

НАНОМАТЕРІАЛИ У ДІАГНОСТИЦІ Й ТЕРАПІЇ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

М. В. ТОЛКАЧОВ, К. І. БОГУЦЬКА, О. М. САВЧУК, Ю. І. ПРИЛУЦЬКИЙ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна

E-mail: prylut@ukr.net

Отримано 30.12.2014

В огляді проаналізовано проблему розвитку сучасних біотехнологій для цілеспрямованого застосування біосумісних низькотоксичних об'єктів нанометрового розміру в лікуванні найпоширеніших захворювань, у тому числі цукрового діабету. Припускають, що за допомогою нанотехнологій найближчим часом буде вирішено проблему ранньої діагностики цього захворювання та розроблено нові ефективні методи його селективної терапії.

Узагальнено також сучасні дані літератури щодо новітніх біотехнологічних засобів терапії цукрового діабету, зокрема дію за умов *in vivo* й *in vitro* біосумісних комплексів на основі носіїв різної природи (глікополімерних, ліпідних тощо) та багатошарових структур з наночастинками як потенційних транспортерів інсуліну, а також використання біосенсорів і магнітних зондів на основі наночастинок (вуглецевих нанотрубок і оксиду заліза) для детектування глюкози та візуалізації бета-клітин острівців Лангерганса, які продукують інсулін.

Ключові слова: цукровий діабет, наноматеріали.

Цукровий діабет (ЦД; лат. *diabetes mellitus*) наразі залишається серйозною медико-соціальною проблемою. За визначенням ВООЗ, він набув статусу неінфекційної епідемії ХХІ ст. Так, кожні 10–15 років кількість людей, хворих на ЦД, подвоюється. За офіційною статистикою, в Україні на сьогодні зареєстровано понад 1 млн. хворих. Статистику цього захворювання на 2013 рік і прогноз щодо його прогресії у світі на 2035 рік подано в табл. 1 (дані Міжнародної федерації діабету — IDF). Як впливає з наведених даних, кількість хворих на ЦД відрізняється за регіонами проживання людей, співвідношенням між віковими групами (наприклад, Європа має найбільшу поширеність ЦД серед дітей) та витратами на лікування ЦД.

За даними ВООЗ, ЦД підвищує загальну смертність у 2–3 рази порівняно з популяцією без діабету і скорочує тривалість життя на 10–30%. Основною причиною інвалідизації та смерті хворих на ЦД є серцево-судинні ускладнення: інфаркт міокарда, інсульт, серцева недостатність. Розвиток ускладнень за діабету детермінований збільшенням атеросклерозу коронарних судин і великих ар-

терій. Окрім цього, серцева недостатність у хворих на ЦД може виникати за відсутності змін у коронарних артеріях у разі порушення структури та функцій міокарда — діабетичній кардіоміопатії [1]. Основними патогенетичними факторами розвитку серцево-судинних захворювань за ЦД сьогодні вважають гіперглікемію та інсулінорезистентність [2].

Гіперглікемія за ЦД сприяє підвищенню продуктів неензиматичного глікозування, які, у свою чергу, посилюють нагромадження вільних радикалів і порушують функцію ендотелію та кардіоміоцитів. Резистентність до інсуліну та компенсаторна гіперінсулінемія впливають на основні компоненти судин і серця. Окрім впливу на вуглеводний обмін, інсулінорезистентність порушує метаболізм ліпідів крові: підвищує показники тригліцеридів, ліпопротеїдів низької щільності та знижує ліпопротеїди високої щільності, сприяє розвитку ожиріння. Припускають існування зв'язку інсулінорезистентності з артеріальною гіпертензією.

ЦД супроводжується порушеннями вуглеводного, ліпідного і протеїнового обміну, що призводить до патологічних змін

Табл. 1. Оцінка захворюваності на ЦД у різних регіонах земної кулі
(дані Міжнародної федерації діабету — IDF)

IDF REGION	2013			2035			Increase in the number of people with diabetes
	Population MILLIONS	Number of people with diabetes MILLIONS	Comparative diabetes prevalence %	Population MILLIONS	Number of people with diabetes MILLIONS	Comparative diabetes prevalence %	
AFR	407.9	19.8	5.7	775.5	41.5	6.0	109.6
EUR	658.7	56.3	6.8	668.7	68.9	7.1	22.4
MENA	374.5	34.6	10.9	583.7	67.9	11.3	96.2
NAC	334.9	36.8	9.6	404.5	50.4	9.9	37.3
SACA	300.5	24.1	8.2	394.2	38.5	8.2	59.8
SEA	883.2	72.1	8.7	1,216.9	123.0	9.4	70.6
WP	1,613.2	138.2	8.1	1,818.2	201.8	8.4	46.0
World	4,572.9	381.8	8.3	5,861.8	591.9	8.8	55.0

у функціонуванні різних органів і систем. Велику увагу дослідників привертають біохімічні та молекулярні механізми, що лежать в основі розвитку цієї патології [3, 4]. Сучасні дослідження спрямовані на раннє виявлення ЦД та підбір його адекватної моно- і комплексної терапії.

Захворювання людини на ЦД зумовлено тим, що в її організмі в недостатній кількості виробляється інсулін або організм не здатен засвоювати його належним чином [3–5]. Інсулін (лат. *insula* — острівець) — гормон, який продукують бета-клітини острівців Лангерганса підшлункової залози. Він впливає на цитоплазматичну мембрану, збільшуючи поглинання і використання глюкози, наприклад жировою тканиною, разом зі збільшенням запасів жиру. Кінцевий ефект його дії зводиться до зниження вмісту глюкози у крові. У людини із захворюванням на ЦД глюкоза залишається циркулювати у крові і впродовж певного часу ушкоджує тканини. Отже, регуляція рівня глюкози у крові є важливою складовою терапії ЦД.

Дія інсуліну залежить від рецепторів на поверхні клітин-мішеней, які його зв'язують, а чутливість тканин до інсуліну — від кількості таких рецепторів [6].

Розрізняють три основні типи ЦД: 1-й і 2-й типи та гестаційний діабет (ГД; лат. *gestational diabetes mellitus*) [7, 8].

