

В.А. Очковский, Е.А. Занемонец
**ОЦЕНКА АДГЕЗИИ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ
 НА МЕДИЦИНСКИЙ ПОЛИСУЛЬФОН**

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

V.A. Ochkovskiy, E.A. Zanemonec
**AN ASSESSMENT OF BLOOD PLASMA PROTEIN ADHESION
 ON MEDICAL POLYSULFONE**

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

Резюме. Проведена оценка адгезии белков плазмы крови на медицинский полисульфон спектрофотометрическим методом.

Ключевые слова: полисульфон; гемосорбенты; плазма крови; общий белок; альбумин; сорбция.

Resume. The evaluation of adhesion of blood plasma proteins to medical polysulfone by means of spectrophotometric method.

Keywords: polysulfone; hemosorbents; blood plasma; total protein; albumin; sorption.

Актуальность. Гемосорбция является важным методом лечения различных заболеваний, таких как сепсис, тяжелые формы отравлений, почечная недостаточность и др.

Для производства отечественных гемосорбентов в качестве полимерной матрицы-носителя лиганда используют полиакриламидный гидрогель. Однако применение данной матрицы связано со сложностями стандартизации концентрации используемого лиганда, риском попадания в кровь остатков реакционноспособных функциональных групп, мономеров и других побочных продуктов полимеризации полиакриламидного геля. В зарубежных гемосорбентах производства Китай, Россия, Швеция, Япония и США используются сополимеры полистирола-дивинилбензола, модифицированного полистирена, а также стирен-дивинилбензола. Основными недостатками данных матриц является высокая стоимость конечного продукта и неспецифическая адсорбция белков плазмы и лекарственных препаратов. Поэтому, для развития гемосорбции и внедрения новых высокоэффективных методов экстракорпоральной коррекции необходима разработка новых гемосорбентов с использованием полимеров медицинского назначения, например полисульфона.

Полисульфон (ПС) обладает уникальными свойствами, такими как высокая механическая прочность, химическая стабильность и биосовместимость, что делает его прекрасным материалом для создания гемосорбентов. Исследования в области применения полисульфона для разработки новых гемосорбентов могут привести к созданию более эффективных и безопасных методов лечения, а также улучшению качества жизни пациентов. Кроме того, разработка новых гемосорбентов на основе

полисульфона может способствовать снижению стоимости лечения и расширению доступности данной техники для большего числа пациентов.

Цель: Изучить уровень неспецифической адсорбции белков плазмы крови волокнами полисульфона в условиях стендового эксперимента.

Задачи:

1. Определить способность ПС к адгезии на своей поверхности альбуминов и глобулинов плазмы крови в условиях динамического эксперимента.

2. Оценить специфичность адгезии белков плазмы крови альбуминовой и глобулиновой фракции на волокнах полисульфона.

3. Выявить возможные различия в адгезионных свойствах открытых и закрытых волокон ПС.

Материалы и методы. Для проведения динамических экспериментов использовали волокна ПС, помещенные в цилиндрический корпус из поликарбоната объемом 230 мл, предоставленные ПУП «ФреБор» (Беларусь). Упаковка полисульфоновых капиллярных фильтров проводилась в двух модификациях (с блокировкой капилляров ПС с обеих сторон и без блокировки). Таким образом, в первом варианте плазма могла проходить только между внешними поверхностями волокна. Второй вариант упаковки волокон позволял плазме контактировать как внешней, так и с внутренней поверхностью волокон ПС.

Поток плазмы объемом 300-500 мл через колонку обеспечивали перистальтическим насосом со скоростью 100 мл/мин. Пробы собирали до и после контакта плазмы с полисульфоном. Для определения количества белка, неспецифически адсорбированного на поверхности полых волокон полисульфона, проводили элюирование 0,9% раствором NaCl объемом равным объему плазмы крови.

Определение концентрации общего белка в плазме проводили колориметрическим методом, основанном на образовании биуретового комплекса фиолетового цвета, который образуется при связывании пептидных связей белков с двухвалентными ионами меди. Определение концентрации альбумина проводили по реакции с бромкрезоловым зеленым. Концентрацию глобулинов рассчитывали, как разницу концентраций общего белка и альбумина.

Статистическая обработка данных производилась при помощи компьютерных программ “Microsoft Excel 2020” и “Statistica 10”. В процессе обработки данных были задействованы непараметрические методы анализа данных в виду $n < 30$.

