

УДК [543.544.942.2]-036:611.018.54

АНАЛИЗ АДсорбЦИОННОЙ ЕМКОСТИ ПОЛИСУЛЬФОНОВЫХ КАПИЛЛЯРОВ РАЗЛИЧНОГО ТИПА ПРИ КОНТАКТЕ С ПЛАЗМОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Макаревич Д.А.¹, Рябцева Т.В.¹, Дусь Д.Д.², Королик А.К.²,
Очковский В.А.¹, Занемонец Е.А.¹

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

²ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»,
г. Минск, Беларусь

Резюме. В статье представлены результаты изучения адсорбционной емкости капилляров полисульфона в отношении белков плазмы крови в условиях динамического стендового эксперимента. В работе использовали капилляры полисульфона двух модификаций: открытые и закрытые. Расчет адсорбционной емкости (количество адсорбированного белка на единицу площади поверхности капилляров) показал: открытые капилляры адсорбируют больше белка на единицу площади поверхности. При использовании капилляров полисульфона открытого типа адсорбционная емкость по отношению к общему белку увеличивается в три раза, альбуминов в два раза и не изменяется для фракции глобулинов. Таким образом, для гемосорбентов рекомендуется использовать капилляры закрытого типа.

Ключевые слова: полисульфон; гемосорбент; адсорбция; альбумины; глобулины.

Введение

Полисульфоны (ПСФ) – ароматические полимеры, содержащие в основной цепи ароматические группировки, соединенные сульфоновыми, простыми эфирными, алифатическими (например, изопропилиденовыми) группами. Наибольшее практическое значение имеют ароматические полисульфоны. В промышленности производят три типа полисульфонов под следующими традиционными названиями: полисульфон, полифениленсульфон и полиэфирсульфон (рис. 1).

Полисульфон обладает высокой термической и химической устойчивостью, что делает его идеальным для применения в условиях контакта с кровью и биологическими жидкостями. Согласно [1], полисульфон устойчив к воздействию минеральных кислот, щелочей, солей и спиртов, демонстрирует низкую усадку и термический коэффициент расширения, что позволяет создавать стабильные матрицы сложной конфигурации. Эти свойства обеспечивают долговечность и надежность гемосорбентов в условиях перфузии крови. Кроме того, полисульфон обладает высокой механической прочностью (предел текучести на 20–30 % выше, чем у поликарбонатов) и электрической прочностью, что важно для предотвращения деградации материала при длительном использовании. Полисульфоновые мембраны сохраняют структурную целостность при высоких тем-

пературах (до 150 °С) и устойчивы к гидролизу, что критично для стерилизации и многократного применения гемосорбентов [2]. Полисульфонам свойственна гидрофобность, она способствует неспецифической адсорбции белков плазмы крови на поверхности мембраны. Неспецифическая адсорбция альбумина и, особенно, глобулинов, может снижать доступность активных центров лигандов для целевых молекул и приводить к гипопроteinемии [3].

Мембраны для гемодиализа и гемосорбции на основе ПСФ выполняются в виде полых волокон (капилляров) с поверхностью с высокой

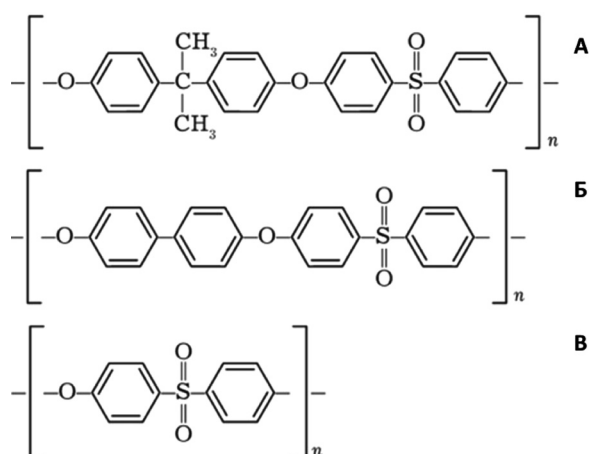


Рис. 1. Структурные химические формулы различных типов полисульфонов: А – полисульфон, Б – полифениленсульфон, В – полиэфирсульфон