ЦД 1-го типу виникає внаслідок аутоімунної реакції, коли власна імунна система вражає бета-клітини острівців Лангерганса. Як наслідок, вони стають неспроможними виробляти необхідний інсулін, що призводить до його дефіциту в організмі, хоча чут-

ливість до інсуліну залишається нормальною. Захворювання може вражати людей будь-якого віку, однак зазвичай виявляється у дітей і підлітків (ЦД 1-го типу також називають «юнацьким» діабетом). Хворі з цією формою ЦД потребують регулярних ін'єкцій інсуліну для підтримання рівня глюкози в крові.

Рівень ендогенного інсуліну в крові коливається упродовж дня, максимально збільшуючись після приймання їжі. Потрапляючи у кров, він у подальшому інактивується печінкою, близько 10% виводиться із сечею (час напіврозпаду становить ~10 хв). Це створює певні складнощі за недостатньої секреції інсуліну, тому необхідними є препарати пролонгованої дії.

ЦД 2-го типу — найбільш поширений тип діабету, за якого в організмі продукується інсулін, однак кількість його може бути недостатньою або організм не здатен його сприймати (інсулінорезистентність має місце у м'язах, печінці, жировій тканині), що призводить до зростання рівня глюкози у крові [9, 10].

Потенційно важливими механізмами, які можуть бути пов'язані з ЦД 2-го типу та резистентністю до інсуліну, є: підвищений рівень розпаду ліпідів у жирових клітинах, резистентність до інкретину та його нестача, високий рівень глюкагону в крові, підвищений рівень утримання солі та води нирками, неналежне регулювання метаболізму ЦНС тощо [11–13].

Жінки, які упродовж вагітності набули резистентності до інсуліну за подальшого високого рівня глюкози у крові, хворіють

на ГД. Цей стан з'являється внаслідок блокування дії інсуліну, ймовірно гормонами плаценти. Як правило, жінки, які перенесли ГД, мають більший ризик набутти ЦД 2-го типу.

Наразі проводять численні біотехнологічні дослідження з метою розроблення нових, більш ефективних діагностичних і терапевтичних методів для подолання захворювання на ЦД [14–16]. Особливу роль у цих дослідженнях відіграють нанобіотехнології — застосування біодоступних і нетоксичних наноструктур, які характеризуються специфічною біоактивністю (наприклад, C_{60} -фулерен та його гідратовані кластери як потужні антиоксиданти [17, 18]), або здатні виступати носіями ліків (наприклад, інгібітори альдозоредуктази, що виявляють ефективну дію у запобіганні захворюванню ока і нервів у людей із ЦД [19]) для їх таргетного доставлення у клітини, органи і тканини організму. Використання багатьох інших наноструктур [20] передбачає удосконалення методів введення інсуліну та його цілеспрямовану дію на острівці Лангерганса підшлункової залози. Нижче проаналізовано конкретні приклади результатів досліджень у цьому напрямі.

Новітні біотехнологічні засоби у діагностиці й терапії ЦД. Для транспортування і контрольованого вивільнення інсуліну було використано біосумісні полі(епсилон-капролактон) наночастинки, одержані методом подвійної емульсії (дзета-потенціал становив -29 мВ; максимальний розмір — $796 \pm 10,5$ нм) [21]. Інсулінвмісні наночастинки не виявляли токсичної дії щодо культури клітин MIN6 (лінія бета-клітин підшлункової залози) і гепатоцитів. Уведені підшкірно та інтраперитонеально, вони зменшували глікемію базальних рівнів через 15 хв і виявляли стійкий гіпоглікемічний ефект у щурів із ЦД 1-го типу, демонструючи кращий терапевтичний ефект, аніж неінкапсульований інсулін.

Наразі розробляють наночастинки, які автоматично вивільнюють інсулін у кров, коли рівень глюкози стає занадто високим [19]. Показано, що така дія наночастинок у мишей може тривати упродовж 10 днів [22, 23]. Ці наночастинки мають тверде ядро з інсуліну, оточене шаром матеріалу на основі модифікованої глюкози — декстрану — та ензиму глюкозооксидази. За високого рівня глюкози декстран розщеплюється, унаслідок чого вивільнюється інсулін, що призводить до контрольованого підтримання рівня

глюкози. Наночастинки можуть відрізнятися за типом біосумісного покриття, наприклад хітозан або альгінат, що, відповідно, робить їх позитивно або негативно зарядженими.

Загалом, в основу класифікації наночастинок для терапії діабету може бути покладено природу носія, наприклад: полімерні (включаючи міцели і дендримери); ліпідні (ліпосоми; ліпідні нанокapsули, хіломікронподібні емульсії та рекомбінантні ліпопротеїди низької щільності); органометалеві (нанотрубки) тощо. Наносії лікарських препаратів мають володіти такими властивостями, як біодеградація (бути стабільними і зберігати хімічну структуру упродовж певного часу і, водночас, здатними до деградації), біосумісність, чутливість до зміни рН або температури [24]. Окрім того, їм мають бути притаманні пролонгована циркуляція у крові та накопичення в ділянках патологічного процесу. Як системи доставлення ліків на сьогодні активно використовують полісахариди. Їхні переваги полягають у високій біосумісності, здатності до деградації в організмі і подальшого виведення, подібності до позаклітинного матриксу. Основними природними полімерами у системах транспорту ліків є колаген, желатин, фібрин, хітозан, альгінат тощо [25].

Розробляють також комплекси на основі синтетичних спеціально сконструйованих поверхнево-активних полімерних носіїв, які можуть іммобілізувати лікарські сполуки та забезпечувати їх цільове доставлення. Вони містять фрагменти, наприклад поліетиленгліколю та інших субстанцій, що полегшує їм подолання клітинної ліпідної мембрани [26].

Наночастинки з полі(молочної-коглікової кислоти) (ПМГК), вкриті хітозаном, які містять гідрофобно-модифікований пальмітиновою кислотою ексендин-4 (Пал-Екс-4), було синтезовано і детально охарактеризовано в роботі [27] (рис. 1). Одержані результати засвідчили, що вкриті хітозаном сферичні ПМГК наночастинки (дзета-потенціал становив $+28,5$ мВ; максимальний діаметр ~ 700 нм) інкорпорується епітеліальними клітинами легень людини (A549) набагато краще, аніж непокриті. Вивільнення Пал-Екс-4 тривало близько 1,5 доби. Вкриті хітозаном ПМГК наночастинки акумулювались у легенях упродовж 72 год після пульмонального введення щурам із ЦД 2-го типу, тимчасом як непокриті — лише 8 год. Автори переконані, що хітозан-Пал-Екс-4 ПМГК-наночастинки можна розглядати як інгаляційну систему довготривалої дії для лікування ЦД 2-го типу.

