

УДК . 577.151:579.864.1

## ОЦІНЮВАННЯ АВТОІМУННОГО ТА ДНК-УШКОДЖУВАЛЬНОГО ВПЛИВУ НАНОЧАСТИНОК ЗОЛОТА

В. І. Бобик<sup>1</sup>  
Л. М. Капустян<sup>1</sup>  
Л. М. Морозова<sup>1</sup>  
П. В. Погрібний<sup>3</sup>  
С. М. Дибкова<sup>2</sup>  
Л. С. Рєзніченко<sup>2</sup>  
Т. Г. Грузіна<sup>2</sup>  
З. Р. Ульберг<sup>2</sup>  
В. Ф. Коваленко<sup>4</sup>  
Л. Л. Сидорик<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут молекулярної біології і генетики  
НАН України, Київ

<sup>2</sup>Інститут біологічної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка  
НАН України, Київ

<sup>3</sup>Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології  
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ

<sup>4</sup>ДУ «Інститут медицини праці» НАМН України, Київ

E-mail: tgruzina@mail.ru

Отримано 30.09.2011

Методом хімічної конденсації синтезовано водні дисперсії наночастинок золота середніх розмірів — 7, 17 та 57 нм. Шляхом визначення титру автоантитілу проти дефенсину (mBD-2), шапероніну Hsp60 та серцевого міозину (Муо) досліджено характер автоімунної відповіді організму експериментальних тварин, індукованої інтраперитонеальним введенням наночастинок золота.

В експериментах *in vitro* та *in vivo* виявлено ДНК-ушкоджувальну дію наночастинок золота розміром 7 та 17 нм і відсутність такої під впливом наночастинок розміром 57 нм.

За показниками індукції автоімунної відповіді організму та ДНК-ушкоджувального впливу на тканини лабораторних тварин наночастинками золота різного розміру зроблено висновок, що частинки розміром 57 нм є найбільш перспективними для застосування у технологіях створення засобів діагностики і терапії патологій серцево-судинної системи.

**Ключові слова:** наночастинки золота, автоантитіла, дефенсин, шаперонін Hsp60, міозин, імунна відповідь, ДНК-ушкоджувальна дія.

З огляду на бурхливий розвиток наномедицини проблема застосування наночастинок металів як субстанцій нових високоєфективних засобів діагностичної та цільової терапії є досить актуальною.

Найбільш перспективними у цьому сенсі є наночастинки золота (GNP). Так, показано високу ефективність використання їх як контрастних агентів у магнітно-резонансній та рентгенівській комп'ютерній томографії [1, 2], фототермальній терапії онкологічних захворювань [3, 4], а також як векторів цільового доставлення лікарських препаратів, передусім протипухлинних [5–7].

Меншою мірою це торкнулося діагностики та терапії серцево-судинних захворювань, серед яких серцева недостатність вважається однією з найважливіших проблем. Проте активні дослідження, здійснювані у цьому напрямі, свідчать про значні перспективи використання наночастинок золота у кардіології [8–10].

Враховуючи вищезазначене, дослідження біологічної дії, зокрема вивчення автоімунного потенціалу та можливості кардіотропного або кардіотоксичного впливу GNP, є надзвичайно важливим і необхідним для біобезпечного застосування їх у кардіології.

Метою роботи було оцінити автоімунний та ДНК-ушкоджувальний вплив наночастинок золота різного розміру для визначення перспектив їх застосування у кардіології.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на мишах-самцях лінії Balb/C віварію Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Усі тварини віком 2–2,5 міс мали масу 18–23 г. Дослідження на тваринах виконували згідно з правилами, прийнятими Етичним комітетом ІМБіГ НАНУ. У роботі використовували синтезовані в Інституті біологічної хімії ім. Ф. Д. Овчаренка НАН

України препарати сферичних наночастинок золота середнього розміру 7, 17 та 57 нм (GNP-1, GNP-2 і GNP-3, відповідно). Розмір та форму наночастинок визначали методами трансмісійної електронної мікроскопії (JEM-1230, JEOL, Японія) та лазерно-кореляційної спектроскопії (Zetasizer-3, Malvern Instruments Ltd, Великобританія).

Препарати наночастинок вводили інтраперитонеально в 0,5 мл фізіологічного розчину згідно з протоколом індукції міокардитоподібної патології [11]. Титр антитіл проти протеїнів серцевого міозину інтактних мишей (Муо), як загальноприйнятого маркера розвитку міокардиту, антистресового протеїну Hsp60 і дефенсину мишей (mBD-2) у сироватці крові піддослідних тварин визначали на 14-ту, 28-му і 40-ву добу з моменту останнього введення препаратів наночастинок золота за допомогою твердофазного імуноензимного аналізу (ELISA) з модифікаціями [12]. Контролем слугували миші того самого віку, яким вводили тільки фізіологічний розчин (контроль на стрес).