пористостью (диаметр пор 50–100 нм). Ключевым параметром эффективности гемосорбента является его адсорбционная емкость – количество вещества, которое может быть связано единицей массы или площади сорбента. При оценке адсорбции белков расчет емкости на единицу площади поверхности (мкг/см² или мг/м²) наиболее информативен, так как позволяет нивелировать различия в плотности упаковки различных сорбентов и проводить корректное сравнение с другими гемосорбционными колонками на основе иных матриц [4].

Цель работы – изучение адсорбционной емкости капилляров полисульфона в отношении белков плазмы крови в условиях динамического стендового эксперимента. **Задачи исследования** включали: определение динамики адсорбции белков капиллярами ПСФ; расчет и анализ адсорбционной емкости ПСФ в отношении белков плазмы; сравнительный анализ данных с результатами других исследований.

Материалы и методы

Для исследования использовали капилляры полисульфона производства ПУП «ФреБор» (Беларусь). Волокна были упакованы в поликарбонатные корпуса диализных колонок объемом 230 мл (около 9000 ± 300 капилляров в одной колонке). Для работы капилляры изготавливали в двух модификациях: открытые и закрытые. Капилляры закрытого типа (ПСФ-З) – полые волокна с блокировкой капилляра с обеих сторон. При их использовании плазма контактировала только с внешней поверхностью капилляра. Капилляры открытого типа (ПСФ-О) – полые волокна без блокировки капилляров. В данном случае при пропускании плазмы она контактировала как с внешней, так и с внутренней поверхностями капилляра.

Исследование адсорбционных свойств проводили путем стендового эксперимента, в замкнутом контуре через гемосорбционную колонку циркулировал определенный объем плазмы. Данный вид эксперимента моделирует проведение гемосорбции в клинических условиях. Перед началом эксперимента контур промывали 250 мл физиологического раствора с 5000 МЕ гепарина. Эксперимент проводили при комнатной температуре (23°C) и постоянном давлении в системе. Длительность эксперимента составляла 60 мин. Пробы от-

бирали через инъекционный узел магистрали без остановки циркуляции. Неспецифически связавшиеся белки смывали с капилляров, пропуская физиологический раствор (500 мл) через колонку после остановки эксперимента. Концентрацию белков, альбуминов и глобулинов определяли биохимическим анализатором «Architectc8000» («AbbottLaboratoriesCo.», США).

Адсорбция (A , мг) рассчитывалась по формуле: $A = (C_0 - C_t) \times V$, где: C_0 – исходная концентрация белка в пробе (мг/мл), C_t – концентрация белка в пробе после окончания эксперимента (мг/мл), V – объем циркулирующей плазмы, используемый для эксперимента (мл). Адсорбционную емкость рассчитывали как количество белка, адсорбированного на единицу площади поверхности сорбента. Площадь поверхности капилляров (см²) определяли по формуле: $S^{\text{ext}} = \pi \times D^{\text{ext}} \times L \times N$, где D^{ext} или D^{int} – внешний или внутренний диаметр волокна (мм), L – длина волокна в колонке (мм), N – количество волокон в одной колонке.

Таким образом, общая площадь поверхности для колонки, заполненной закрытыми капиллярами: $S_z = S^{\text{ext}}$. Общая площадь поверхности для колонки, заполненной открытыми капиллярами: $S_o = S^{\text{ext}} + S^{\text{int}}$. Адсорбционная емкость (Q , мкг/см²) в момент времени t : $Q_t = A_t / S$, где A_t – адсорбция белка к моменту времени t (мг), S – общая площадь поверхности для данной колонки (см²). Выход элюирования определяли по формуле: $K_{\text{эл}} = (A_{\text{эл}} / (A_0 - A_t)) \times 100 \%$, где $A_{\text{эл}}$ – количество белка в элюате, мг, A_0 – количество белка в плазме до первого прохождения через колонку, A_t – количество белка в плазме после окончания эксперимента.

