

УДК 617.735–007.281–089:544.7+577.1

## Межфазные взаимодействия эмульгированных полидиметилсилоксанов с биополимерами витреоретинального интерфейса

С. А. Рыков<sup>1</sup>, проф., А. Н. Рубан<sup>1</sup>, канд. мед. н., А. И. Казанец<sup>1</sup>, врач, Т. В. Крупская<sup>2</sup>, канд. хим. н., В. В. Туров<sup>2</sup>, доктор хим. н.

<sup>1</sup>Клиническая офтальмологическая больница «Центр микрохирургии глаза»

<sup>2</sup>Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко, НАН Украины

**Ключевые слова:** витреоретинальная хирургия, полидиметилсилоксан, эмульсификация, ЯМР-спектроскопия

**Ключові слова:** вітреоретинальна хірургія, полідиметилсилоксан, емульсифікація, ЯМР-спектроскопія

*Методом низькотемпературної <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопії та фазово-контрастної мікроскопії досліджено вплив біополімерних середовищ на стан мікрокрапель силікону та нанодисперсного силікону на гідратні властивості біополімерних молекул. Знайдено ефект підвищення температури розмерзання мікрокрапель силікону, максимальна величина якого (до 50 град) зареєстрована у випадку диспергування ПДМС-5700 в 10 % розчині САЧ. Показано, що під впливом дисперсної фази силіконів величина міжфазної енергії на границі розділу фаз біополімер-вода може змінюватись в 2–3 рази, що свідчить про конформаційну перебудову біополімерів.*

## Interactions of emulsified polydimethylsiloxans with biopolymers vitreoretinal interface

S. A. Rykov<sup>1</sup>, A. N. Ruban<sup>1</sup>, A. I. Kazanets<sup>1</sup>, T. V. Krupskaya<sup>2</sup>, V. V. Turov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Clinical Eye Hospital «Center of Eye Microsurgery»

<sup>2</sup>Institut Surface Chemistry named after A. A. Chujko of Ukrainian National Academy of Sciences, Kiev

**Key words:** vitreoretinal surgery, polydimethylsiloxane, emulsification, NMR spectroscopy

*The effect of media on the state of biopolymer droplets of silicone and naodispersed silicone hydrated properties of biopolymers molecules by low-temperature <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, and phase-contrast microscopy was studied. The effect of raising the temperature defrosting droplets of silicone, which is the maximum value (50 degrees) in the case of dispersion PDMS-5700 in 10 % human serum albumin was recorded. It is shown that under the influence of the dispersed phase silicones value of interfacial energy of the interface of biopolymer-water can vary by 2–3 times, indicating that conformational changes of biopolymers is presence.*

**Введение.** Жидкие полидиметилсилоксаны (ПДМС, силиконовые масла) широко используются в витреоретинальной хирургии в качестве биологически инертных материалов, пригодных для временного замещения стекловидного тела, показанного в случае тяжелых патологий, связанных с отслоением сетчатки [5,9]. К негативным последствиям подобных операций следует отнести возможность эмульсификации силикона в граничащих с ним биологических жидкостях и, как следствие, развитие таких тяжелых осложнений как: вторичная глаукома, кератопатия, ретиноксичность, увеит, пролиферативная витреоретинопатия [2,4]. Благодаря влиянию целого ряда факторов (непроизвольное движение глаз в период «быстрого сна», значительная механическая энергия силиконовой капли, различие в плотности между силиконом и камерной влагой, снижение поверхностного натяжения масла, вызванное адсорбцией активных биологических сурфактантов) на границе раздела фаз может осуществляться взаимное проникновение силикона и водных сред биополимеров путем

формирования эмульсий «вода-масло» и «масло-вода». Появление эмульсионной (водной) фазы в кремнийорганической среде может приводить к изменению оптических и механических свойств силиконового импланта, а проникновение силикона в биополимерные растворы — вызывать интерстициальную миграцию масла с последующей клеточной инфильтрацией, фиброзом и кальцификацией [6,12]. Поэтому изучение процессов эмульгирования и взаимодействия микронных или субмикронных частиц силиконов с биополимерами является актуальной задачей клинической офтальмологии.

