

**ГЕМОСОВМЕСТИМОСТЬ АКРИЛАМИДНЫХ СОПОЛИМЕРОВ С  
НАНОАЛМАЗАМИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО  
РАЗЛОЖЕНИЯ**

**Макаревич Д. А.**

*ведущий научный сотрудник лаборатории прикладной биохимии Института  
биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь  
demkarevich@yandex.ru*

**Рябцева Т. В.**

*научный сотрудник научной группы «Гемо- и лимфосорбции» научно-  
исследовательской части УО «Белорусский государственный медицинский  
университет»*

**Ковганко Н. Н.**

*к. х. н., доцент кафедры биологической химии УО «Белорусский  
государственный медицинский университет»*

**Штемплук Р. Г.**

*Научный сотрудник НП ЗАО «Синта», Минск, Беларусь*

*Изучена гемосовместимость ультрадисперсных наноалмазов и их сополимеров с полиакриламидным гелем. Главной проблемой исследования является изучение влияния качества углеродных наночастиц, а именно, их степени окисленности, на безопасность их применения в медицине. В данной работе представлены результаты лабораторных исследований степени гемолиза эритроцитов и процента изменения клеточного состава крови после взаимодействия с полимером с включением наноалмазов. В статье авторы делают вывод о прямой зависимости степени гемолиза эритроцитов от степени окислительного разложения наноалмазов. При этом была обнаружена обратная зависимость неспецифической адгезии клеток крови человека от присутствия окисляемых форм углерода на поверхности наноалмазов. Тем самым была показана возможность применения углеродных наночастиц в изделиях медицинского назначения для прямого контакта с кровью.*

**Ключевые слова:** наноалмазы; акриламидный сополимер; окислительное разложение; гемосовместимость.

**HEMOCOMPATIBILITY OF ACRYLAMIDE COPOLYMERS WITH  
NANODIAMONDS DEPENDING ON DEGREES OF OXIDATIVE  
DECOMPOSITION**

**Makarevich D.A.**

*Leading Researcher, Laboratory of Applied Biochemistry, Institute of Bioorganic  
Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus*

**Ryabceva T. V.**

*The post-graduate student, the Department of Biological Chemistry, the Belarusian  
State Medical University, Minsk, Belarus*

**Kauhanka M. M.**

*candidate of chemical sciences,  
associate professor of the department of biological chemistry,  
Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus  
Shtempliuk R.G.  
Researcher at SP CJSC "Sinta", Minsk, Belarus*

*The article is devoted to the study of hemocompatibility of nanodiamonds and their copolymers with polyacrylamide gel. The main problem of the research is the influence of the quality of carbon nanoparticles, namely, their oxidation state, on their safety using in medicine. This paper presents the results of laboratory studies of the hemolysis degree and the percentage of changes in the cellular composition of blood after interaction with a polymer including nanodiamonds. The authors conclude that the degree of erythrocytes hemolysis is directly dependent on the degree of oxidative decomposition of nanodiamonds. At the same time, it was found an inverse dependence of the nonspecific adhesion blood cells on the presence of oxidizable carbon forms on the nanodiamonds surface. Thus, it was shown the possibility of using carbon nanoparticles in medical products for direct contact with blood.*

**Key words:** *nanodiamonds; acrylamide copolymer; oxidative degradation; hemocompatibility.*

**Введение.** Среди всех углеродных материалов, представляющих интерес для разработки новых методов лечения в медицине наиболее перспективными, являются наноалмазы. Их низкая токсичность и высокая удельная поверхность, обеспечивает максимальную биодоступность и является главным преимуществом перед фуллеренами, нанотрубками и графеном [1,2]. Средний диаметр наноалмазов детонационного синтеза (дНА) составляет 4 nm, они имеют все физические и химические свойства алмаза, и разветвленную поверхность с различными активными поверхностными группами (CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>R, CH<sub>x</sub>, C-N, C=N, C-O-O, OH, CO, C<sub>6</sub>H<sub>x</sub>). Благодаря модифицированной поверхности дНА используют в биологии и медицине в качестве носителя лекарственных или диагностических агентов. В перспективе, нДА могут быть использованы в качестве лигандов для связывания биохимических молекул, накапливающихся при различных патологических состояниях [1,3,4].

