція), в екстракті алое — 50 % з кількісним вкладом 99,9 % (перша фракція) та середнім розміром часток у 90 нм відповідно. В поліакриламідному гелі із золотими наночастинками об'ємна доля речовин до 100 нм склала 92 % з кількісним вкладом 99,9 % (перша фракція) та середнім розміром частинок 10 нм.

Отримані дані дозволяють продовжити досліді по вивченню кінетичного розподілу наночастинок золота в різних структурах організму в залежності від способу та тривалості введення.

1. Белоусов Е. Ю. Нанотехнология на пути продления жизненных процессов в организме / Е. Ю. Белоусов, Н. И. Оболонцев, А. Ю. Белоусов // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. — 2005. — № 3. — С. 5–7.
2. Лебедев А. Д. Лазерная корреляционная спектроскопия и биология / А. Д. Лебедев, Ю. Н. Левчук, А. В. Ломакин и др. — К.: Наукова думка, 1987. — 256 с.
3. Лебедев А. Д. Применение лазерной корреляционной спектроскопии для ЭФ биологических объектов в растворах / А. Д. Лебедев, А. В. Ломакин В. А. Носкин и др. // Инструментальные методы в физиологии и биофизике. — Л.: Наука, 1987. — С.90–95.
4. Мовчан Б. О. Нанотехнології, наномедицина, нанофармакологія, нанофітотерапія / Б. О. Мовчан, І. С. Чекман // Перший національний конгрес «Народна медицина в Україні», 18 вересня 2009 р.: тези доп. — К., 2009. — С.71–73.
5. Москаленко В. Ф. Наукові основи наномедицини, нанофармакології та нанофармації / В. Ф. Москаленко, В. М. Лісовий, І. С. Чекман [та ін.] // Вісник Нац. Мед. університету ім. О. О. Богомольця. — 2009. — № 2. — С. 17–31.
6. Пасечникова Н. В. Исследование фармакологической активности новых глазных лекарственных форм биопрепаратов на модели травматического кератита / Н. В. Пасечникова, Е. П. Сотникова, В. И. Салдан, Г. С. Фесюнова, О. А. Мороз // Філатовські читання, присвячені 75-річчю заснування Інституту ім. В. П. Філатова: міжнародн. наук. — прак. конф. офтальм., 26–27 травня 2011 р.: матеріали доп. — Одеса, Україна. — С. 352–353.
7. Huang X. Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles / X. Huang., P. K. Jain, I. H. El Sayed, [et.al.] // Lasers. Med. Sci. — 2008. — 23(3): 217–228.
8. Jain P. K. Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine / P. K. Jain, K. S. Lee, I. H. El Sayed, [et.al.] // J. Phys. Chem. B. — 2006. — 110(14): P.7238–7248.
9. Resnik D. B. Ethical issues in clinical trials involving nanomedicine / D. B. Resnik, S. S. Tinkle // Contemp. Clin. Trials. — 2007. — Vol. 28, № 4. — P. 433–441.
10. Son S. J. Inorganic hollow nanoparticles and nanotubes in nanomedicine. Part 2: Imaging, diagnostic, and therapeutic applications/ S. J. Son, X. Bai, S. B. Lee // Drug Discov. Today. — 2007. — Vol.12(15–16). — P.657–653.
11. Sönnichsen G. Gold nanorods as novel nonbleaching plasmon-based orientation sensors for polarized single-particle microcopy/ G. Sönnichsen, A. P. Alivisatos // Nano Lett. — 2005. — V.5(2). — P.301–304.

Поступила 19.10.2012
Рецензент д. м. н., проф. Э. В. Мальцев

DETERMINATION OF THE SIZE OF NANOPARTICLES IN BIOPREPARATIONS — EXTRACT OF SWEET CLOVER, ALOE AND GOLD IN POLYACRYLAMID GEL

Fesyunova G. S., Moroz O. A., Gorchev V. F., Litvin S. E.