Антигени (нативний міозин із серця інтактних мишей лінії Balb/c, рекомбінантний молекулярний шаперон/шаперонін Hsp60 і рекомбінантний бета-дефенсин мишей mBD-2) отримували згідно з методиками [13, 14] відповідно.

Застосовували такі модифікації методу ELISA. Антиген (10 мкг/мл) упродовж ночі інкубували в лунках полістирольного 96-лункового планшета при 4 °С. У контрольні лунки вносили розчин BSA (10 мкг/мл). Для запобігання неспецифічному зв'язуванню протеїнів сироватки крові з адсорбованим протеїном та пластиком використовували розчин PBS з 0,1% -м твін-20 (PBS-т). Сироватки крові експериментальних мишей вносили у лунки планшета з адсорбованим антигеном (у двох повторях) та інкубували протягом 1,5 год при 37 °С та 18 год при 4 °С. Зв'язування специфічних аутоантитіл з відповідним антигеном детектували за допомогою вторинних антитіл кроля проти IgG миші, мічених пероксидазою хрому (Promega, США). Для візуалізації результатів реакції використовували субстрат для пероксидази хрому АВТС (Sigma, США) у концентрації 0,5 мкг/мл у 50 мМ цитратного буфера, рН 5,0 з 0,05% -м концентрованим пероксидом водню, оптичну густину вимірювали за довжини хвилі 405 нм на спектрофотометрі Multiscan (Titertek, Великобританія). Визначали середнє значення оптичної густини двох повторів кожної сироватки (за умови, якщо відмінність між

повторами не перевищувала 15%). Антитілопозитивною вважали сироватку, оптична густина якої у розведенні 1:100 перевищувала середнє значення оптичної густини сироваток інтактних мишей (за того самого розведення) на два стандартних відхилення ( $m+2sd$ ). Усі досліджувані сироватки було перевірено на наявність специфічних аутоантитіл одночасно.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою пакета програм STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001, США). Результати подано у вигляді середніх значень ( $m$ ) із вказівкою на стандартне відхилення ( $sd$ ). Для порівняння середніх значень досліджуваних груп використовували U-критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test).

ДНК-ушкоджувальну дію препаратів наночастинок визначали *in vitro* з використанням культури тестових евкаріотичних клітин яєчника китайського хом'яка лінії CHO-K1 та *in vivo* на 14-ту добу з моменту введення препаратів піддослідним тваринам, як описано в [15, 16]. Позитивним контролем слугували клітини CHO-K1, оброблені N-нітрозометилсечовиною в концентрації 1 мМ протягом 24 год. Як негативний контроль використовували клітини CHO-K1 у розчині ДМСО.

ДНК-ушкоджувальний вплив наночастинок золота *in vivo* визначали на органах клітинах, виділених із печінки, нирок, селезінки, головного мозку, серця та легенів експериментальних тварин згідно з [16, 17].

Мікроскопію мікропрепаратів здійснювали за допомогою флуоресцентного мікроскопа (ЛЮМАМ Р8, Росія) з використанням фільтра збудження 490 нм, дихроїчного дзеркала 510, відтинаючого фільтра 530 нм. Збільшення —  $\times 200-400$ . На кожен мікропрепарат аналізували не менш ніж 100 «ДНК-комет» без накладень «хвостів». В аналізі не враховували апоптичні клітини, які виявлялися на мікропрепаратах у вигляді «ДНК-комет» з широким дифузним «хвостом» і практично відсутньою «головою», — так звані «їжачки».

Аналіз «ДНК-комет» проводили як візуально, так і шляхом комп'ютерної обробки цифрових зображень за допомогою програми СОМЕТ-САСР. При цьому визначали такі параметри «комет»: індекс «ДНК-комет» ( $I_{\text{ДНК}}$ ), «довжина хвоста», «% ДНК у хвості», «момент хвоста».

Здійснюючи візуальний аналіз, «ДНК-комети» розподіляли на п'ять умовних типів із відповідним для кожного числовим значенням від 0 до 4. Ступінь ушкодження ДНК при цьому виражали як індекс

«ДНК-комет» ( $I_{\text{ДНК}}$ ), який обчислювали за формулою:

$$I_{\text{ДНК}} = (0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4) / \Sigma,$$

де  $n_0 - n_4$  — число «ДНК-комет» кожного типу,  $\Sigma$  — сума «ДНК-комет».