**Целью настоящей работы** было изучение эмульсий, различающихся по вязкости силиконов в концентрированных растворах биополимеров — сывороточный альбумин человека (САЧ), желатин (Жел) и гиалуроновая кислота (ГК), моделирующих межфазную границу силикона с разными отделами заднего отрезка глаза, возможности связывания си-

ликонов с указанными биополимерами и солидификации (переход в твердое состояние) силиконов за счет изменения их температуры кристаллизации, вызванной диспергированием и взаимодействием с биополимерами.

### Экспериментальная часть

В качестве исходных материалов были выбраны ПДМС-1000 и ПДМС-5700 (Bausch&Lomb, США) широко применяющиеся в витреоретинальной хирургии. Использовались 10 % водные растворы САЧ (для инъекций), 10 % гель ГК (лиофилизированный порошок, производства Китай) и 10 % гель Жел. (обезвоженный, производства Merk). Эмульсификация осуществлялась в стеклянных бюксах, объемом 10 мл, в которые помещались навеска водного раствора биополимеров и 1 мл ПДМС. Полученную смесь подвергали ультразвуковой обработке (УЗДН-1, 5–7 мин, 293 К). Перед спектральными измерениями полученные эмульсии выдерживали 1–2 суток при комнатной температуре. При этом эмульсии ПДМС в растворах САЧ и ГК оставались стабильными, в то время как эмульсии в Жел. — расслаивались на водную и силиконовую фазы. Однако при этом некоторая часть силикона все же оставалась в среде желатина. Спектры ЯМР получали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения (Varian «Mercury») с рабочей частотой 400 МГц. Использовали 90° зондирующий импульс, длительностью 3 мкс. Температура в датчике регулировалась термopриставкой Bucker VT-1000 с точностью ±1 град. Интенсивности сигналов определялись путем измерения площади пиков с использованием (при необходимости) процедуры разложения сигнала на его составляющие в предположении гауссовской формы линии и оптимизации его нулевой линии и фазы с точностью, которая для хорошо разрешенных сигналов была не ниже 5 %, а для перекрывающихся сигналов — ±10 %. Для предотвращения переохлаждения жидкостей в исследуемых объектах, измерения концентрации проводили при нагревании образцов, предварительно охлажденных до температуры 210 К. Методика ЯМР-измерений подробно описана в [1, 3, 7, 8].

Концентрация силикона могла быть оценена по соотношению интенсивностей сигналов силикона (химический сдвиг  $\delta_H = 0$  м.д.) и воды (химический сдвиг  $\delta_H = 4-5$  м.д.) в спектрах  $^1H$  ЯМР. Поскольку использовалась жидкостная ЯМР-спектроскопия, сигнал льда и замерзшего силикона не регистрировался в спектрах (ввиду малых времен поперечной релаксации в твердых телах). Поэтому при измерении кривых таяния замерзших суспензий силикона в биополимерных матрицах по интенсивностям сигналов незамерзшей составляющей воды и силикона можно было рассчитывать температурные зависимости их концентрации.

Для дисперсных систем биополимер-вода или силикон-биополимерный гель, изменение температуры фазового перехода жидкость-твердое тело (вода-лед или жидкий-твердый силикон) ( $\Delta T$ ) определяется понижением свободной энергии ( $\Delta G$  кДж/моль), обусловленным межфазными взаимодействиями вода-биополимер или силикон-биополимер. Чем сильнее межмолекулярные взаимодействия (характеризуемые величиной  $\Delta G$ ), тем больше температура фазового перехода отличается от его значения в чистых жидкостях. Обычно хорошим приближением служит линейная корреляция между этими величинами:

$$\Delta G = k \Delta T \quad (1)$$

где  $k$  — размерный коэффициент, который для фазового перехода вода-лед  $k = -0.036$ .