Результаты и их обсуждение. В результате динамического эксперимента было установлено, что количество белка в плазме крови после динамического контакта с волокнами полисульфона с закрытыми концами уменьшается на $2,8 \pm 0,04$ г. О том, что это неспецифическая адсорбция свидетельствует тот факт, что при элюировании NaCl (0,9 %) объемом равным объему плазмы крови из капилляров выделяется $2,41 \pm 0,04$ г белка. Таким образом, внутри волокон ПС остается $0,4 \pm 0,02$ г белка, который легко снимается с поверхности большими объемами NaCl (0,9 %). При проведении эксперимента с волокнами ПС с открытыми концами изменение количества белка составило $7,1 \pm 0,01$ г. При элюировании выделили $2,7 \pm 0,02$ г белка. Таким образом, при прохождении плазмы как внутри, так и снаружи ПС волокон около $4,4 \pm 0,03$ г белка остается внутри ПС.

Анализ изменения количества белка альбуминовой фракции в плазме после динамического контакта с волокнами ПС показал, что при использовании волокон с заблокированными концами изменений в количестве альбуминов составило $1,1 \pm 0,03$ г. При элюировании было выделено $1,3 \pm 0,01$ г альбумина. А при использовании волокон с открытыми концами изменение количества альбумина составило $4,1 \pm 0,02$ г. В этом случае при элюировании было выделено $1,4 \pm 0,01$ г альбумина. Таким образом, неспецифическая адсорбция белка волокнами ПС с открытыми концами происходила за счет альбуминовой фракции белка.

Проанализировав изменение количества глобулиновой фракции белка в плазме крови после динамического контакта с волокнами ПС с открытыми концами установили, что изменение количества глобулинов волокнами ПС с открытыми концами выше, чем при использовании волокон ПС с закрытыми концами – $2,9 \pm 0,03$ г и

$1,85 \pm 0,02$ г, соответственно.

Кроме того, были проанализированы соотношения фракций глобулинов и альбуминов в плазме крови до и после прохождения через колонки с ПС.

В результате, соотношение альбуминовой к глобулиновой фракции в случае прохождения через открытие ПС волокна фактически не изменилось и составило $1,43 \pm 0,02$ до и $1,41 \pm 0,01$ после контакта. Что подтверждает предположение о том, что полисульфон не обладает способностью к специфической адсорбции на своей поверхности белков плазмы определенной фракции, а его неспецифическая адсорбция обусловлена гидрофобностью его поверхности.

Определив соотношение альбумин/глобулиновых фракции в эксперименте с закрытыми полисульфоновыми волокнами до и после прохождения плазмы через колонки, было установлено, что глобулиновая фракция в большей степени подвергается неспецифической адсорбции. Альб./глоб. соотношение до прохождения через колонку – $1,23 \pm 0,03$ и после – $1,45 \pm 0,02$. Это свидетельствует о том, что глобулиновая фракция задерживается на колонке дольше и сильнее, что может быть связано с большей молекулярной массой глобулинов в сравнении с альбуминами, которые быстрее проходят через поры в полисульфоновой матрице, а также с направлением движения плазмы через закрытие волокна. Однако, эта задержка в колонке не вызвана специфической адсорбцией глобулинов на порых волокнах полисульфона, а вызвана лишь большими в сравнении с альбуминами физическими размерами молекул, что подтверждается количеством глобулинов в элюате – $1,2 \pm 0,03$ г. Оставшаяся фракция глобулинов элюируется при больших объемах элюента, что было показано в настоящем исследовании.

Выводы:

1. Волокна ПС различной модификации как с открытыми, так и с закрытыми концами не обладают выраженной специфической адсорбцией белков из плазмы крови при проведении динамических стендовых экспериментов и потому ПС может быть использован в качестве полимерной матрицы для разработки лигандизированных гемосорбентов с выраженными специфическими адсорбционными свойствами.

2. Большая способность к адсорбции глобулиновой фракции в случае использования колонок с закрытыми волокнами полисульфона может быть

обусловлена большей молекулярной массой глобулинов и вероятными гидрофобным взаимодействием с полисульфоном.

Литература

1. MoEckel D., Staude E., Michael D. Static protein adsorption, ultrafiltration behavior and cleanability of hydrophilized polysulfone membranes // *Journal of membrane science*. – 1999. – Vol. 58. – P. 63–75.
2. O.S. Serbanescu, S.I. Voicu, V.K. Thakur. Polysulfone functionalized membranes: Properties and challenges // *Materials Today Chemistry*. – 2020. – Vol. 17. – P. 456–460.
3. Koga Y, Fujieda H, Meguro H, Ueno Y, Aoki T, Miwa K, Kainoh M. Biocompatibility of Poly sulfone Hemodialysis Membranes and Its Mechanisms: Involvement of Fibrinogen and Its Integrin Receptors in Activation of Platelets and Neutrophils // *Artificial Organs*. – 2018. – Vol. 42. –P. 246-258.