Статистичну обробку результатів проводили за кожною експериментальною точкою, порівнюючи показники ушкодження ДНК в дослідних та контрольних групах. Критерієм позитивного результату слугував статистично достовірний відтворюваний ефект.

### Результати та обговорення

Наночастинки золота здатні до активної взаємодії з моторними протеїнами [18], інтенсифікації процесу трансформації енергії [19] та прояву шапероноподібної дії [20]. Тому застосування наночастинок золота у діагностиці й терапії патологій різного ґенезу, в тому числі серцево-судинної системи, потребує докладного вивчення молекулярних механізмів їхнього впливу на організм.

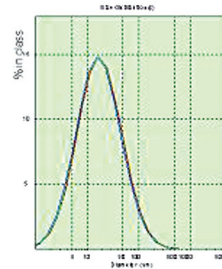
Розуміння цих процесів, особливо залежності їх від природи, способу синтезу, розміру та інших фізико-хімічних характеристик наночастинок, не тільки відкриває можливості для всебічного оцінювання потенційних ризиків застосування наноматеріалів, але й дає змогу створювати принципово нові унікальні технології спрямованого впливу на патологічні процеси на молекулярному рівні.

Препарати наночастинок золота середніх розмірів 7, 17 та 57 нм, використані для досліджень, були синтезовані методом хімічної конденсації. На відміну від багатьох фізичних методів, цей спосіб синтезу дозволяє отримувати монодисперсні за розміром біосумісні препарати наночастинок золота у водному розчині. На рис. 1 наведено дані лазерно-кореляційної спектроскопії та трансмісійної електронної мікроскопії для наночастинок золота середнього розміру 17 нм.

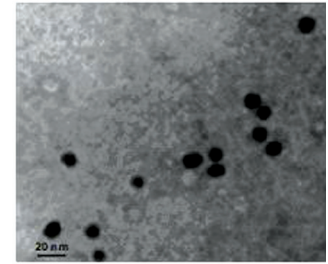
З метою визначення перспектив використання синтезованих наночастинок золота у розробленні засобів діагностики і терапії патологій серцево-судинної системи оцінювали характер їхнього впливу на організм модельних тварин за змінами у сироватці крові рівня автоантитіл проти дефенсину, антистресового протеїну (шапероніну) Hsp60 та серцевого міозину, а також за показниками ДНК-ушкоджувальної дії на клітини потенційних органів-мішеней.

Так, отримані дані засвідчили, що титр антитіл проти дефенсину мишей mBD-2 в си-

Run	Angle	KQpe	ZQve	Pdpr	Fit	Time
1	90.0	141.2	17.8	1.000	0.001348	14:47:20
2	90.0	143.1	16.8	1.000	0.001378	14:51:36
3	90.0	144.1	17.2	1.000	0.000965	14:55:53
Average		143.1	17.1	1.000		
st.		1.7	0.8	0.000		



А



Б

Рис. 1. Розподіл за гідродинамічним діаметром (А) та електронно-мікроскопічне зображення (Б) наночастинок золота середнього розміру 17 нм

роватці крові піддослідних тварин, визначений на 14-ту, 28-му і 40-ву добу після останнього введення препаратів наночастинок золота, не змінювався під впливом наночастинок золота середнього розміру 7 та 17 нм (рис. 2, криві mBD-2-GNP-1 та mBD-2-GNP-2, відповідно), порівняно з контрольними значеннями.

Незначне підвищення титру антитіл до дефенсину спостерігалось на 28-му добу після останнього введення препарату лише під впливом наночастинок середнього розміру 57 нм (крива mBD-2-GNP-3).

Визначення рівня автоантитіл проти антистресового протеїну Hsp60 виявило типовий характер імунної відповіді під впливом наночастинок золота розміром 7 нм (рис. 3, крива Hsp60-GNP-1).