Особый интерес представляет окисленная поверхность НА так как это место проведения на поверхности НА различных реакций. Тем более, что окисление используют для дополнительной очистки поверхности наноалмаза, которое может проводиться как в жидкой, так и в газовой фазе. При этом возможно получить дНА с различной степенью окисления и как следствие различным составом химически активных групп поверхности. Различные способы окисления поверхности могут изменять, гидрофильность и инертность поверхности наноалмаза а значит и влиять на гемосовместимость при контакте с кровью. Поэтому важно исследовать гемосовместимость сополимеров нДА

# СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ, Минск, 25 января 2022 г.

различной степени окисленности, в целях выбора оптимального материала для создания гемосовместимых изделий медицинского назначения.

**Цель** – изучить влияние степени окисленности наноалмазов, иммобилизованных на полиакриламидный гель на гемосовместимость и изменение клеточного состава крови в экспериментах *in vitro*.

**Материал и методы исследования.** В план изучения гемосовместимости включили 4 типа углеродных наночастиц. УДА-СП (тип  $\zeta+$ ) и УДА-ГО-СП (30 и 100 нм) - наноалмаз глубокой очистки – сухой порошок серого цвета (содержание окисляемых форм углерода 1,2%; степень окислительного разложения: 0,98; химические функциональные поверхностные группы: CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>R, CH<sub>x</sub>, C-N, C=N, C-O-O, OH, CO). УДА-ЧОШ-СП – наноалмаз селективного окисления, сухой порошок черного цвета (количество окисляемых форм углерода 38,4%, степень окислительного разложения: 0,28; функциональные поверхностные группы: CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>R, CH<sub>x</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>x</sub>).

Иммобилизацию проводили методом радикальной полимеризации акриламида с N,N-метиленбисакриламидом [5]. Протокол изучения гемосовместимости включал исследование количества клеток крови и определение степени гемолиза в плазме донорской крови после контакта с исследуемыми наноалмазами (суспензия) и образцами сополимеров полиакриламида с наноалмазами. Показатель гемолиза эритроцитов в плазме описывали в процентах от степени гемолиза 100 мкл цельной крови в 100 мкл дистиллированной воды (100% гемолиз). Оценку степени гемолиза проводили по оптической плотности при длине волны 540 нм. Использовали две модификации эксперимента по определению уровня гемолиза эритроцитов. 1. Инкубировали суспензию наноалмазов (10 мг/мл) с цельной кровью в равных объемах при комнатной температуре 1, 30 и 60 минут. После центрифугирования определяли оптическую плотность надосадочной жидкости. 2. Два миллилитра сополимера полиакриламида содержащего 10 мг наноалмазов, инкубировали с 1 мл цельной крови доноров (2 минуты). После перфузии крови через полиакриламидный сополимер кровь центрифугировали и оценивали уровень гемолиза.

Для оценки количества клеток крови после контакта с сополимером содержащим наноалмазы, после инкубации цельной крови в течении 2 минут отбирали пробы до и после контакта с гелем. Клеточный состав крови исследовали на автоматическом геманализаторе Cell-DynRuby (Abbot, Германия). Статистический анализ проводили методами непараметрической статистики, результаты описывали в виде медианы, 25 и 75 перцентилей.

**Результаты.** Результаты оценки гемолиза после контакта с суспензией наноалмазов показали достаточно высокую степень гемолиза только в случае образца УДА-ЧОШ-СП: 14,24%. Установленный показатель гемолиза остальных образцов наноалмазов был незначителен и составил от 0,5% до 1,8% к 60-й минуте инкубации. По-видимому, высокий процент гемолиза в случае с маркой наноалмазов УДА-ЧОШ-СП связан с наличием в составе различных примесей в

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ БИОХИМИИ,  
Минск, 25 января 2022 г.