Большинство биополимерных молекул сильно гидратированы, т.е. поверхностные силы вблизи молекулярной цепи могут распространяться в водную среду на несколько молекулярных диаметров. Величина, которая определяет суммарное понижение свободной энергии системы биополимер-вода, называется межфазной энергией ( $\gamma_s$ ). Обычно для веществ с неопределенной величиной удельной поверхности (биополимеры) ее относят к единице массы и измеряют в Дж/г [1,3,7,10].

$$\gamma_s = -K \int_0^{C_{uw}^{max}} \Delta G(C_{uw}) dC_{uw} \quad (2)$$

где  $C_{uw}$  — количество незамерзающей воды при температуре  $T$ , а  $C_{uw}^{max}$  — общее количество незамерзающей воды при  $T \rightarrow 273$  К. Эта величина может быть меньше суммарного количества воды в системе на величину присутствующей в ней объемной (не связанной с поверхностью дисперсной фазы) воды.

Микрофотографирование эмульсий осуществляли с помощью микроскопа Primo Star (Carl Zeiss, Германия) при увеличении  $\times 1000$  с использованием иммерсии.

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 приведены микрофотографии эмульсий ПДМС в биополимерных средах. В гелях САЧ и ГК размер капель находится в диапазоне 0.5–5 мкм. В желатине наблюдаются отдельные микрокапли (ПДМС-1000) либо система относительно больших микрокапель силикона разного диаметра (ПДМС 5700), которые со временем увеличиваются в размерах, достигая 10 мкм в диаметре, а затем выделяются в виде отдельной фазы. Можно констатировать, что в отличие от желатина, среда гелей САЧ и ГК стабилизирует эмульсии обоих типов силикона. При этом в гелях ПДМС 1000 средний размер капель меньше, чем в гелях ПДМС 1000. В гелях ГК такого различия не наблюдается и фиксируются приблизительно одинаковые распределения по размерам микрокапель силиконов.

Температурные зависимости концентрации незамерзающей воды для изученных гелей и построенные на их основе в соответствии с уравнением 1 зависимости  $\Delta G(C_{uw})$  приведены на рис. 2 в системе координат  $T, \Delta G, C_{uw}$ . Их обработка суммирована в таблице 1.

Как видно из данных рис. 2, на зависимостях  $\Delta G(C_{uw})$  или  $C_{uw}(T)$  наблюдаются два участка с разным наклоном по отношению к оси абсцисс. При  $T < 265$  К в широком температурном интервале регистрируются относительно небольшие изменения  $C_{uw}$ . Это та вода, свободная энергия которой существенно понижена адсорбционными взаимодействиями с биополимерными молекулами. Ее температура замерзания понижена более чем на 15 град, т.е. это сильно связанная вода (SBW,  $C_{uw}^s$ ). Остальная часть незамерзающей воды является слабосвязанной (WBW,  $C_{uw}^w$ ). В таблице приведены значения концентраций обоих типов связанной воды, а так-