The sizes of nanoparticles in the vegetable extracts of aloe and sweet clover as well as in the polyacrylamide gel with the gold nanoparticles were determined with the aid of the method of the photon- correlation spectroscopy. The volume fraction of the substances up to 100 nm in the extract of sweet clover was 8 % with the average size of nanoparticles of 40 nm and quantitative contribution of 99.9 % (the first fraction), in the aloe extract — 50 % and with the average size of nanoparticles — 90 nm and by quantitative contribution — 99.9 % (the first fraction). In the polyacrylamide gel with the gold nanoparticles the volume fraction of the nanoparticles with average size of 10 nm composed 92 % with quantitative contribution of 99.9 % (the first fraction).



УДК 617.77-006-036.1(083.41)(477)

**ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИКИ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ (ЗЭО)
КОЖИ ВЕК ПО ДАННЫМ ИНСТИТУТА ИМ. В. П. ФИЛАТОВА**

И. А. Сафроненкова, канд. мед. наук

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины»

Проведено ретроспективний аналіз історій хвороб 2400 пацієнтів зі ЗЕП повік, які лікувалися в Інституті ім. В. П. Філатова за період з 1986 по 2008 рр. Встановлено звернення пацієнтів переважно в пізніх (T_{2a-3} стадіях (54,7 %) і з переважанням виразкової форми (59,6 %) захворювання. У жителів сільської місцевості запущені (T_{2a-3} стадії) ЗЭО повік виявляються в 1,3 рази частіше, ніж у міського населення. Рецидиви після лікування за місцем проживання частіше виникають після хірургічного втручання (56,1 %).

Ключевые слова: злокачественные эпителиальные опухоли кожи век, клиника, характер поражения

Ключові слова: злоякісні епітеліальні пухлини шкіри повік, клініка, характер ураження

Введение. В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями населения Украины ЗЭО кожи находятся на первом месте среди мужского населения (22,8 %) и на втором, после рака молочной железы, у женщин (18,6 %) [4]. Среди всех злокачественных опухолей органа зрения ЗЭО кожи век составляют 68–75 % [2, 3]. Несмотря на то, что смертность от них составляет менее 1 %, заболеваемость во всем мире растет высокими темпами, опережая другие злокачественные новообразования и составляя 3–8 % в год, без тенденции к снижению [6–8]. Несмотря на доступность визуального контроля состояния кожи век как со стороны больного, так и врача, в Украине значительное число пациентов обращаются за медицинской помощью при поздних стадиях заболевания. Этому способствуют и выраженное многообразие клинических форм, широкая палитра клинико-морфологических характеристик и особенности клинического течения ЗЭО кожи век. Поэтому проблема ЗЭО кожи век не теряет своей актуальности.

Цель исследования: изучить частоту встречаемости и клинико-морфологические особенности

ЗЭО кожи век по данным офтальмоонкологического центра Института им. В. П. Филатова.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Проведен ретроспективный анализ историй болезней 2400 больных ЗЭО кожи век, лечившихся в офтальмоонкологическом центре ГУ «Институте ГБ и ТТ им. В. П. Филатова НАМН Украины» за период с 1986 по 2008 г. Для этого была создана электронная база данных, содержащая информацию о результатах обследования и лечения больных ЗЭО кожи век. Численные параметры заносились в базу в цифровом выражении, а качественные характеристики формализованы в виде порядковых показателей. Для оценки количественных показателей рассчитывали среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD). В исследовании двух и более групп по качественному признаку применялся анализ таблиц сопряженности с расчетом χ^2 статистики Пирсона. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Статистический анализ проведен с использованием лицензионного пакета «Statistica 9.0». База данных сформирована средствами MS Access.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Как показали наши исследования, с 1994 по 1997 год отмечается спад обращаемости больных ЗЭО кожи век в Институт им. В. П. Филатова (рис.1), что обуслов-

© И. А. Сафроненкова, 2012