

*В.А. Очковский, Е.А. Занемонец*  
**ОЦЕНКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ  
С ВОЛОКНАМИ ПОЛИСУЛЬФОНА В УСЛОВИЯХ  
ДИНАМИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА**

*Научный руководитель: канд. биол. наук, ассист. Д.А. Макаревич*  
*Кафедра биологической химии*  
*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

*V.A. Ochkovskiy, E.A. Zanemonets*  
**EVALUATION OF BLOOD CELLS INTERACTION WITH  
POLYSULFONE FIBERS UNDER DYNAMIC EXPERIMENTAL  
CONDITIONS**

*Tutor: PhD, assistant D.A. Makarevich*  
*Department of Biological Chemistry*  
*Belarusian State Medical University, Minsk*

**Резюме.** Полисульфоновые мембраны различных модификаций по-разному влияют на клеточный состав крови: частично закрытая конфигурация (ПС-ЧЗ) вызывала значительное снижение лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, тогда как открытый (ПС-О) и закрытый (ПС-З) типы демонстрировали меньшую активность в отношении форменных элементов крови. При этом ни одна из модификаций не привела к гемолизу, что подтверждает их гемосовместимость *in vitro*.

**Ключевые слова:** гемосорбции, медицинский полисульфон, стендовый эксперимент.

**Resume.** Polysulfone membranes of different modifications variably affect blood cellular composition: the partially closed configuration (PS-PC) caused a significant decrease in leukocytes, erythrocytes, and platelets, while the open (PS-O) and closed (PS-C) types showed less impact on blood cells. None of the modifications induced hemolysis, confirming their hemocompatibility *in vitro*.

**Keywords:** hemoperfusion, medical polysulfone, bench experiment.

**Актуальность.** Полисульфон (ПС) – полимер, который широко используется в медицинских изделиях при создании мембран для гемодиализа и гемосорбции. ПС не обладает гидрофильностью и заряженными группами, это может способствовать адсорбции белка и образованию тромбов [1, 2, 3, 4, 5].

**Цель:** оценить степень гемолиза и клеточного состава крови человека после контакта с полисульфоновыми мембранами различных модификаций.

**Задачи:**

1. Провести спектрофотометрический анализ полученных в ходе эксперимента образцов плазмы крови для количественного определения альбуминовой и глобулиновой фракций белков плазмы крови.

2. Осуществить иммуноферментный анализ для специфического выявления иммуноглобулинов класса G, M и A в полученных образцах плазмы крови.

3. Изучить результаты общего анализа крови полученных проб.

**Материалы и методы.** Для проведения динамического стендового эксперимента использовались полисульфоновые волокна, предоставленные предприятием ПУП "ФреБор" (Беларусь). Для упаковки колонок использовались капилляры ПС низкого и высокого потоков. Характерными отличиями которых

являются: диаметр пор, толщина мембраны, степень возможной конвенкции и, как следствие, молекулярная масса удаляемых молекул при использовании в режиме диализа. Для капилляров низкого потока, в частности, характерен диаметр пор  $<0,5$  мкм, мембрана толщиной в 20-30 мкм, минимальный уровень конвенктивного транспорта. Капилляры ПС высокого потока обладают порами в 0,5-1,5 мкм и толщиной мембраны в 35-45 мкм и высоким уровнем обеспечиваемой конвенкции.

Упаковка капиллярных фильтров из полисульфона была выполнена в трех модификациях: с блокировкой капилляров полисульфона с обеих сторон, без таковой, а также с блокировкой волокон только на входе в колонку. В первой конфигурации плазма могла взаимодействовать исключительно с внешней поверхностью волокна, тогда как в случае открытой и частично закрытой конфигурации – обеспечивался контакт плазмы как с внутренней, так и с внешней поверхностями полисульфоновых волокон.

Объем поликарбонатного корпуса диализной колонки составляет 230 мл, при этом плотность его упаковки такова, что единомоментно через колонку проходит 100 мл жидкости.

В эксперименте применялись нестандартные методы определения гемосовместимости капиллярных волокон *in vitro*. Не производилось статической инкубации крови с волокнами ПС, был поставлен динамический эксперимент.