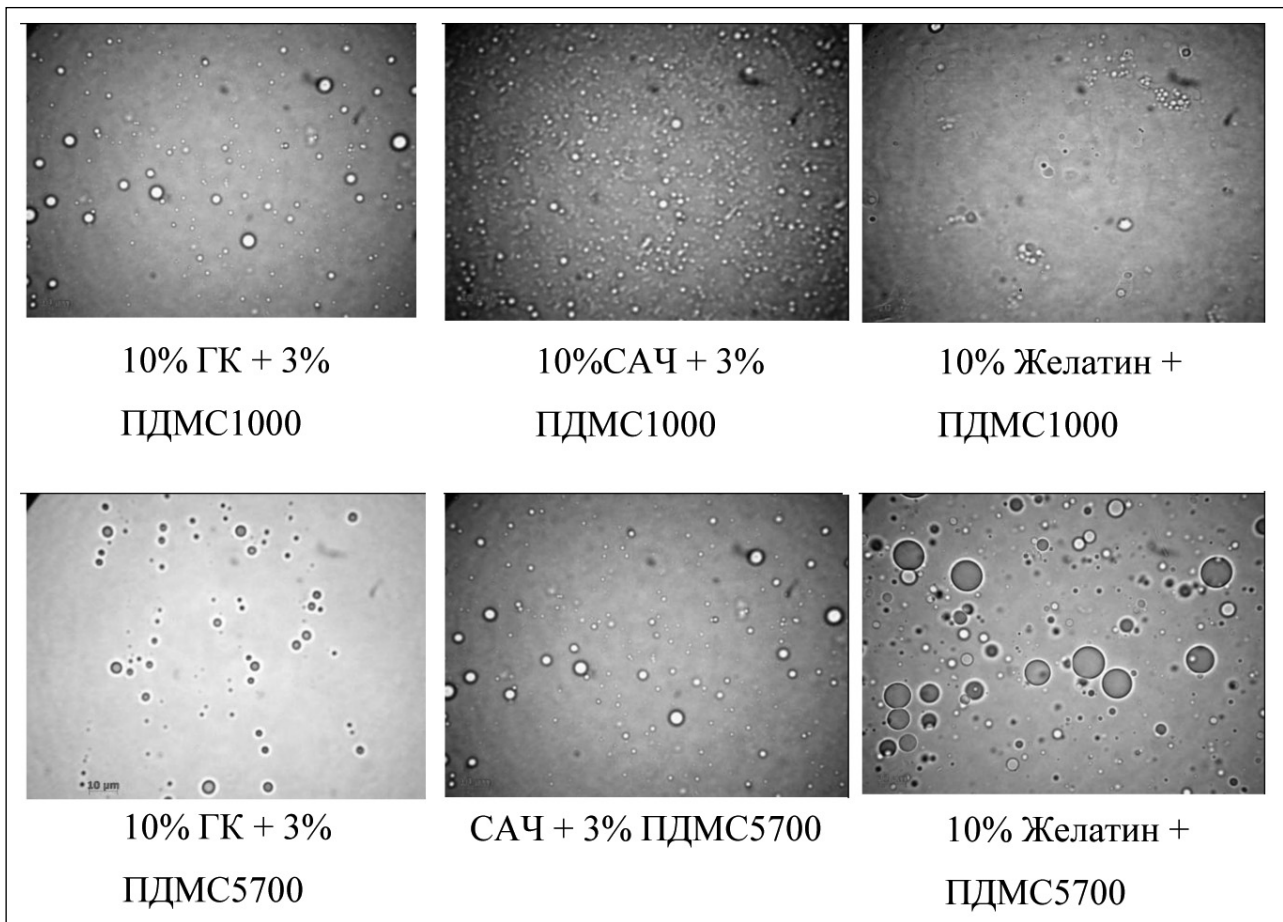


Рис. 1. Микрофотографии эмульсий полидиметилсилоксанов в концентрированных водных растворах биополимеров.

же величины межфазной энергии, рассчитанные в соответствии с уравнением (2).

Несмотря на относительно низкую концентрацию силиконовой фазы в гидрогелях биополимеров, ее влияние на связывание биополимеров с водой оказалось значительным. Так, если для ГК присутствие диспергированного ПДМС 5700 не-

значительно влияет на ее гидратированность (величина  $\gamma^s$  изменяется в пределах погрешности эксперимента), то в случае 3 % эмульсий ПДМС 1000, межфазная энергия (свободная энергия связывания биополимера с водой) возрастает в полтора раза. Рост межфазной энергии свидетельствует о повышении гидратированности биополимерных молекул, которая, в соответствии с данными табл. 1,

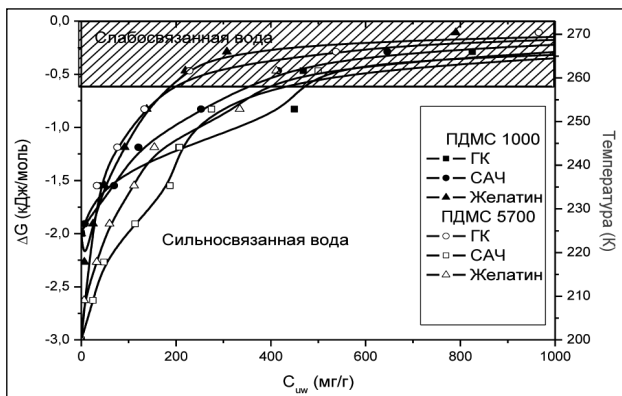


Рис. 2. Зависимость изменения свободной энергии Гиббса от концентрации незамерзающей воды и концентрации незамерзающей воды от температуры для эмульсий ПДМС в гелях биополимеров

Таблица 1.