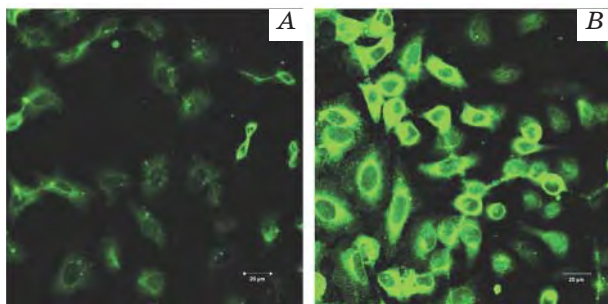


Рис. 1. Зображення наночастинок, одержаних за допомогою сканувальної електронної мікроскопії:

А — неукриті хітозаном ПМГК наночастинок;
В — укриті хітозаном ПМГК наночастинок [27]

У дослідженні [28] оцінювали можливість використання бичачого інсуліну та ексендину-4 (пептидний агоніст глюкагон-подібного рецептора, який сприяє секреції інсуліну) в комбінованій терапії шляхом орального доставлення наночастинок, що склалися з хітозану і полі(гамма-глутамінової кислоти) (ХЗ/γПГК), для контролю рівня глюкози у крові щурів із ЦД 2-го типу. Результати експерименту виявили, що ХЗ/γПГК наночастинок підвищують парacellularну кишкову проникність і, отже, екзогенний бичачий інсулін та ексендин-4 можуть бути транспортовані до печінки і підшлункової залози, де вони здатні виявляти глюкорегуляторні властивості. У відповідь на стимуляцію екзогенних доставлених бичачого інсуліну та секретованого інсуліну щура, стимульованого засвоєним ексендином-4, спостерігали значну утилізацію глюкози у серцевому і скелетних м'язах, унаслідок чого відбувалося зниження рівня цукру в крові. Завдяки синергічному ефекту гіпоглікемічна дія від орального надходження наночастинок з бичачим інсуліном та ексендином-4 була значно ефективнішою, аніж у групі, яку лікували лише інсуліновими наночастинками.

Серед можливих типів транспортування ліків перспективним є їх назальне застосування. Саме цей шлях дає змогу препаратів уникнути деградації у шлунково-кишковому тракті та метаболізму ензимами печінки. Для подовження часу перебування препаратів і поліпшення їх абсорбції було виготовлено біосумісний амфіфільний глікополімер полі(2-лактобіонамідоетил метакрилат-3-акриламідифенілбороваї кислоти). Інсулін інкапсулювали всередину цих наночастинок (об'єм ~12%). Дослідження *in vitro* показали, що вивільнення інсуліну може бути контрольованим завдяки модифі-

кації композиції глікополімерів. Важливим результатом було зниження рівня глюкози після назального введення наночастинок діабетичним щурам [29].

Багатошарові наночастинок формуються шляхом нашаровування — layer-by-layer (LbL-технологія). При цьому в полімерних мережах спостерігаються різні типи взаємодій (електростатичні, водневі, ковалентні тощо). Користь LbL-технології полягає в тому, що вона уможливорює створення системи доставлення складних біомолекул, таких як протеїни і нуклеїнові кислоти, з обмеженою розчинністю у неводних розчинах.

Інкретини, зокрема глюкагоноподібний пептид-1, поліпшують функцію бета-клітин, посилюють глюкозозалежну секрецію інсуліну, пригнічують підвищену секрецію глюкагону й уповільнюють спороження шлунка після надходження їх у загальний кровообіг зі шлунково-кишкового тракту. Ексенатид — потужний міметик інкретину, який зумовлює посилення глюкозозалежної секреції інсуліну та стимулює інші гіпоглікемічні ефекти, властиві інкретинам, що дає змогу вдосконалити контроль рівня глюкози у пацієнтів із ЦД 2-го типу.

У дослідженні [30] запропоновано метод доставлення ексенатиду з використанням наночастинок зі структурою ядро/панцир (покрива) (рис. 2). Взаємодію між ліпідними бішарами і Pluronic® F-68 було використано для формування різних наноструктур. Pluronic® F-68 — синтетичний полімер із ряду плуроніків (полоксамерів), використовуваних у культурах клітин як стабілізатори клітинних мембран для захисту їх від розриву. Досліджуючи морфологію таких наночастинок, застосовували методи просвічуальної електронної мікроскопії та динамічного розсіювання світла (рис. 3). Максимальний діаметр наночастинок у розчині (1 мг/мл наночастинок, диспергованих у фосфатно-сольовому буферному розчині — PBS, pH 7,4) становив 623,8 нм.

Фармакокінетичні параметри та антидіабетичний ефект досліджували залежно від структури наночастинок у дослідах *in vitro* та *in vivo*. Піддослідні тварини одержували ін'єкції підшкірно з вільним ексенатидом у дозах 10 нмоль/кг і наночастинками — 10 нмоль/кг. Результати терапії наведено у табл. 2 і на рис. 4. Виходячи із цих даних, можна припустити, що багатошарові наночастинок є потенційними транспортерами протеїнових ліків, мають здатність до їх вивільнення і, як наслідок, виступають регуляторами рівня глюкози у крові.