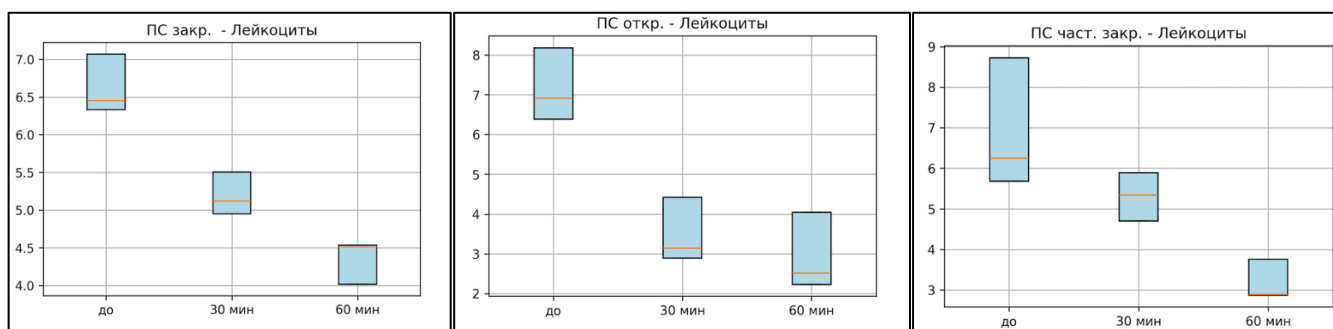
В настоящем исследовании по изучению гемолитических свойств волокон полисульфона различных модификаций в динамическом эксперименте был смоделирован закрытый контур циркуляции. Контур представлял из себя магистраль кровопроводящую для гемосорбции, производства ПУП «ФреБор», подключенную ко входному и выходным коннекторам диализной колонки. Входной коннектор кровопроводящей магистрали был соединен с пакетом с эритроцитарной массой, разведенной в физиологическом растворе с гепарином (1000 МЕ/ 300 мл восстановленной эритроцитарной массы), а выходной коннектор замыкал контур на трубке пакете с исследуемым раствором. Таким образом формировался закрытый контур циркуляции исследуемого раствора. В движении жидкость приводилась посредством перистальтического насоса, в котором был зафиксирован насосный сегмент магистрали. Инъекционный узел магистрали позволял отбирать пробы не останавливая циркуляцию. Скорость, с которой раствор циркулировал по контуру составляла 60 мл/мин. Образцы собирались: 1) из пакета до замыкания контура, 2) на 30 минуте, 3) на 60 минуте. Перед подключением контура к пакету с раствором контур подвергался отмывке 250 мл физ р-ра с 5000МЕ гепарина, который по выходному коннектору магистрали попадал в пакет с эритроцитарной массой, создавая гематокрит в  $45 \pm 10\%$ .

Эксперимент проводился в условиях комнатной температуры -  $23^{\circ}\text{C}$ , при постоянной давлении в системе. Собранные образцы подвергались центрифугированию при 3000об/мин в течении 15 минут, надосадочная жидкость отбиралась и исследовалась на уровень свободного гемоглобина в лаборатории.

Данные были проанализированы с использованием программ Microsoft Excel и SPSS. Сравнение групп проводилось с использованием **t-критерия**. Статистическая значимость определялась при уровне **p < 0,05**.

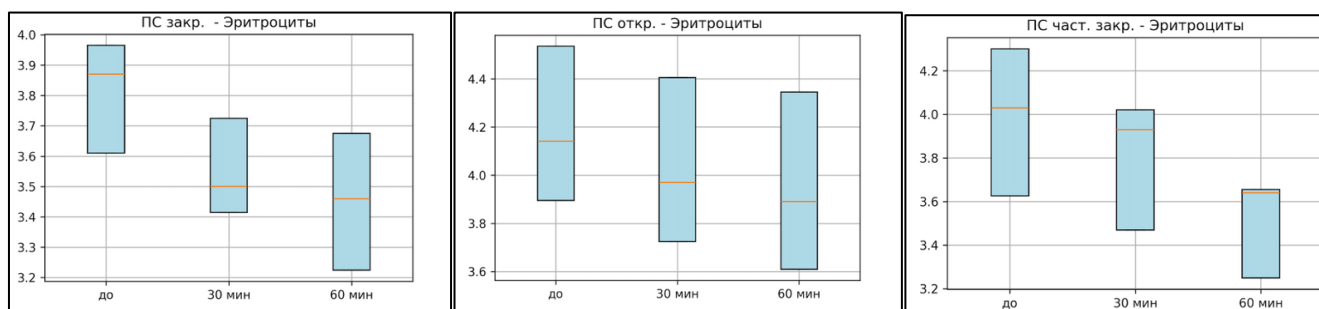
**Результаты и их обсуждение.** Для волокон закрытого типа (ПС-З) исходная концентрация лейкоцитов составляла 5,13 [4,78; 7,89] × 10<sup>9</sup>/л, снизившись через 30 минут до 5,01 [4,29; 7,71] × 10<sup>9</sup>/л и через 60 минут до 4,65 [4,20; 7,39] × 10<sup>9</sup>/л, однако эти изменения были статистически не значимы.