Биополимер	ПДМС	$C_{uw}^s$ (мг/г)	$C_{uw}^w$ (мг/г)	$\gamma^s \pm 10$ (Дж/г)
ГК	1000	450	3750	77
САЧ		400	4400	48
Жел.		800	3800	33
ГК	5700	200	5600	40
САЧ		400	7600	103
Жел.		250	7750	90
ГК	-	300	5900	48
САЧ*	-			59
Жел	-	300	6000	82

\* из материалов, опубликованных в [1]

обусловлена ростом количества сильносвязанной воды при одновременном уменьшении количества слабосвязанной воды. Это может происходить за счет такого изменения структуры геля или конформации биополимерных молекул, при котором происходит сближение отдельных участков биополимерных цепей. В случае дисперсий ПДМС в растворе САЧ, наибольшее влияние на величину  $\gamma^s$  оказывает ПДМС 5700, в присутствии которого межфазная энергия биополимер-вода возрастает более чем вдвое.

На рис. 3 приведены данные квантовохимических расчетов структуры молекул САЧ, ГК и Жел. [8]. Благодаря наличию в этих биополимерах третичной и четвертичной структуры, в них содержатся наноразмерные полости, в которые могут проникать отдельные молекулы силикона. Можно предположить, что молекулы ПДМС локализируются в гидрофобных полостях, присутствующих в глобулах САЧ [10,11], и вызывают частичное разворачивание белковых цепей, что сопровождается увеличением гидратированности. В случае гелей желатина наблюдается обратный эффект. ПДМС 5700 слабо влияет на величину  $\gamma^s$ , в то время как диспергирование в желатиновом геле ПДМС 1000 сопровождается уменьшением межфазной энергии более чем вдвое, преимущественно за счет значительного уменьшения количества слабосвязанной воды. Учитывая, что оба типа силикона плохо эмульгируются в геле Жел., следует предположить, что отмеченные эффекты вызваны, прежде всего, не эмульсиями силиконов, а отдельными молекулами, проникающими в фазу геля за счет их ван-

дер-ваальсового связывания с молекулами биополимеров.

Для выявления процессов перехода силиконов, диспергированных в биополимерных гелях (САЧ и ГК), в твердое состояние (их солидификации), на рис. 5 представлены зависимости величины, пропорциональной изменению свободной энергии Гиббса силиконов от температуры.

$$\Delta G = k\Delta C\Delta T \quad (3)$$

Где  $\Delta T$  — разница в температуре замерзания жидкого ( $T = 265$  К) и диспергированного силикона;  $\Delta C$  — разница в относительных концентрациях незамерзшего силикона в жидком и диспергированном состояниях (концентрация полностью растаившего силикона принималась за единицу).

На рис. 4 положительные значения  $\Delta G$  отвечают стабилизации твердой, а отрицательные — жидкой фаз силикона. На основе рис. 4 можно заключить, что как ГК, так и САЧ стабилизируют твердое состояние ПДМС 57000 при температуре, значительно превышающей температуры кристаллизации силиконов в жидкостях. В случае ПДМС 1000 этот эффект регистрируется только для САЧ. Хотя измерения проводились лишь до температуры  $T = 280-290$  К, на основе имеющихся тенденций роста концентрации незамерзшего силикона (рис. 4) можно полагать, что фракция твердых силиконов, диспергированных в биополимерных гелях, может существовать вплоть до 320 К, что превышает температуру человеческого тела. Поскольку затвердевший силикон находится в мелкокристаллическом состоянии, он хорошо рассеивает свет и при солидифи-