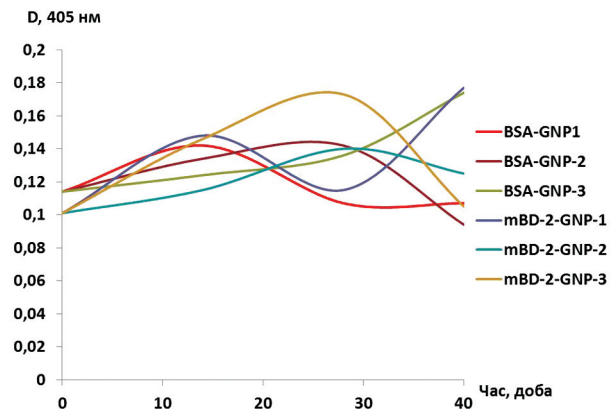


Рис. 2. Рівень автоантитіл проти дефенсину (mBD-2), визначений у сироватці крові мишей після введення препаратів наночастинок золота середнього розміру 7 нм (mBD-2-GNP-1), 17 нм (mBD-2-GNP-2) та 57 нм (mBD-2-GNP-3).

Як контрольний антиген використовували бичачий сироватковий альбумін (BSA-GNP-1, BSA-GNP-2, BSA-GNP-3)

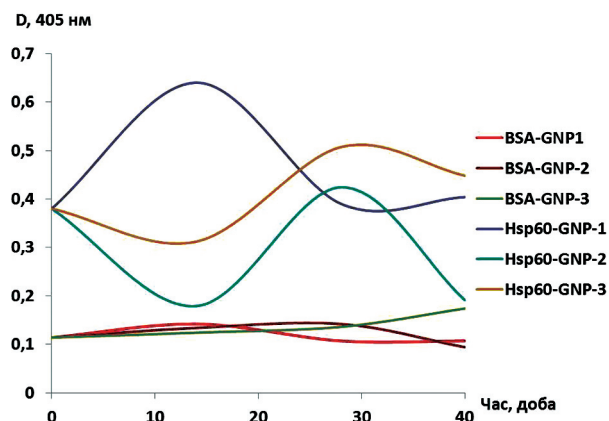


Рис. 3. Рівень автоантитіл проти Hsp60, визначений у сироватці крові мишей після введення препаратів наночастинок золота середнього розміру 7 нм (Hsp60-GNP-1), 17 нм (Hsp60-GNP-2) та 57 нм (Hsp60-GNP-3). Як контрольний антиген використовували бичачий сироватковий альбумін (BSA-GNP-1, BSA-GNP-2, BSA-GNP-3)

Під впливом наночастинок розміром 17 нм спостерігалось зменшення титру автоантитіл проти Hsp60 на 14-ту добу майже до рівня контролю з подальшим підвищенням до початкового рівня на 28-му добу експерименту та зменшенням на 40-ву добу знову до рівня контрольної реакції на BSA (рис. 3, крива Hsp60-GNP-2).

Найбільш виражені зміни з часом у титрі автоантитіл проти Hsp60 фіксували за дії наночастинок середнього розміру 57 нм (рис. 3, крива Hsp60-GNP-3). Лаг-фаза утворення досліджуваних автоантитіл під впливом наночастинок цього розміру становила 14 діб, після чого кількість антитіл досягала максимуму на 28-му добу і залишалась майже на цьому рівні на 40-ву добу після останнього введення препарату наночастинок.

Титр автоантитіл проти серцевого міозину під впливом наночастинок золота середнього розміру 7 нм (рис. 4, крива Myo-GNP-1), як і в разі характеру зміни рівня автоантитіл проти антистресового протеїну Hsp60 (рис. 3, крива Hsp60-GNP-1), характеризувався типовою кривою імунної відповіді.

Проте, на відміну від рівня антитіл до Hsp60, максимальну кількість анти-Myo-автоантитіл реєстрували у сироватці крові на 28-му добу після останнього введення препарату наночастинок GNP-1.

Під впливом наночастинок розміром 17 нм (препарат GNP-2) вміст анти-Myo-автоантитіл на 40-ву добу після останнього введення наночастинок знижувався до рівня контрольних значень (рис. 4, крива Myo-GNP-2).

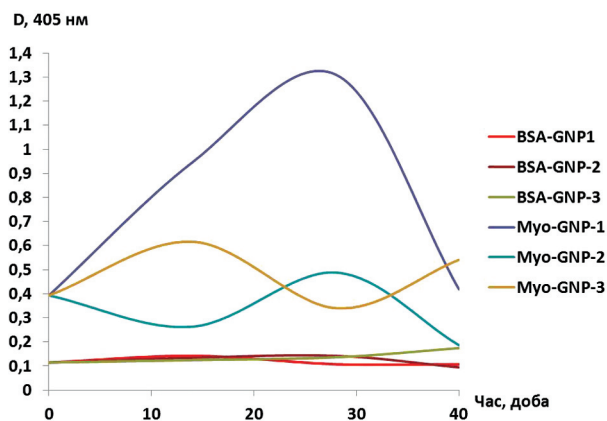


Рис. 4. Рівень автоантитіл до серцевого міозину (Myo), визначений у сироватці крові мишей після введення препаратів наночастинок золота середнього розміру 7 нм (Myo-GNP-1), 17 нм (Myo-GNP-2) та 57 нм (Myo-GNP-3). Як контрольний антиген використовували бичачий сироватковий альбумін (BSA-GNP-1, BSA-GNP-2, BSA-GNP-3)