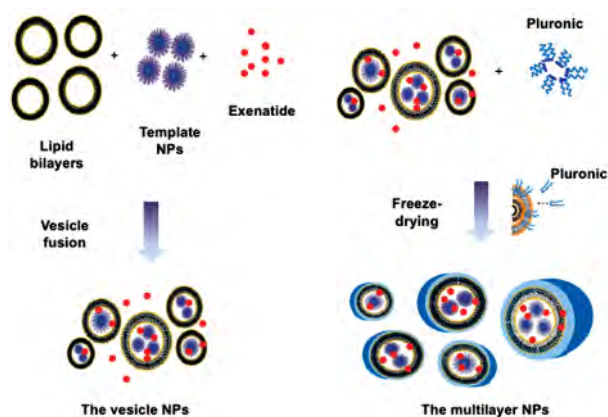


Рис. 2. Формування ексенатидвмісних багатшарових наночастинок [30]

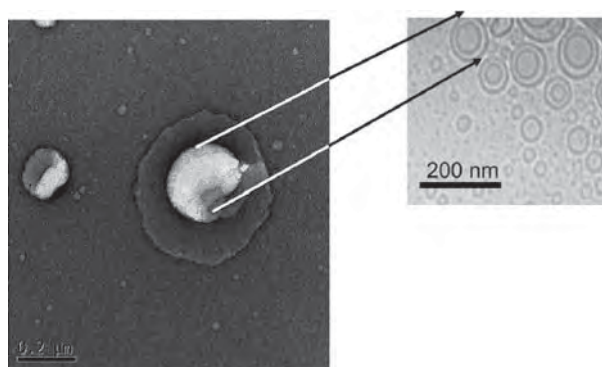


Рис. 3. Зображення везикульованих наночастинок, одержане методом просвічуальної електронної мікроскопії [30]

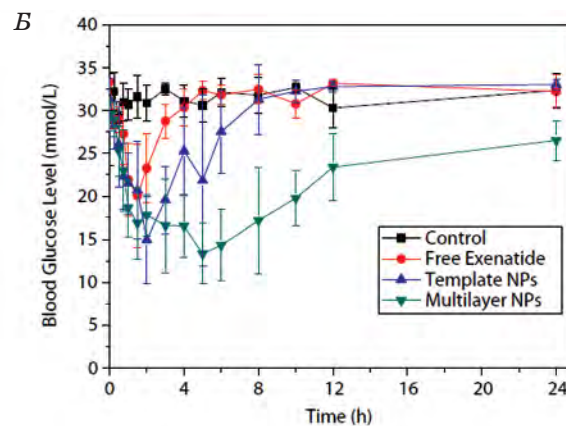
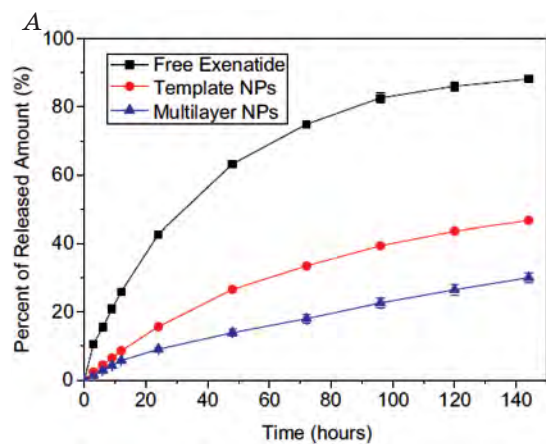


Рис. 4. Ефекти: вивільнення ексенатиду (А) та вплив ексенатидвмісних наночастинок на рівень глюкози у крові (Б) [30]

Табл. 2. Ефекти вільного ексенатиду та ексенатидвмісних наночастинок [30]

Formulation	$t_{1/2}$ (h)	T_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC (ng·h/mL)	MRT (h)
Free exenatide	0.49 ± 0.19	0.5 ± 0.25	49.49 ± 5.07	78.14 ± 5.97	1.22 ± 0.09
Template NPs	0.51 ± 0.06	0.5	58.74 ± 3.54	98.85 ± 23.15	1.30 ± 0.18
The multilayer NPs	0.84 ± 0.07	0.75 ± 0.29	55.33 ± 6.40	110.17 ± 21.91	1.57 ± 0.15

Data are means $\pm$ SDs ($n = 3$). $t_{1/2}$, elimination half-life; T_{max} , time to reach maximum plasma concentration; C_{max} , maximum plasma concentration; AUC, area under the curve; MRT, mean residence time.

Метою дослідження [31] було створення наноносія нового класу з мукоадгезією (прилипання до слизових оболонок муколітичної природи) та інгібуванням ензимів для трансназального доставлення інсуліну. Вивчено взаємодію наночастинок із клітинами Сасо-2 (монокультура клітин аденокарциноми товстого кишечника, яку використовують для оцінювання проникності лікарських речовин *in vitro*) і назального епітелію. Наночастинок сферичної форми (до 100 нм у діаметрі) виявляли значне інгібування активності ензимів та високий рівень муцинової абсорбційної здатності. Для інсулінвмісних наночастинок спостерігали швидке вивільнення інсуліну (до 3 мг/мл глюкози), що спричинювало зменшення рівня глюкози у плазмі крові.

З метою орального доставлення інсуліну з поліпшеним гіпоглікемічним ефектом використовували полі(лактид-ко-гліколід)/HP55-наночастинок, середній розмір яких досягав $181,9 \pm 19,0$ нм (рис. 5) [32]. Інсулінвмісні наночастинок було виготовлено шляхом випаровування розчинника з багатфазної емульсії. Ефективність інкапсуляції інсуліну досягала близько 94%. Вивчення його вивільнення проводили у рН-залежному режимі за умов стимуляції шлунково-кишкового тракту. За орального введення (50 IU/kg) діабетичним щурам наночастинок швидко знижували рівень глюкози у крові з максимальною ефективністю між 1-ю і 8-ю год експерименту. Відносна біодоступ-

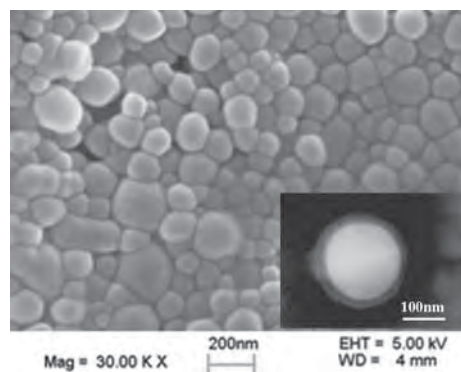


Рис. 5. Морфологія інсулінвмісних полі(лактид-ко-гліколід)/HP55 наночастинок [32]

ність порівняно з підшкірною ін'єкцією (5 МЕ/кг) у діабетичних щурів становила $11,30 \pm 1,05\%$. Цей ефект можна пояснити швидким викидом інсуліну у верхньому відділі кишечника, де він краще адсорбується завдяки високому градієнту концентрації, аніж в інших ділянках.