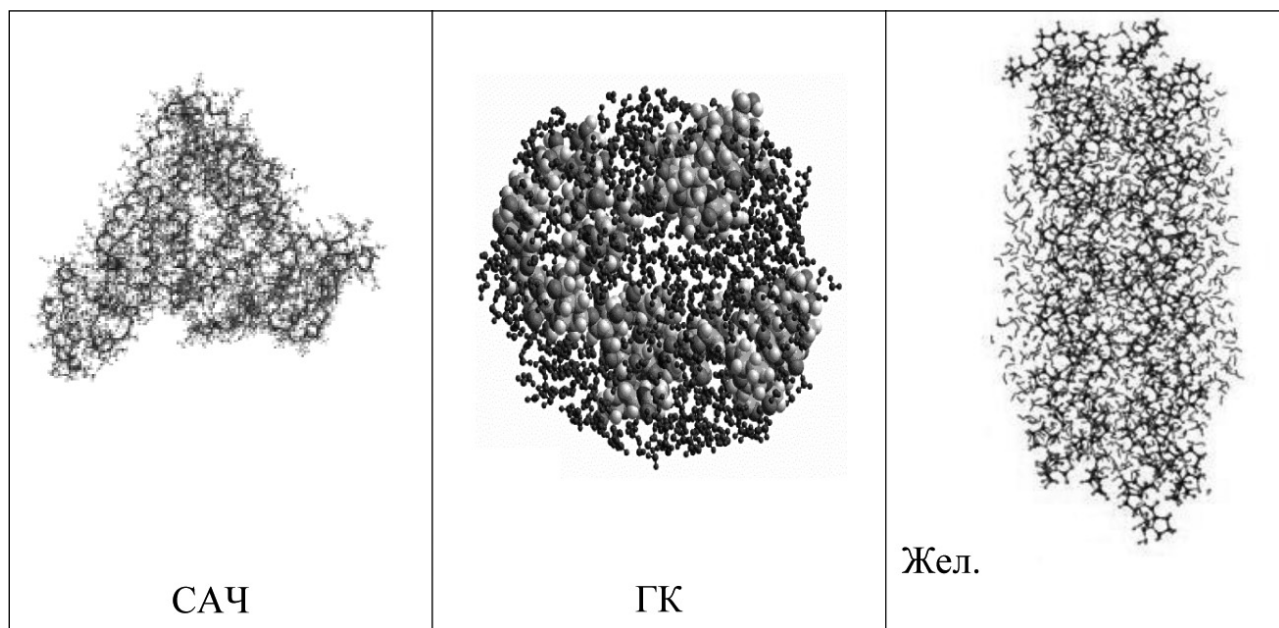
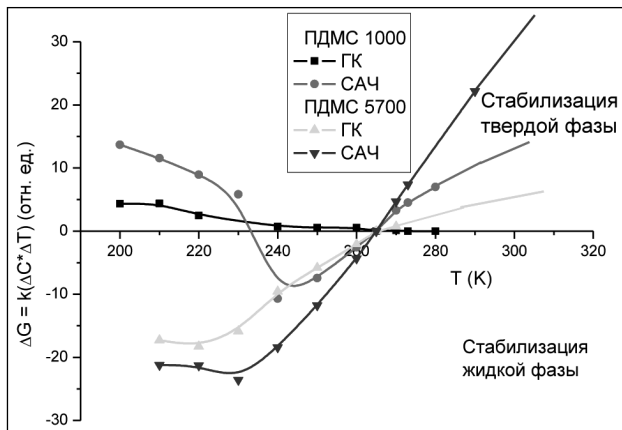


Рис. 3. Строение гидратированных молекул САЧ, ГК и Жел, полученные на основе квантовохимических расчетов методом РМ-6 [8].



**Рис. 4.** Температурные зависимости изменения свободной энергии Гиббса ПДМС 1000 и ПДМС 5700, диспергированных в гелях ГК и САЧ.

кации силикона в глазу, содержащем силиконовый имплант, может происходить изменение его оптических свойств.

В области низких температур для ПДМС 1000 и ПДМС 5700 наблюдается противоположное влияние биополимеров на соотношение фаз твердый-жидкий силикон: САЧ и ГК стабилизируют твердое состояние ПДМС 1000 и жидкое состояние ПДМС 5700. Поскольку процесс кристаллизации является экзотермическим, повышение температуры плавления следует рассматривать как энтропийно контролируемый процесс. Вероятно, для микрокристаллов силикона в биополимерной матрице среда оказывает упорядочивающее влияние за счет соответствующего уменьшения свободной энергии биополимерного геля.