Продукція анти-Myo-автоантитіл під впливом наночастинок розміром 57 нм характеризувалась двома фазами, які за характером імунної відповіді схожі з картиною первинного та вторинного імунного відгуку (рис. 4, крива Myo-GNP-3). Другу фазу підвищення продукції рівня анти-Myo-автоантитіл можна пов'язати з індукцією і прогресією автоімунної відповіді у піддослідних тварин, імунованих препаратом наночастинок середнього розміру 57 нм (GNP-3).

Таким чином, імунізація піддослідних тварин наночастинок золота розміром 7 та 17 нм призводила до типової імунної відповіді. Наприкінці експерименту рівень досліджених автоантитіл досягав рівня вихідних або контрольних величин. Унаслідок впливу наночастинок золота середнього розміру 57 нм спостерігалось підвищення рівня продукування автоантитіл проти антистресового протеїну Hsp60 та серцевого міозину поряд із відсутністю виражених змін титру автоантитіл проти дефенсину протягом усього експерименту.

Дослідження ДНК-ушкоджувального впливу наночастинок золота середніх розмірів 7, 17 та 57 нм, виконані методом лужного гель-електрофорезу ізольованих евкаріотичних клітин *in vitro*, продемонстрували таке.

У зразках евкаріотичних клітин лінії СНО-К1, оброблених наночастинок золота дискретних розмірів 7 та 17 нм, було зафіксовано первинні ушкодження ДНК. На рис. 5 подано електрофоретичні зображення типу «ДНК-комет», що характеризують первинні ушкодження ДНК під впливом вищезгаданих наночастинок.

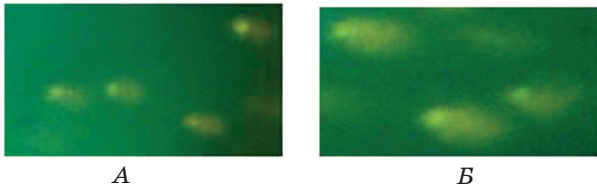


Рис. 5. Електрофоретичні зображення («ДНК-комети») uszkodженої ДНК евкаріотичних клітин лінії CHO-K1 унаслідок впливу наночастинок золота розміром ~7 нм (А) та ~17 нм (Б)

Виходячи з даних табл. 1, показники uszkodження ДНК евкаріотичних клітин CHO-K1 («індекс ДНК-комет»,  $I_{\text{ДК}}$ ) під впливом вивчених наночастинок золота розміром 7 та 17 нм сягають значень, близьких до  $I_{\text{ДК}}$  позитивного контролю.

Дослідження *in vitro* ДНК-ушкоджувального впливу наночастинок золота розміром 57 нм показали відсутність такої властивості у цих наночастинок, оскільки в зразках евкаріотичних клітин лінії CHO-K1 первинних uszkodжень ДНК не фіксували. На рис. 6 наведено електрофоретичне зображення неушкодженої ДНК клітин лінії CHO-K1 під впливом наночастинок розміром 57 нм. Індекс ДНК-комет при цьому сягав значень  $I_{\text{ДК}}$  негативного контролю.

Аналізуючи вищенаведені експериментальні дані щодо ДНК-ушкоджувального впливу наночастинок золота стосовно евкаріотичних клітин лінії CHO-K1, можна зробити висновок про наявність залежності такої дії

Таблиця 1. Оцінювання ДНК-ушкоджувального впливу наночастинок золота *in vitro*

Зразки евкаріотичних клітин	Індекс ДНК-комет ( $I_{\text{ДК}}$ )
Негативний контроль	0,02±0,001
Позитивний контроль	3,9±0,05
Оброблені наночастинками золота ~ 7 нм	2,3±0,02
Оброблені наночастинками золота ~ 17 нм	2,2±0,06
Оброблені наночастинками золота ~ 57 нм	0,02±0,001