Статистическую обработку результатов исследования проводили в программах MicrosoftExcel и Statistica 10.0 непараметрическими методами. Для описания результатов использовали медиану и 25 и 75 процентиля. Для определения статистической значимости различий концентрации веществ до и после эксперимента использовали метод анализа зависимых выборок Манна–Уитни. Для определения статистической значимости различий концентрации веществ при использовании различных модификации колонок и волокон ПСФ использовали метод анализа для независимых выборок Вилкоксона. Разницу считали статистически достоверной при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Анализ неспецифической адсорбции белка плазмы крови показал, что после контакта плазмы с волокнами ПСФ происходит уменьшение концентрации общего белка в плазме крови. Это связано с адсорбцией белка на гидрофобном слое ПСФ волокон (табл. 1). Альбумин, будучи амфотерным белком, может адсорбироваться как за счет электростатических взаимодействий, так и за счет гидрофобных эффектов.

При исследовании адсорбции белков капиллярами ПСФ выявлено, что капилляры ПСФ-О адсорбируют больше белка на своей поверхности, чем капилляры ПСФ-З. Изменение количества белка в плазме составило 6,5 (5,9; 6,9) г и 2,2 (1,9; 2,4) г соответственно (рис. 2, А). Таким образом, на капиллярах открытого типа адсорбируется в три раза больше белка, чем капиллярами закрытого типа. Наиболее вероятная причина в том, что при использовании капилляров открытого типа площадь поверхности, доступной для контакта с плазмой, больше, белки имеют доступ и к наружной, и к внутренней поверхностям капилляра.

В ходе элюции с ПСФ капилляров 0,9 % раствором натрия хлорида слабые взаимодействия между полимером и адсорбированными на ней белками были разрушены, а более прочные взаимодействия сохранились. Результаты показали, что с капилляров закрытого типа элюировано 2,0 (1,5; 2,9) г белков, что практически равно тому количеству, которое сорбировано в ходе эксперимента 2,2 (1,9; 2,4) г. С капилляров открытого типа элюировано 3,0 (2,8; 3,5) г белка, что в два раза меньше

Таблица 1 – Изменение количества белка после контакта с капиллярами полисульфона (результаты представлены в виде медианы [Q1; Q3])

Показатель	Тип волокна	Время	Концентрация, г
Общий белок	ПСФ-З	T ₀	16,9 (14,3; 21,6)
		T ₆₀	15,2 (12,2; 18,1)*
	ПСФ-О	T ₀	18,9 (14,1; 20,3)
		T ₆₀	12,6 (6,9; 13,7)*
Альбумин	ПСФ-З	T ₀	8,8 (8,3; 11,2)
		T ₆₀	7,9 (6,9; 10,7)*
	ПСФ-О	T ₀	9,1 (8,2; 11,3)
		T ₆₀	5,6 (4,1; 7,8)*
Глобулины	ПСФ-З	T ₀	7,7 (6,3; 10,9)
		T ₆₀	6,4 (4,8; 8,3)*
	ПСФ-О	T ₀	6,5 (5,9; 7,4)
		T ₆₀	4,2 (2,8; 5,8)*

Примечание: *p ≤ 0,05 при сравнении значений от T₀ и T₆₀, метод Вилкоксона.

сорбированного в ходе эксперимента 6,5 (5,9; 6,9) г (рис. 2, Б).

Результаты адсорбции глобулинов на исследуемых конфигурациях ПСФ капилляров показали, что на капиллярах ПСФ-О адсорбируется больше глобулинов, чем на ПСФ-З: 2,6 (1,9; 2,8) г, 1,7 (1,0; 2,6) г соответственно (рис. 3, А).