Відомо, що нікотинамід (НА), як фармакологічний агент, стимулює бета-клітини підшлункової залози до продукування інсуліну [33]. У свою чергу вуглецеві нанотрубки (ВНТ) здатні до ініціації та підтримання клітинних метаболічних відповідей [34, 35]. Так, продемонстровано, що введення багатошарових ВНТ (БВНТ), функціоналізованих НА, призводить до зростання продукції інсуліну порівняно з окремим введенням НА, БВНТ та контрольного розчину (рис. 6). Оброблення гібридної бета-клітинної лінії 1.4E7 упродовж 30 хв НА-БВНТ за концентрації від 1 до 20 мг/л сприяло значно більшому вивільненню інсуліну (від $0,18 \pm 0,026$ нг/мл для 1 мг/л до $0,27 \pm 0,028$ нг/мл для 20 мг/л). Порівняно з клітинами, які лікували лише НА ($0,1 \pm 0,01$ нг/мл для 1 мг/л та $0,17 \pm 0,01$ нг/мл для 20 мг/л), виявлено помітний позитивний ефект щодо продукування інсуліну в клітинах, до яких вводили НА-БВНТ. Отже, БВНТ, функціоналізована НА, може бути використана як антидіабетичний агент [36, 37]. На рис. 6 показано імунофлуоресцентне детектування синтезу інсуліну в інсулінпродукуючих клітинах за присутності НА-БВНТ [37].

Автори робіт [38, 39] вивчали можливість застосування гідратованого фулерену C_{60} ($C_{60}H_{12}N_4$; концентрація ~ 4 мг/мл) для профілактики і лікування ЦД. Діабет викликали одноразовою інтраперитонеальною ін'єкцією стрептозотоцину (СТЗ) у дозі 45 мг/кг

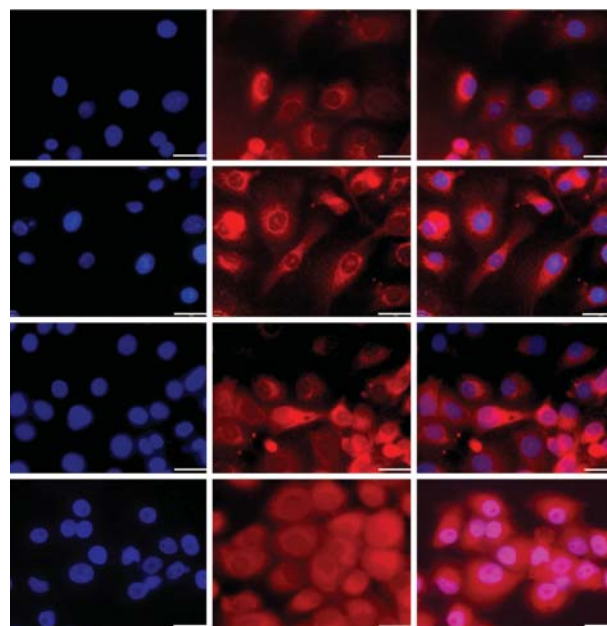


Рис. 6. Імунофлуоресцентне детектування синтезу інсуліну в інсулінпродукуючих клітинах за присутності НА-БВНТ [37]

маси тіла тварини. Піддослідних щурів вважали хворими на ЦД за показників рівня глюкози в крові понад 10 мМ. Розчинений у 0,9% NaCl $C_{60}H_{12}N_4$ вводили в дозі 0,3 мг/кг маси тіла тварини за тиждень до ін'єкції СТЗ або через тиждень після розвитку стабільної гіперглікемії. Як впливає з табл. 3, $C_{60}H_{12}N_4$ (група III) не справляв впливу на рівень глюкози у крові тварин, не усував причини гіперглікемії та не захищав інсулінпродукуючих панкреатичних клітин, уражених СТЗ (групи IV, V). Водночас, наноструктури гідратованого фулерену C_{60} зменшували показники оксидативного стресу (рівень ПОЛ, вміст карбонільованих протеїнів) у тканинах головного мозку і печінки експериментальних тварин.

Як зазначено вище, за ЦД 1-го типу бета-клітини руйнуються імунною системою, ЦД 2-го типу пов'язують з інсулінорезистентністю та дисфункцією бета-клітин і тому зменшення їхньої маси є загальною особливістю як для ЦД 1-го, так і ЦД 2-го типів. Хоча аналіз титрів автоантитіл і концентрації С-пептиду може дати корисну інформацію в лікуванні діабету, неінвазивний метод прямого моніторингу прогресування хвороби шляхом визначення маси бета-клітин матиме переваги для своєчасного реагування і надання адекватної відповіді захворюванню. На сьогодні для візуалізації бета-клітин у клінічній практиці використовують дигідротетрабеназин як ефек-

Табл. 3. Показники рівня глюкози у крові піддослідних тварин на початку і наприкінці досліду ($n = 7$) [38]

Treatment	Blood Glucose, mM	
	Onset of Experiment	End of Experiment
Group I (untreated control)	5.7 ± 0.31	5.9 ± 0.42
Group II (STZ)	5.8 ± 0.32	$14.6 \pm 2.40^*$
Group III (C_{60} HyFn control)	5.6 ± 0.30	5.5 ± 0.19
Group IV (C_{60} HyFn prophylactic regime + STZ)	5.3 ± 0.42	$13.8 \pm 1.70^*$
Group V (STZ + C_{60} HyFn therapeutic regime)	6.1 ± 0.53	$15.1 \pm 2.21^*$

* $P < 0.05$ vs. intact control (Group I)

тивний МРТ-зонд. Це лише підтверджує необхідність розроблення зондування, яке забезпечуватиме просту, відтворювану і безпечну технологію томографії островців Лангерганса *in vivo*.