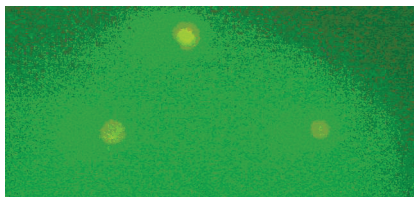


Рис. 6. Електрофоретична картина неушкодженої ДНК евкаріотичних клітин лінії CHO-K1 на наночастинками золота розміром 57 нм

від їхнього розміру. Так, експериментами *in vitro* продемонстровано наявність ДНК-ушкоджувальних властивостей наночастинок золота розміром 7 та 17 нм та відсутність їх для наночастинок золота розміром 57 нм. ДНК-ушкоджувальна дія наночастинок золота розміром 7 та 17 нм ймовірно зумовлена їхньою здатністю проникати через пори ядерної мембрани і спричиняти первинні uszkodження ДНК у вигляді однострижкових розривів.

ДНК-ушкоджувальний вплив наночастинок золота середніх розмірів 7, 17 та 57 нм було досліджено методом лужного гель-електрофорезу і в експериментах *in vivo* на ізольованих клітинах органів-мішеней лабораторних мишей. При цьому показано, що наночастинок золота розміром 57 нм, за умов їх інтраперитонеального введення, не виявляли ДНК-ушкоджувальної дії на клітини головного мозку, легень, нирок, печінки, селезінки та серця. Так, показники uszkodжень ДНК « $I_{\text{ДК}}$ » перебували на рівні аналогічних показників негативного контролю (табл. 2). При цьому електрофоретичні зображення типу «ДНК-комет» були відсутні.

Щодо ДНК-ушкоджувального впливу наночастинок золота середнього розміру 7 нм слід зазначити, що показники uszkodжень ДНК в головному мозку, легенях, нирках та печінці були в 2–6 разів вищі за аналогічні показники в клітинах органів мишей контрольної групи.  $I_{\text{ДК}}$  клітин серця мишей, яким вводили наночастинок золота 7 нм, був на рівні негативного контролю, а  $I_{\text{ДК}}$  клітин селезінки такої дослідної групи перевищував  $I_{\text{ДК}}$  контрольної групи в 9 разів. Таким чином, наночастинок золота розміром 7 нм виявляли ДНК-ушкоджувальні властивості *in vivo*.

Під впливом наночастинок розміром 17 нм у клітинах головного мозку, легень, нирок та печінки тварин дослідної групи показники uszkodжень ДНК перевищували значення показників контрольної групи в 6, 5, 9 та 4 рази відповідно (табл. 2).  $I_{\text{ДК}}$  клітин серця тварин, яким вводили наночастинок золота розміром 17 нм, перевищував  $I_{\text{ДК}}$  контрольної групи в 25 разів, а  $I_{\text{ДК}}$  клітин селезінки — у 85 разів. Таким чином, наночастинок золота 17 нм виявляли виражену ДНК-ушкоджувальну дію *in vivo*.

Отримані результати дозволяють стверджувати, що за дослідженими показниками автоімунного та ДНК-ушкоджувального впливу серед вивчених наночастинок золота, отриманих методом хімічної конденсації, наночастинок розміром 57 нм є найбільш перспективними для застосування у технологіях створення засобів діагностики і терапії патологій серцево-судинної системи.

Таблиця 2. Оцінювання ДНК-ушкоджувального впливу наночастинок золота *in vivo*

Групи тварин	Показник ДНК-ушкоджувальної дії в органах мишей (I <sub>ДК</sub> )					
	головний мозок	легені	нирки	селезінка	серце	печінка
Перша (уведено наночастинки золота ~7 нм)	0,011±0,005	0,034±0,006	0,045±0,005	0,132±0,01	0,050±0,001	0,015±0,004
Друга (уведено наночастинки золота ~17 нм)	0,030±0,001	0,025±0,001	0,115±0,01	1,275±0,5	0,125±0,02	0,024±0,001
Третя (уведено наночастинки золота ~57 нм)	0,007±0,001	0,005±0,007	0,017±0,004	0,020±0,002	0,005±0,005	0,007±0,006
Контрольна (без уведення наночастинок золота)	0,005±0,001	0,005±0,001	0,015±0,005	0,015±0,005	0,005±0,001	0,005±0,001

Виявлені особливості характеру імунної відповіді організму на присутність наночастинок золота різного розміру свідчать про необхідність подальших досліджень молекулярних механізмів їх впливу.

Автори висловлюють вдячність співробітникам Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Ка-

вецького НАН України к.б.н. Солдаткіній М. О. та к.б.н. Журавель О. К. за наданий препарат мишачого бета-дефенсину mBD-2.