### Выводы

1. Показано, что гели гиалуроновой кислоты и САЧ, в отличие от желатина, способны стабилизировать микроэмульсии силиконовых масел, которые могут оставаться в стабильном состоянии 1–2

суток. Следовательно, при формировании микрокапель силикона возможен процесс дисперсии частичек масла во внутриглазное пространство. Этот процесс может проходить одинаково интенсивно в отделах глаза, обогащенных глобулярными белками и полисахаридными молекулами гиалуроновой кислоты. При этом особых различий в эмульгировании силиконов с разной вязкостью не найдено.

2. Для всех изученных биополимерных гелей обнаружено существенное влияние силиконов на параметры взаимодействия белковых молекул с водой, что можно объяснить проникновением отдельных молекул силикона в водные гели и их связыванием с биополимерными молекулами. Вероятно, связывание ПДМС 5700 с альбумином проходит более эффективно по сравнению с ПДМС 1000. Для гелей ГК наблюдается обратное соотношение.

3. Обнаружена возможность солидификации силиконов, диспергированных в биополимерных гелях при температуре, значительно превосходящей температуру кристаллизации жидкого силикона. Совместное существование жидкой и твердой фаз силикона, контактирующего с водными гелями ГК, САЧ и Жел. может наблюдаться при температуре, превышающей температуру человеческого тела, т.е. на границе раздела фазы силиконовых имплантов с биополимерными растворами возможно изменение оптических характеристик (прозрачности), обусловленное формированием микрокристаллов твердого силикона. Максимальная величина солидификации наблюдается для ПДМС 5700 в 10 % геле САЧ.

4. Эмульсификация силикона в биополимерных средах и переход части силикона в твердое состояние обусловлены структурирующим влиянием биополимерных молекул витреоретинального интерфейса. Оба этих процесса (при перманентных силиконовых тампонадах) могут оказывать влияние на оптические характеристики глаза и сопровождаться высоким риском поздних послеоперационных осложнений.

### Литература

1. Гунько В. М., Туров В. В., Горбик П. П. — Вода на межфазной границе. — К : Наукова думка. — 2009. — 694 с
2. Риков С. О., Рубан А. М., Зольникова А. Ю. — Значення інтра та післяопераційних ускладнень у прогнозуванні виходу хірургічного лікування проліферативної діабетичної ретинопатії — Медична інформатика та інженерія № 2/2012. — С. 29–33
3. Туров В. В., Гунько В. М. — Кластеризованная вода и пути ее использования. — К: Наукова думка. — 2011. — 313 с.
4. Al-Jazzaf A. M., Netland P. A., Charles S. Incidence and management of elevated intraocular pressure after silicone oil injection // J Glaucoma. — 2005. — V.14. — P. 40–6.
5. Cibis P. A., Becker B., Okun E., Cowan S. — The use of liquid silicone in retinal detachment surgery // Arch Ophthalmol. — 1962. — Vol. 681. — P.590–599.
6. Green K., Slagle T. M., Chaknis M. J. et al. Intraocular silicone oil effects on rabbit blood retinal barrier permeability // Lens Eye Toxity Res. — 1992. — Vol.9. — P. 139–149
7. Gun'ko V. M., Turov V. V., Bogatyrev et al. Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic interfaces // Adv. Colloid. Interf. Sci. — 2005 — V. 118, № 1–3. — P.125–172
8. Gun'ko V. M., Turov V. V. Nuclear magnetic resonance study of interfacial phenomena. — 2013. — New York, Taylor & Francis. — 1005 p

9. **McCuen B. W.**, de Juan E. Jr., Machemer R. Silicon oil in vitreoretinal surgery, Part 1. Surgical techniques // *Retina*. — 1985. — № 5. — P.189–197
10. **Pouliquen D., Gallois Y.** — Physicochemical properties of structured water in human albumin and gammaglobulin solutions // *Biochemie*. — 2001. — V.83. — P. 891–898.
11. **Prat L. R.**, Pohorille A. Hydrophobic effects and modeling of biophysical aqueous solution interfaces // *Chem. Rev.* — 2002. — V.102. — P.2671–2692.
12. **Suzuki M., Okada T., Takeuchi S.** et al. Effect of silicone oil on ocular tissues // *Jpn J Ophthalmol.* — 1991. — V.35. — P.282–291.

*Поступила 06.12.2012*