Анализ элюата показал, что в случае контакта плазмы с волокнами закрытого типа, когда плазма контактирует только с внешней поверхностью, альбумины легко выходят в элюат и обнаруживаются в количестве, равном адсорбированному – 0,9 (0,8; 1,1) г. При промывке волокон открытого типа смывается около 60 % адсорбированных альбуминов. Количество аль-

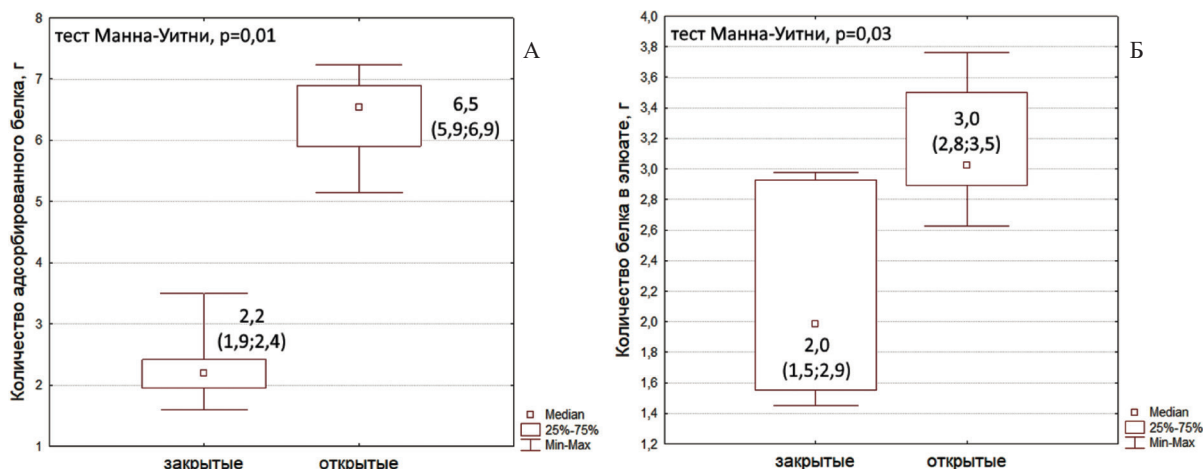


Рис. 2. Изменение количества белка после контакта с капиллярами полисульфона (А) и количество белка в элюате

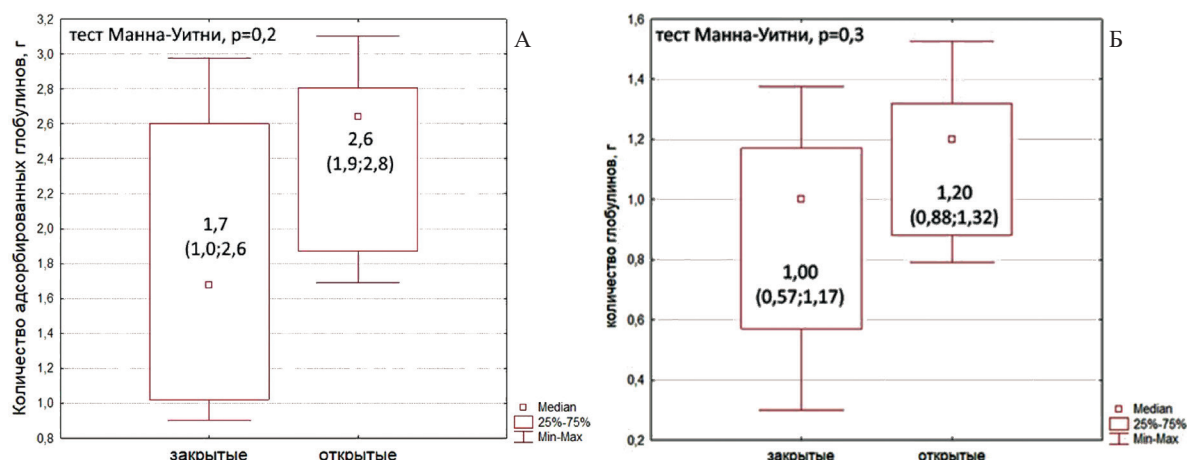


Рис. 3. Изменение количества глобулинов после контакта с капиллярами полисульфона (А) и количество глобулинов в элюате (Б)