Роботу виконано за фінансової підтримки Цільової комплексної програми фундаментальних досліджень НАН України «Фундаментальні проблеми наноструктурних систем, наноматеріалів, нанотехнологій».

### ЛІТЕРАТУРА

- Hainfeld J. F., Slatkin D. N., Focella T. M. Gold nanoparticles: a new X-ray contrast agent // *Br. J. Radiol.* — 2006. — N 79. — P. 248–253.
- Xu C., Tung G. A., Sun S. Size- and concentration effect of gold nanoparticles on X-ray attenuation as measured on computed tomography // *Chem. Mater.* — 2008. — V. 20, N 13. — P. 4167–4169.
- Letfullin R. R., Joenathan C., George T. F. Laser-induced explosion of gold nanoparticles: potential role for nanophotothermolysis of cancer // *Nanomedicine.* — 2006. — V. 1, N 4. — P. 473–480.
- Pissuwan D., Valenzuela S. M., Cortie M. B. Therapeutic possibilities of plasmonically heated gold nanoparticles // *Trends Biotechnol.* — 2006. — V. 24, N 2. — P. 62–67.
- Paciotti G. F., Myer L., Weinreich D. Colloidal gold: novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery // *Drug Deliv.* — 2004. — V. 11, N 3. — P. 169–183.
- Fu W., Shenoy D., Li J. Hetero-bifunctional poly(ethylene glycol) modified gold nanoparticles as an intracellular tracking and delivery agent // *NSTI-Nanotech.* — 2005. — V. 1. — P. 324–327.
- Cai W., Gao T., Hong H. Application of gold nanoparticles in cancer nanotechnology // *J. Nanotech. Sci. Appl.* — 2008. — N 1. — P. 17–32.
- Weakley S. M., Wang X., Mu H. Ginkgolide A-gold nanoparticles inhibit vascular smooth muscle proliferation and migration in vitro and reduce neointimal hyperplasia in a mouse model // *J. Surgical Research.* — 2011. — doi:10.1016/j.jss.2011.03.018.
- Guo Z. R., Gu C. R., Fan X. Fabrication of anti-human cardiac troponin I immunogold nanorods for sensing acute myocardial damage // *Nanoscale Res. Lett.* — 2009. — N 4. — P. 1428–1433.
- Cormode D. P., Roessler E., Thran A. Atherosclerotic Plaque Composition: Analysis with Multicolor CT and Targeted Gold Nanoparticles // *Radiology.* — 2010. — N 256. — P. 774–782.
- Smith S. C., Allen P. M. Myosin-induced Acute Myocarditis is a T-Cell-Mediated Disease // *J. Immunol.* — 1991. — V. 147, N 7. — P. 2141–2147.
- Terminck T., Bleux C., Gregoin J. Comparison between autoantibodies arising during Trypanosoma cruzi infection in mice and natural autoantibodies // *Ibid.* — 1990. — V. 144. — P. 1504–1511.
- Капустян Л. Н., Киямова Р. Г., Гришкова В. С. и др. Получение рекомбинантного GroEL и его иммунологическая кросс-реактивность с Hsp60 // *Биополимери та клітина.* — 2006 — Т. 22, № 2. — С. 17–120.
- Margossian S. Reversible dissociation of dog cardiac myosin regulatory light chain 2 and its influence on ATP hydrolysis // *J. Biol. Chem.* — 1985. — V. 260. — P. 13747–13754.
- Methods in Molecular Biology. In Situ Detection of DNA Damage. Methods and protocols / Edit. by V. Didenko. — Humana Press, 2002. — 279 p.
- Методичні рекомендації «Оцінка біобезпеки наноматеріалів органічної та неорганічної природи методом визначення генотоксичного впливу лужним гель-електрофорезом

- ізолюваних еукаріотичних клітин», затвержені Державним науково-контрольним інститутом біотехнології і штамів мікроорганізмів Міністерства аграрної політики України та Державним комітетом ветеринарної медицини України (Постанова № 661 від 14.05.2009 та Постанова № 1 від 23–24 грудня 2009 р.).
17. Пат. на корисну модель МПК (2009) G01N33/00 G01N33/48. Спосіб оцінки генотоксичних властивостей наноматеріалів / С. М. Дибкова, О. В. Годовський, М. Є. Романько, Т. Г. Грузина, З. Р. Ульберг, В. О. Ушкалов, А. М. Головка. — Заявл. 10.09.2009; Опубл. 25.03.2010, Бюл. № 6. — 4 с.
18. Kaur H., Chaudhary A., Kaur I. et al. Transportation of drug-gold nanocomposites by actinomyosin motor system // J. Nanopart. Res. — 2011. — V. 13. — P. 2295–2303.
19. Ульберг З. Р., Грузина Т. Г., Дибкова С. М., Резниченко Л. С. Біобезпечні наночастинки металів в наномедицині та нанобіотехнології // Вісн. пробл. біол. мед. — 2010. — № 4. — С. 72–77.
20. Fei L., Perrett S. Effect of nanoparticles on protein folding and fibrillogenesis // Int. J. Mol. Sci. — 2009. — V. 10. — P. 646–655.