Неінвазивна оцінка маси панкреатичних бета-клітин надасть велику допомогу в контролі ЦД 1-го типу. Із цією метою на основі оксиду заліза було синтезовано ексендин-4 магнітний нанозонд (MN-Ex10-Cu5.5) для таргентного зв'язування з глюкагонподібним 1-рецептором (ГЛП-1Р), який міститься на поверхні панкреатичних бета-клітин [40]. Піддослідних мишей було ін'єктовано внутрішньовенно зондами MN-Ex10-Cu5.5 і контрольним MN-Cu5.5 (10 мг Fe/кг, $n = 6$ у кожній групі). Проведені дослідження виявили специфічне накопичення таргентного зонда MN-Ex10-Cu5.5 порівняно з контрольним MN-Cu5.5.

Завдяки великій площі поверхні, високій електропровідності, хімічній стабільності й механічній міцності [34] ВНТ активно використовують у нанотехнологіях як чутливі елементи (сенсори). Їхня здатність брати участь в окисно-відновних реакціях робить їх ефективними молекулярними дротами, що уможливорює здійснення електричної комунікації між електродом і відновленим ензимом. Цей факт може бути використано, наприклад, в амперометричних сенсорах, асоційованих з такими ензимами, як оксидаза і дегідрогеназа. У цьому разі безпосереднє перенесення електрона між ФАД ензиму і ВНТ-електродом дає змогу уникнути використання медіаторів і, таким чином, є перспективним для розвитку безреагентних біосенсорів глюкози (рис. 7) [41]. Порівняно з класичними сенсорами [42] цей нанобіосенсор має такі переваги, як висока

чутливість і селективність, короткий час відгуку і довготривала стабільність. Попередні результати проведених досліджень засвідчили, що його точність вимірювання знижується лише до 90% упродовж місяця використання (понад 100 разів).

Автори роботи [43] встановили, що біосенсиори із селективною мембраною на основі амінованих та карбоксильованих БВНТ мають переваги порівняно з біосенсорами

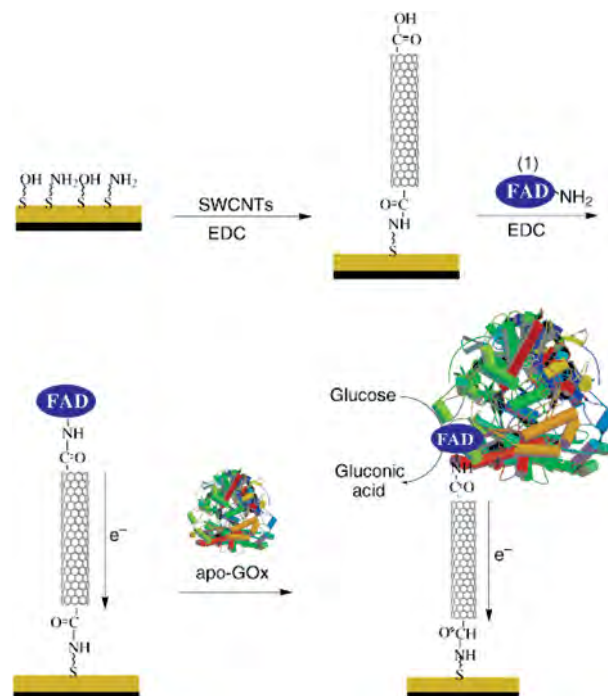


Рис. 7. Принцип роботи біосенсора для детектування глюкози на основі одношарової ВНТ [44]

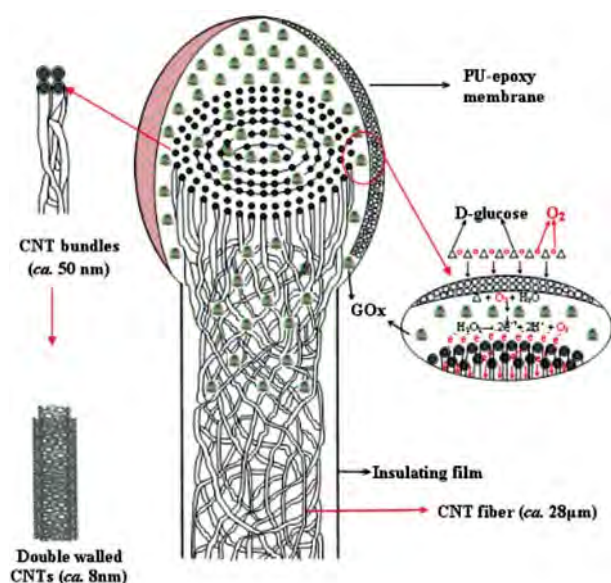


Рис. 8. Принцип роботи біосенсора глюкози на основі фібрил ВНТ [44]