виде окисляемых форм углерода. Установлено, что включение наноалмазов в полиакриламидную матрицу повышает гемосовместимость образцов полимера. Так, после инкубации крови и сополимера содержащего нДА максимальное значение показателя гемолиза составило лишь 0,48% и отмечалось только для полиакриламидного гидрогеля без лиганда. Наноалмазы УДА-ГОСП и УДА-СП в составе полиакриламид не вызывали повышения значений гемолиза: 0,18% и 0,14% соответственно.

При взаимодействии клеток крови с полиакриламидом без лиганда происходит незначительное, до 10%, снижение абсолютного числа клеток крови (Таблица 1). При взаимодействии сополимером нДА установлено более выраженное уменьшение концентрации клеток крови, чем с полиакриламидом без лиганда. Наиболее значительное изменение наблюдали в количестве лейкоцитов и тромбоцитов при взаимодействии с УДА-СП30. Таким образом для дальнейших исследований по изучению сорбционных характеристик сополимеров нДА можно рекомендовать УДА-ЧОШ-СП-ПААГ и УДА-СП-ПААГ.

**Таблица 1.** - Процент изменения абсолютного количества клеток крови после контакта с сополимерами нДА

Образец	Лейкоциты	Лимфоциты	Эритроциты	Тромбоциты
УДА-ЧОШ-СП-ПААГ	8,33 (5,21-9,18) *	4,58 (3,38-5,40) *	1,81 (1,65-2,01)	12,17 (8,95-13,81) *
УДА-ГО-СП-ПААГ	8,57 (6,44-10,07) *	4,16 (3,24-4,70) *	2,76 (2,19-3,58)*	11,87 (8,87-14,16) *
УДА-СП30 - ПААГ	7,54 (6,43-11,07) *	5,26 (4,08-5,83) *	3,71 (2,62-6,05) *	14,51 (12,98-15,86) *
УДА-СП100-ПААГ	9,43 (0,09-9,73) *	5,55 (3,12-8,26) *	2,80 (1,99-3,25) *	11,18 (8,21-11,56) *
ПААГ	4,05 (2,73-4,92)	2,08 (1,05-3,67)	1,43 (1,04-2,02)	5,88 (4,35-8,88)

Примечание: \*разница достоверна с  $p \leq$ , тест Манна-Уитни

**Выводы.** Выявлена зависимость степени гемолиза эритроцитов в ответ на воздействие наноалмазов с различной степенью окислительного разложения. Наибольший процент гемолиза ( $14,24 \pm 2,12\%$ ) наблюдали после воздействия на цельную кровь наноалмазов со степенью разложения 0,28; наименьший процент гемолиза ( $1,8 \pm 0,5\%$ ) фиксировали после контакта крови с наноалмазами со степенью окислительного разложения 0,98.

Кроме того, определили обратную зависимость неспецифической адгезии клеток крови человека после контакта с сополимером полиакриламида и наночастиц углерода в зависимости от присутствия окисляемых форм углерода

на поверхности наноалмазов. При увеличении количества окисляемых форм углерода на дНА (около 38,4%) клеточная адгезия уменьшается.

**Список литературы:**

1. Surface functionalization of detonation diamond suitable for biological applications / Krüger, A. [et al.] // (2006). *J. Mater. Chem.* – 2006. – Vol. 16, N. 24. – P. 2322–2328.
2. Shenderova, O. A. Carbon nanostructures / O.A. Shenderova, V.V. Zhirnov, D.W. Brenner // *Critical reviews in solid state and materials sciences.* 2002. – Vol. 27, N. 3-4. – P. 227–356.
3. Mogil'naya O. Comparative study of antibacterial properties of Lysozyme upon its adsorption and covalent binding to nanodiamonds / O. Mogil'naya, V. Bondar. // *Nanotechnol.* 2012. – Vol. 7. – P. 658–665.
4. Bogatyreva, G. P. Diamond – an adsorbent of a new type / G.P. Bogatyreva, M.A. Marinich, V.L. Gvyazdovskaya // *Diamond Relat. Mater.* 2000. – Vol. 9, N. 12. – P. 2002–2005.
5. ОФС 1.2.1.0023.15 Электрофорез в полиакриламидном геле / МЗ Российской Федерации, общая фармакопейная статья.