### ОЦЕНКА АУТОИММУННОГО И ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА

В. И. Бобик<sup>1</sup>, Л. Н. Капустян<sup>1</sup>, Л. М. Морозова<sup>1</sup>,  
П. В. Погребной<sup>3</sup>, С. Н. Дыбкова<sup>2</sup>,  
Л. С. Резниченко<sup>2</sup>, Т. Г. Грузина<sup>2</sup>,  
З. Р. Ульберг<sup>2</sup>, В. Ф. Коваленко<sup>4</sup>, Л. Л. Сидорик<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии и генетики  
НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>Институт биокolloидной химии  
им. Ф. Д. Овчаренко НАН Украины, Киев

<sup>3</sup>Институт экспериментальной патологии,  
онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого  
НАН Украины, Киев

<sup>4</sup>ГУ «Институт медицины труда»  
НАМН Украины, Киев

E-mail: tgruzina@mail.ru

Методом химической конденсации синтезированы водные дисперсии наночастиц золота средних размеров 7, 17 и 57 нм. Путем определения титра аутоантител против дефенсина (mBD-2), шаперонина Hsp60 и сердечного миозина (Myo) исследован характер аутоиммунного ответа организма экспериментальных животных, индуцированного интраперитонеальным введением наночастиц золота. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* выявлено повреждение ДНК наночастицами золота размером 7 и 17 нм и отсутствие ДНК-повреждающего действия под влиянием наночастиц размером 57 нм.

На основании показателей аутоиммунного ответа организма и ДНК-повреждающего влияния на ткани лабораторных животных наночастиц золота разного размера сделан вывод, что частицы размером 57 нм являются наиболее перспективными для использования в технологиях создания средств диагностики и терапии патологий сердечно-сосудистой системы.

**Ключевые слова:** наночастицы золота, аутоантитела, дефенсин, шаперонин Hsp60, миозин, иммунный ответ, повреждение ДНК.

### ESTIMATION OF AUTOIMMUNE AND DNA-DAMAGE INFLUENCE OF GOLD NANOPARTICLES

V. I. Bobyk<sup>1</sup>, L. M. Kapustyan<sup>1</sup>, L. M. Morozova<sup>1</sup>,  
P. V. Pogribny<sup>3</sup>, S. M. Dybkova<sup>2</sup>,  
L. S. Rieznichenko<sup>2</sup>, T. G. Gruzina<sup>2</sup>, Z. R. Ulberg<sup>2</sup>,  
V. P. Kovalenko<sup>4</sup>, L. L. Sydoryk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Molecular Biology and Genetics  
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

<sup>2</sup>Ovcharenko Institute of Biocolloidal Chemistry of  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

<sup>3</sup>Kavetsky Institute of Experimental Pathology,  
Oncology and Radiobiology of National  
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

<sup>4</sup>SO «Institute of Medicine of Work»  
of National Academy of Medical Sciences  
of Ukraine, Kyiv

E-mail: tgruzina@mail.ru

Water dispersions of gold nanoparticles with average sizes 7, 17 and 57 nm have been synthesized by the method of chemical condensation. The character of autoimmune response of model animals' organisms induced by intraperitoneal injection of the gold nanoparticles has been studied via the determination of autoantibodies titre against defensin (mBD-2), chaperonin Hsp60 and heart myosin (Myo).

The DNA-damage action of gold nanoparticles with average sizes 7 and 17 nm as well as absence of one under the influence of 57 nm nanoparticles have been revealed *in vitro* and *in vivo*.

On the basis of the parameters of organism autoimmune response and DNA-damage influence on tissues of the laborator animals with gold nanoparticles of different size it was made a conclusion that 57 nm particles were the most perspective for using in technologies of cardio-vascular pathologies diagnostic and treatment preparations creation.

**Key words:** gold nanoparticles, autoantibodies, defensin, chaperonin Hsp60, myosin, immune response, DNA-damage action.