REFERENCES

1. Kapustynska O. Patients with diabetes mellitus type 2 risk factors of coronary heart disease and diabetic cardiomyopathy. *Experim. Clinical Physiol. Biochem.* 2014, N 2, P. 106–111. (In Ukrainian).
2. Pankiv B. I. Diabetes: diagnostic criteria, etiology and pathogenesis. *Int. J. Endocrinol.* 2013, 8 (56), 53–69. (In Ukrainian).
3. Kuzishin O. V., Kovalishin N. V., Almashina Kh. V. Biochemistry of diabetes: 1. Theoretical part (review). *Bull. of Prikarpat. National Un-t. Chem. Ser.* 2010, Is. IX, P. 74–115. (In Ukrainian).
4. Kovalishin N. V., Almashina Kh. V., Kuzishin O. V., Midak L. Ya. Biochemistry of diabetes: 2. Experimental part — 1. *Bull. of Prikarpat. National Un-t. Chem. Ser.* 2010, Is. X, P. 141–157. (In Ukrainian).
5. Diabetes: diagnostics, treatment, prevention. Eds. I. I. Dedov, M. V. Shestakova. Moscow: Medical news agency. 2011, 808 p. (In Russian).
6. Halenova T. I., Kuznetsova M. Y., Savchuk O. M., Ostapchenko L. I. Isolation and characterization of insulin receptor of plasma membranes of rat liver cells at type 2 diabetes model. *Biotechnologia Acta.* 2014, 7 (3), 81–87. (In Ukrainian).
7. Harsoliya M. S., Patel V. M., Modasiya M., Pathan J. K., Chauhan A., Parihar M., Ali M. Recent advances & applications of nanotechnology in diabetes. *Int. J. Pharm. & Biol. Archiv.* 2012, 3 (2), 255–261.
8. Asatiani N., Kurashvili R., Popitashvili A., Helashvili M., Shelestova O., Tsutskiridze L. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes and Heart.* 2009, 5 (131), 47–51. (In Russian).
9. Tkachenko V. I., Vydyborets N. V., Bondar O. K. Modern approaches to the treatment of diabetes mellitus type 2 in the family physician's practice. *Diabetes and Heart.* 2014, 2 (178), 38–42. (In Ukrainian).
10. Tronko M. D., Pasteur I. P. Advances of regenerative medicine in the therapy of type 1 diabetes mellitus. III. Clinical trials in the use of stem cell s for the therapy of main disease. *Endokrynologia.* 2013, 18 (3), 53–63. (In Ukrainian).
11. Biletskyi S. V., Novytska O. Z., Petrynych O. A., Kazantseva T. V. The state of carbohydrate and lipid metabolism and glomerular filtration rate in patients with degree II hypertensive disease associated with type II diabetes. *Buk. Med. Herald.* 2014, 18 (2), 8–10. (In Ukrainian).
12. Pertseva N. O., Turlyun T. S. Clinical and morphological parallels in conditions of impaired platelet-vascular hemostasis in patients with type 2 diabetes. *Morfolohiia.* 2011, 5 (2), 5–18. (In Ukrainian).
13. Stavniichuk R. V., Kuchmerovska T. M. Diabetic neuropathy. Role of a 12/15-lipoxygenase and metabolism of arachidonic acid. *Endokrynologia.* 2014, 2 (19), 156–166. (In Ukrainian).
14. Grytsiuk M. I., Bojchyk T. M., Petryshen O. I. Comparative characteristics of experimental models of diabetes mellitus. *World of Medicine and Biology.* 2014, 2 (44), 199–203. (In Ukrainian).
15. Sona P. S. Nanoparticulate drug delivery systems for the treatment of diabetes. *Digest*

- J. Nanomater. Biostructur.* 2010, 5 (2), 411–418.
16. Globa Ye. V., Zelinska N. B. Using autoantibodies for differential diagnosis of different types of diabetes mellitus. *Int. J. Endocrinol.* 2014, 2 (58), 121–125. (In Ukrainian).
 17. Prylutska S. V., Grynyuk I. I., Matyshevskaya O. P., Prylutskyi Yu. I., Ritter U., Scharff P. Anti-oxidant properties of C₆₀ fullerenes *in vitro*. *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct.* 2008, 16 (5–6), 698–705.
 18. Shubina T. E., Sharapa D. I., Schubert Ch., Zahn D., Halik M., Keller P. A., Pyne S. G., Jennepalli S., Guldi D. M., Clark T. Fullerene van der Waals oligomers as electron traps. *J. Am. Chem. Soc.* 2014, 136 (31), 10890–10893.
 19. Prior A. M., Thapa M., Hua D. H. Aldose reductase inhibitors and nanodelivery of diabetic therapeutics. *Mini Rev. Med. Chem.* 2012, 12 (4), 326–336.
 20. Mishra M., Kumar H., Singha R. K., Tripathi K. Diabetes and nanomaterials. *Digest J. Nanomater. Biostruct.* 2008, 3 (3), 109–113.
 21. De Araújo T. M., Teixeira Z., Barbosa-Sampaio H. C., Rezende L. F., Boschero A. C., Durán N., Höhr N. F. Insulin-loaded poly(epsilon-caprolactone) nanoparticles: efficient, sustained and safe insulin delivery system. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2013, 9 (6), 1098–1106.
 22. Gu Z., Aimetti A. A., Wang Q., Dang T. T., Zhang Y., Veiseh O., Cheng H., Langer R. S., Anderson D. G. Injectable nano-network for glucose-mediated insulin delivery. *ACS Nano*, 2013, 7 (5), 4194–4201.
 23. Gu Z., Dang T. T., Ma M., Tang B. C., Cheng H., Jiang S., Dong Y., Zhang Y., Anderson D. G. Glucose-responsive microgels integrated with enzyme nanocapsules for closed-loop insulin delivery. *ACS Nano*, 2013, 7 (8), 6758–6766.
 24. Zdvizhkov Y., Bura M. Particular qualities of application of polyethylene glycol-based polymeric carrier for drug delivery to the coal target. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology*. 2014, Is. 64, P. 3–20. (In Ukrainian).
 25. Wong T. W. Chitosan and its use in design of insulin delivery system. *Recent Pat. Drug. Deliv. Formul.* 2009, 3 (1), 8–25.
 26. Minimol P. F., Paul W., Sharma C. P. PEGylated starch acetate nanoparticles and its potential use for oral insulin delivery. *Carbohydr. Polym.* 2013, 95 (1), 1–8.
 27. Lee C., Choi J. S., Kim I., Oh K. T., Lee E. S., Park E. S., Lee K. C., Youn Y. S. Long-acting inhalable chitosan-coated poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles containing hydrophobically modified exendin-4 for treating type 2 diabetes. *Int. J. Nanomed.* 2013, 8, 2975–2983.
 28. Chuang E. Y., Nguyen G. T., Su F. Y., Lin K. J., Chen C. T., Mi F. L., Yen T. C., Juang J. H., Sung H. W. Combination therapy via oral co-administration of insulin- and exendin-4-loaded nanoparticles to treat type 2 diabetic rats undergoing OGTT. *Biomaterials*. 2013, 34 (32), 7994–8001.
 29. Zheng C., Guo Q., Wu Z., Sun L., Zhang Z., Li C., Zhang X. Amphiphilic glycopolymer nanoparticles as vehicles for nasal delivery of peptides and proteins. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013, 49 (4), 474–482.
 30. Kim J. Y., Lee H., Oh K. S., Kweon S., Jeon O. C., Byun Y., Kim K., Kwon I. C., Kim S. Y., Yuk S. H. Multilayer nanoparticles for sustained delivery of exenatide to treat type 2 diabetes mellitus. *Biomaterials*. 2013, 34 (33), 8444–8449.
 31. Wang Y., Zhang X., Cheng C., Li C. Mucoadhesive and enzymatic inhibitory nanoparticles for transnasal insulin delivery. *Nanomedicine (Lond)*. 2014, 9 (4), 451–464.
 32. Wu Z. M., Ling L., Zhou L. Y., Guo X. D., Jiang W., Qian Y., Luo K. Q., Zhang L. J. Novel preparation of PLGA/HP55 nanoparticles for oral insulin delivery. *Nanoscale Res. Lett.* 2012, 7 (1), 299–306.
 33. Kuchmerovska T. M., Donchenko G. V., Tychohenko T. M., Guzyk M. M., Stavnichuk R. V., Yanitska L. V., Stepanenko S. P., Klimenko A. P. Nicotinamide influence on pancreatic cells viability. *Ukr. Biochim. Zhurn.* 2012, 84 (2), 81–88. (In Ukrainian).
 34. Prylutska S. V., Remeniak O. V., Honcharenko Yu. V., Prylutskyi Yu. I. Carbon nanotubes as a new class of materials for nanobiotechnology. *Biotehnologiya*. 2009, 2 (2), 55–66. (In Ukrainian).
 35. Rotko D. M., Prylutska S. V., Bogutska K. I., Prylutskyi Yu. I. Carbon nanotubes as new materials for neuroengineering. *Biotehnologiya*. 2011, 4 (5), 9–24. (In Ukrainian).
 36. Zhang Y., Bai Y., Yan B. Functionalized carbon nanotubes for potential medicinal applications. *Drug Discov. Today*. 2010, 15 (11–12), 428–435.
 37. Ilie I., Ilie R., Mocan T., Tabaran F., Iancu C., Mocan L. Nicotinamide-functionalized multiwalled carbon nanotubes increase insulin production in pancreatic beta cells via MIF pathway. *Int. J. Nanomedicine*. 2013, 8, 3345–3353.
 38. Nedzvetsky V., Andrievsky G., Chachibaia T., Tykhomyrov A. Differences in antioxidant/protective efficacy of hydrated C₆₀ fullerene nanostructures in liver and brain of rats with streptozotocin-induced diabetes. *J. Diabetes. Metab.* 2012, 3, 215–223.