В случае взаимодействия с модификацией ПС открытого типа (ПС-О) исходный уровень лейкоцитов 7,34 [3,73; 8,56] × 10<sup>9</sup>/л уменьшился до 7,03 [3,56; 8,12] × 10<sup>9</sup>/л через 30 минут и до 6,94 [3,61; 7,80] × 10<sup>9</sup>/л через 60 минут, что также не было статистически значимым. Таким образом для образцов ПС-З и ПС-О, отмечена тенденция к снижению концентрации лейкоцитов. Наиболее выраженное снижение отмечено модификации для частично закрытого типа (ПС-ЧЗ): с исходных 6,25 [4,15; 11,20] × 10<sup>9</sup>/л до 5,32 [3,89; 9,34] × 10<sup>9</sup>/л через 30 минут и 4,62 [3,78; 7,15] × 10<sup>9</sup>/л через 60 минут, причем снижение концентрации во временном интервале 30-60 минут оказалось статистически значимым (p < 0,05) (Рис. 1).



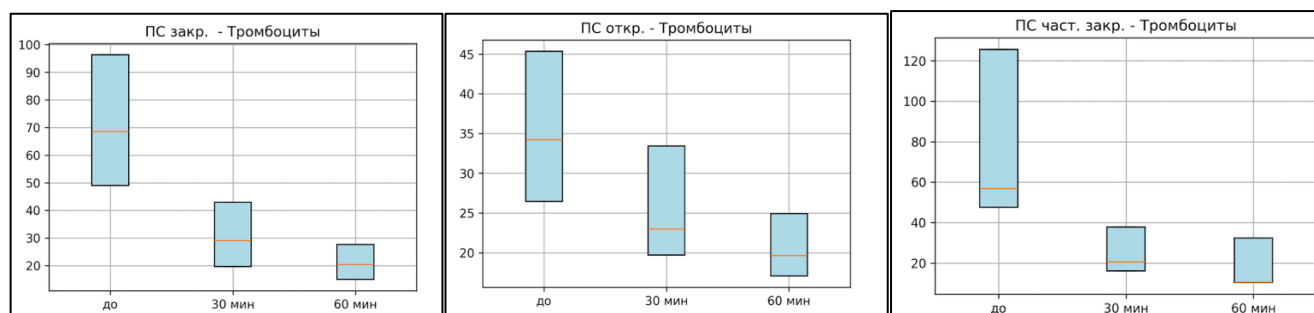
**Рис. 1** – Изменение концентрации лейкоцитов (×10<sup>9</sup>/л) после контакта крови с волокнами ПС различной модификации

Наибольшее влияние на концентрацию эритроцитов зафиксировано для модификации ПС-ЧЗ: концентрация снизилась с 4,57 [4,17; 5,62] × 10<sup>12</sup>/л до 4,04 [3,89; 5,30] × 10<sup>12</sup>/л через 30 минут и до 3,67 [3,45; 5,02] × 10<sup>12</sup>/л через 60 минут, что соответствовало уменьшению на 26% от исходного уровня и было статистически значимым (p < 0,05). Для ПС-З концентрация эритроцитов снизилась с 3,35 [3,19; 3,98] × 10<sup>12</sup>/л до 2,99 [2,80; 3,55] × 10<sup>12</sup>/л, а для ПС-О – с 3,65 [3,39; 4,21] × 10<sup>12</sup>/л до 3,33 [3,28; 3,72] × 10<sup>12</sup>/л, но p > 0,05 (Рис. 2)