бумина в элюате 1,3 (1,3; 1,4) г в 2,7 раза меньше, чем количество альбуминов, извлеченных из плазмы волокнами закрытого типа (3,6 (3,5; 4,0) г). Определение количества глобулинов в элюате показало, что в элюате обнаруживается 1,0 (0,6; 1,2) г глобулинов после смыва с капилляров ПСФ-3 типа и 1,2 (0,88; 1,32) г после смыва с капилляров ПСФ-О типа (рис. 3, Б).

Таким образом, отнимая то количества белка, которое выходило при смыве колонки физиологическим раствором, была рассчитана неспецифическая адсорбция белков волокнами ПСФ. Для ПСФ волокон закрытого типа адсорбция общего белка составила 1,2 (2,8; 0,01) %, альбуминовой фракции – 0,01 (0,01; 1,3) %, глобулиновой фракции – 9,1 (6,8; 13,1) %. Для ПСФ волокон открытого типа адсорбция общего белка составила 18,5 (21,98; 16,75) %, альбуминовой фракции – 24,83 (27,31; 22,57) %, глобулиновой фракции – 20,04 (17,28; 21,54) %.

Результаты свидетельствуют, что адсорбция белка плазмы крови значительно выше при использовании волокон открытого типа, что, вероятнее всего, следствие асимметричности ПСФ мембраны, у которой внутренняя сторона более гидрофобна и способствует адсорбции белка на внутренней поверхности ПСФ волокон. Таким образом, использование волокон открытого типа не рекомендуется в клинической практике, так как будет способствовать значительной потере белковой части крови при проведении гемосорбции.

При разработке метода использования ПСФ волокон для целей гемосорбции следует использовать волокна закрытого типа, так как в данном случае наблюдается минимальная

адсорбция белка. Следует отметить, что в данном случае адсорбируется в большем количестве глобулиновые белки.

Таким образом, результаты оценки выхода элюирования показывают разницу адсорбции белков на наружной и внутренней поверхностях капилляра ПСФ: наружная поверхность характеризуется обратимостью адсорбции, в то время как внутренняя поверхность после элюции сохраняет большее количество адсорбированного на ней белка. Кроме того, выход элюирования помог оценить фракционную асимметрию в адсорбции, а именно большую способность альбуминов к необратимой адсорбции в сравнении с глобулинами, что можно объяснить малым размером молекул альбуминовой фракции и большим количеством гидрофобных поверхностей.

Оценка адсорбционной емкости показала, что колонка с капиллярами ПСФ-О демонстрирует в 2,3 раза больше адсорбционную емкость (Q) по общему белку по сравнению с ПСФ-3 (табл. 2). Исследование выявило принципиальные различия в адсорбции изучаемых белковых фракций. Увеличение площади поверхности в 1,7 раза (ПСФ-О) привело к росту адсорбции общего белка в 3,3 раза, что превышает пропорциональный рост площади. Это свидетельствует о более эффективном использовании внутренней поверхности капилляров ПСФ для сорбции белков. При адсорбции альбумина произошло почти пропорциональное увеличение емкости при увеличении площади поверхности сорбента в 2,2 раза. А вот при адсорбции глобулинов такой зависимости не наблюдали.