39. Bal R., Türk G., Tuzcu M., Yilmaz O., Ozeran I., Kuloglu T., Gür S., Nedzvetsky V. S., Tykhomyrov A. A., Andrievsky G. V., Baydas G., Naziroglu M. Protective effects of nanostructures of hydrated C₆₀ fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats. *Toxicology*. 2011, 282 (3), 69–81.
40. Wang P., Yoo B., Yang J., Zhang X., Ross A., Pantazopoulos P., Dai G., Moore A. GLP-1R-targeting magnetic nanoparticles for pancreatic islet imaging. *Diabetes*. 2014, 63 (5), 1465–1474.
41. Zhu Zh., Garcia-Gancedo L., Flewitt A. J., Xie H., Moussy F., Milne W. I. A critical review of glucose biosensors based on carbon nanomaterials: carbon nanotubes and graphene. *Sensors*, 2012, 12 (5), 5996–6022.
42. Pyeshkova V. M., Saiapina O. Y., Soldatkin O. O., Dzyadevych S. V. Traditional and biosensor methods of mono- and disaccharides determination. *Biotechnologiia*. 2010, 3 (3), 9–22. (In Ukrainian).
43. Rogaleva N. S., Shkotova L. V., Lvova O. V., Garbuz V. V., Muratov V. B., Duda T. I., Vasilev O. O., Korpan Ya. I., Biloivan O. A. Amperometric biosensor modified with multiwalled carbon nanotubes for glucose determination. *Biotechnologiia*. 2012, 5 (1), 53–61. (In Ukrainian).
44. Zhu Z., Song W., Burugapalli K., Moussy F., Li Y. L., Zhong X. H. Nano-yarn carbon nanotube fiber based enzymatic glucose biosensor. *Nanotechnology*. 2010, 21 (16), 165501. doi: 10.1088/0957-4484/21/16/165501.

НАНОМАТЕРИАЛЫ В ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

М. В. Толкачев, Е. И. Богуцкая,
А. Н. Савчук, Ю. И. Прилуцкий

Киевский национальный университет
имени Тараса Шевченко, Украина

E-mail: prylut@ukr.net

В обзоре проанализирована проблема развития современных биотехнологий для целенаправленного использования биосовместимых низкотоксических объектов нанометрового размера в лечении наиболее распространенных заболеваний, в том числе и сахарного диабета. Предполагается, что с помощью нанотехнологий в ближайшее время будут решены проблемы ранней диагностики этого заболевания и разработаны новые эффективные методы его селективной терапии.

Обобщены также современные данные литературы о новейших биотехнологических средствах терапии сахарного диабета, в частности действие в условиях *in vivo* и *in vitro* биосовместимых комплексов на основе носителей различной природы (полимерных, гликополимерных, липидных и т. д.) и многослойных структур с наночастицами как потенциальных транспортеров инсулина, а также использование биосенсоров и магнитных зондов на основе наночастиц (в частности, углеродных нанотрубок и оксида железа) для детектирования глюкозы и визуализации бета-клеток островков Лангерганса, продуцирующих инсулин.

Ключевые слова: сахарный диабет, наноматериалы.

NANOMATERIALS IN THE DIAGNOSIS AND THERAPY OF DIABETES MELLITUS

M. V. Tolkachov, K. I. Bogutska,
O. M. Savchuk, Yu. I. Prylutskyy

Taras Shevchenko National University of Kyiv,
Ukraine

E-mail: prylut@ukr.net

The problem of development of modern biotechnologies for the purposeful use of biocompatible low toxic objects of the nanometer size in the treatment of the most widespread diseases, including diabetes, is analyzed in this review. It is likely that by means of nanotechnologies the problems of early diagnostics of this disease and new effective methods of its selective therapy will be developed.

The modern literature data on the latest biotechnological ways in therapy of diabetes are generalized, in particular the effect *in vivo* and *in vitro* of the biocompatible complexes on the basis of carriers of the different nature (glycopolymer, lipid etc.) and multilayered structures with nanoparticles as potential transporters of insulin, and use of biosensors and magnetic probes on the basis of nanoparticles (carbon nanotubes and oxide of iron) for detecting of glucose and visualization of beta-cells of Langergans islands, which produce insulin, are considered under *in vivo* and *in vitro* conditions.

Key words: diabetes mellitus, nanomaterials.