**Рис. 2** – Изменение концентрации эритроцитов (×10<sup>12</sup>/л) после контакта крови с волокнами ПС различной модификации

Наибольшее снижение концентрации тромбоцитов наблюдалось в группе ПС-223: показатель уменьшился с  $68.6 [49.0; 96.4] \times 10^9/\text{л}$  до  $29.1 [19.7; 43.0] \times 10^9/\text{л}$  через 30 минут и до  $20.4 [15.0; 27.6] \times 10^9/\text{л}$  через 60 минут, что соответствовало снижению на 70% от исходного уровня и было статистически значимым ( $p < 0.05$ ). В группе ПС-О зафиксировано постепенное снижение концентрации тромбоцитов с  $34.2 [26.5; 45.4] \times 10^9/\text{л}$  до  $23.0 [19.7; 33.4] \times 10^9/\text{л}$  через 30 минут и до  $19.6 [17.1; 24.9] \times 10^9/\text{л}$  через 60 минут (снижение на 43%,  $p < 0.05$ ). Падение концентрации тромбоцитов отмечено в группе ПС-ЧЗ: с  $56.8 [47.6; 125.6] \times 10^9/\text{л}$  до  $20.5 [16.1; 37.8] \times 10^9/\text{л}$  через 30 минут и до  $10.5 [10.4; 32.4] \times 10^9/\text{л}$  через 60 минут (снижение на 81%,  $p < 0.05$ ) (Рис. 3).



**Рис. 3** – Изменение концентрации тромбоцитов ( $\times 10^9/\text{л}$ ) после контакта крови с волокнами ПС различной модификации

Концентрация свободного гемоглобина оставалась в пределах референсного интервала (0,1–0,5 г/л), что исключает гемолиз эритроцитов при контакте полисульфона.

#### **Выводы:**

1. Волокна ПС открытого (ПС-О) и закрытого (ПС-З) типов оказали наименьшее влияние на клеточный состав крови, тогда как частично закрытая модификация (ПС-ЧЗ) вызвала статистически значимое снижение концентрации лейкоцитов и эритроцитов, вероятно, из-за особенностей конструкции входной и выходной мембран ПС колонки.

2. Концентрация свободного гемоглобина оставалась в пределах референсного интервала (0,1–0,5 г/л), что исключает гемолиз эритроцитов при контакте с полисульфона.

#### **Литература**

1. Fuchs, K., Rummler, S., Ries, W., Helmschrott, M., Selbach, J., Ernst, F., Morath, C., Gauly, A., Atiye, S., Stauss-Grabo, M., Giefer, M. Performance, clinical effectiveness, and safety of immunoabsorption in a wide range of indications / K. Fuchs, S. Rummler, W. Ries [et al.] // Therapeutic Apheresis and Dialysis. – 2021. – Vol. 25, № 5. – P. 1–13.
2. Boi, C., Busini, V., Salvalaglio, M., Cavallotti, C., Sarti, G. C. Understanding ligand–protein interactions in affinity membrane chromatography for antibody purification / C. Boi, V. Busini, M. Salvalaglio [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2009. – Vol. 1216, № 45. – P. 8687–8696.
3. Hu, X., Li, G., Huang, E. Click chemistry: A route to designing and preparing pseudo-biospecific immunoabsorbent for IgG adsorption / X. Hu, G. Li, E. Huang // Journal of Chromatography B. – 2012. – Vol. 899. – P. 96–102.

4. Lazaridis, K., Dalianoudis, I., Baltatzidi, V., & Tzartos, S. J. Specific removal of autoantibodies by extracorporeal immunoadsorption ameliorates experimental autoimmune myasthenia gravis / K. Lazaridis, I. Dalianoudis, V. Baltatzidi, S. J. Tzartos // *Journal of Neuroimmunology*. – 2017. – Vol. 303. – P. 13–21.

5. Serbanescu, O. S., Voicu, S. I., Thakur, V. K. Polysulfone functionalized membranes: Properties and challenges / O. S. Serbanescu, S. I. Voicu, V. K. Thakur // *Materials Today Chemistry*. – 2020. – Vol. 17. – P. 564–575.