Таблица 2 – Адсорбционная емкость (Q, мкг/см²) полисульфоновых капилляров различного типа

Показатель	Тип капилляров	Q, мкг/см ²
Общий белок	ПСФ-З	7,9
	ПСФ-О	26,5
Альбумины	ПСФ-З	6,5
	ПСФ-О	14,7
Глобулины	ПСФ-З	9,4
	ПСФ-О	9,7

Полученные значения адсорбционной емкости (14,7 мкг/см² для альбумина) соответствуют данным для полиэфирсульфона с поливинилпирролидоновыми добавками (10–15 мкг/см²), встречаемые в исследованиях по изучении биосовместимости ПС как матрицы для диализных мембран [5]. Адсорбция глобулинов (9,7 мкг/см²) близка к значениям для нефункционализированного полисульфона (8–12 мкг/см²) [6].

Заключение

Проведенные исследования показали, что неспецифическая адсорбция белков плазмы крови более выражена для открытых капилляров ПСФ по сравнению с такой для закрытых. Неполное удаление альбуминовой фракции с элюатом при использовании капилляров открытого типа свидетельствует о разнице в связывающей способности внутренней и внешней поверхности капилляра. При этом изменение концентрации белка при использовании капилляров различного типа происходит в большей степени за счет альбуминовой фракции, так как изменения в адсорбционной емкости глобулинов при использовании капилляров открытого типа не обнаружено. Для разработки гемосорбентов должны быть использованы капилляры ПСФ закрытого типа из-за их меньшей неспецифической адсорбции белков.

Список цитированных источников

1. Susanto, H. Photografted thin polymer hydrogel layers on PES ultrafiltration membranes: Characterization, stability, and influence on separation performance / H. Susanto, M. Ulbricht // *Langmuir*. – 2007. – V. 23, № 14. – P. 7818–7830.
2. Polyvinylpyrrolidone in hemodialysis membranes: Impact on platelet loss during hemodialysis / A. M. Zawada [et al.] // *Hemodialysis International*. – 2021. – Vol. 25, No. 4. – P. 498–506.
3. Vanherck, K. Crosslinking polyimides for membrane applications: A review / K. Vanherck, G. Koeckelberghs, I.F.J. Vankelecom // *Progress in Polymer Science*. – 2013. – V. 38, № 6. – P. 874–896.
4. Malchesky, P. S. Nonbiological liver support: historic background / P. S. Malchesky // *Artificial Organs*. – 1994. – V. 18, № 5. – P. 342–347.
5. Liu, T.-Y. Surface characteristics and hemocompatibility of PAN/PVDF blend membranes / T.-Y. Liu, W.-C. Lin, L.-Y. Huang // *Polymers for Advanced Technologies*. – 2005. – V. 16, № 5. – P. 413–419.
6. Sigler, K. Protein adsorption patterns and analysis on IVIG loaded polystyrene nanoparticles / K. Sigler, B.-R. Paulke, T. Schaub // *J. of Biomedical Materials Research*. – 2007. – V. 83. – P. 76–83.

THE ADSORPTION CAPACITY OF POLYSULFONE CAPILLARIES IN CONTACT WITH HUMAN BLOOD PLASMA

Ryabtseva T.V.¹, Makarevich D.A.¹, Dus D.D.², Korolik A.K.², Ochkovskiy V.A.¹, Zanamonev E.A.¹

¹“Belarusian State Medical University”, Minsk, Belarus

²“Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology”, Minsk, Belarus

The article presents the results of studying the adsorption capacity of polysulfone capillaries for blood plasma proteins in the dynamic bench experiments. In the work were used open and closed modifications of polysulfone capillaries. Calculation of the adsorption capacity (the amount of adsorbed protein per capillary surface area) showed that open capillaries adsorb more protein per unit of surface area. When using open-type polysulfone capillaries, the adsorption capacity in relation to total protein increases 3 times, albumins - 2 times and does not change for the globulin fraction. Thus, it is recommended to use closed-type capillaries for hemosorbents.

Keywords: polysulfone; hemosorbent; adsorption; albumins; globulins.