

**СПОСОБНОСТЬ ЛИГАНДИЗОВАННОГО ПОЛИСУЛЬФОНА  
СВЯЗЫВАТЬ ЛИПОПОЛИСАХАРИД И ЕГО ГЕМОСОВМЕСТИМОСТЬ  
ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ГЕМОСОРБЕНТА**

*Макаревич Д.А., Рябцева Т.В., Дусь Д.Д., Лобачева Г.А., Куликова П.Л.*

**Макаревич Д.А.**

*Кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научного отдела ГУ  
«Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гемато-*

*логии»,*

*г. Минск, Беларусь*

*demkarevich@yandex.ru*

**Рябцева Т.В.**

*Кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии  
УО «Белорусский государственный медицинский университет»,*

*г. Минск, Беларусь*

*ta-yana@yandex.ru*

**Дусь Д.Д.**

*Заведующий отделением экстракорпоральной детоксикации*

*ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гема-*

*тологии»,*

*г. Минск, Беларусь*

**Лобачева Г.А.**

*Младший научный сотрудник научного отдела ГУ «Минский научно-практиче-*

*ский центр, хирургии, трансплантологии и гематологии,*

*г. Минск, Беларусь*

**Куликова П.Л.**

*Младший научный сотрудник научного отдела ГУ «Минский научно-практиче-*

*ский центр, хирургии, трансплантологии и гематологии,*

*г. Минск, Беларусь*

**Аннотация.** Проблема граммотрицательного сепсиса требует создания эффективных и безопасных отечественных гемосорбентов для удаления липополисахаридов. В работе впервые проведена комплексная оценка гемосовместимости и липополисахаридсвязывающей способности лигандизованного полисульфона, что позволило обосновать оптимальные условия его применения в методе биоспецифической сорбции из цельной крови: капилляры закрытого типа, время контакта 60 минут, скорость перфузии  $50 \pm 10$  мл/мин. Установлено, что капилляры закрытого типа обладают высокой гемосовместимостью (соответствие ISO 10993-4-2020) и минимальной неспецифической адсорбцией белка. Сорбционная емкость обеспечивает связывание 24,7 [21,2; 27,9] нг эндотоксина на грамм сорбента. Полученные результаты открывают возможность создания нового отечественного специфического гемосорбента для лечения сепсиса и септического шока.

**Ключевые слова:** лигандизованный полисульфон, гемосорбент, полимиксин В, гемосовместимость, граммотрицательный сепсис; экстракорпоральная детоксикация, сорбционная ёмкость.

## LIPOPOLYSACCHARIDE-BINDING CAPACITY AND HEMOCOMPATIBILITY OF LIGANDIZED POLYSULFONE FOR THE DEVELOPMENT OF A SPECIFIC HEMOADSORBENT

**Makarevich D.A.**

*PhD in Biology, Leading Researcher, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus  
demkarevich@yandex.ru*

**Ryabtseva T.V.**

*PhD in Biology, Associate Professor, Department of Biological Chemistry, Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus  
ta-yana@yandex.ru*

**Dus D.D.**

*Head of the Department of Extracorporeal Detoxification, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus*

**Lobacheva G.A**

*Junior Researcher, Research Department, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology, and Hematology, " Minsk, Belarus*

**Kulikova P.L.**

*Junior Researcher, Research Department, Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology, and Hematology, " Minsk, Belarus*

**Abstract.** *The problem of gram-negative sepsis necessitates the development of effective and safe domestic hemoadsorbents for lipopolysaccharide removal. In this work, a comprehensive assessment of the hemocompatibility and lipopolysaccharide-binding capacity of ligandized polysulfone was performed for the first time, allowing to substantiate the optimal conditions for its use in the method of biospecific sorption from whole blood: closed-type capillaries, contact time 60 minutes, perfusion rate  $50 \pm 10$  ml/min. It was found that closed-type capillaries exhibit high hemocompatibility (compliance with ISO 10993-4-2020) and minimal non-specific protein adsorption. The sorption capacity provides binding of 24.7 [21.2; 27.9] ng of endotoxin per gram of sorbent. The obtained results open up the possibility of creating a new domestic specific hemoadsorbent for the treatment of sepsis and septic shock.*

**Key words:** *ligandized polysulfone, hemoadsorbent, polymyxin B, hemocompatibility, gram-negative sepsis, extracorporeal detoxification, sorption capacity.*

**Актуальность.** Разработка высокотехнологичного метода экстракорпоральной коррекции гомеостаза у пациентов с синдромом системного воспалительного ответа (ССВО) и сепсисом, основанного на применении эффективного и безопасного отечественного гемосорбента, является актуальной задачей современной трансфузиологии и реаниматологии. Применение гемосорбентов позволяет быстро и безопасно снизить концентрацию липополисахаридов (ЛПС) грамотрицательных бактерий в крови, которые являются одним из ключевых триггеров развития неконтролируемого системного воспаления, полиорганной недостаточности и септического шока [1].

В настоящее время для удаления ЛПС из крови применяются зарубежные гемосорбенты на основе полистирол-дивинилбензола с иммобилизованным полимиксином В: Toraymixin-PMX-20R (Япония), Altesco-LPS (Швеция). В Республике Беларусь таким продуктом является отечественный гемосорбент «ЛПС-Гемо» (НПО ОДО «Фармавит», Беларусь) на основе матрицы из полиакриламидного геля. Основными недостатками существующих изделий являются высокая стоимость [2], значительная неспецифическая адсорбция белков плазмы и лекарственных препаратов [3].

Полисульфон (ПСФ) — ароматический полимер, широко применяемый в гемодиализе благодаря высокой термической и химической стойкости, механической прочности и биосовместимости. Полисульфоновые мембраны составляют более 70 % от всех синтетических диализных мембран и стали золотым стандартом в заместительной почечной терапии [4]. Поэтому нами предложено использование полисульфоновых полых волокон в качестве матрицы для иммобилизации полимиксина В с целью создания специфического гемосорбента для удаления ЛПС.

**Цель** данного исследования — комплексная оценка гемосовместимости и липополисахарид-связывающей способности лигандизованного полисульфона для обоснования условий оптимального применения данного полимера в методе биоспецифической сорбции липополисахарида из цельной крови.

**Материалы и методы.** Для проведения экспериментов использовали полисульфоновые капилляры высокого потока, упакованные в гемосорбционные колонки производства ПУП «ФреБор» (Республика Беларусь). Колонки были изготовлены с содержанием разного типа капилляров: с запаянными (блокированными) концами капилляров с обеих сторон и с открытыми концами (без блокировки).

Гемосовместимость оценивали в статических и динамических экспериментах с цельной гепаринизированной кровью здоровых доноров ( $n=12$ , 2-5 ЕД гепарина/мл крови). В статических экспериментах (инкубация 60 минут при 37°C) пробы крови внутри образцов колонок периодически помешивали. В динамических экспериментах кровь пропускали со скоростью  $10\pm 1$  мл/мин при комнатной температуре (23°C) в течение 60 мин. Концентрацию эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов определяли на клеточном анализаторе CellDynRuby (Abbott Laboratories, США), содержание свободного гемоглобина — методом кислого гематина [5].

Неспецифическую адсорбцию белка изучали в динамическом эксперименте с плазмой крови (скорость перфузии  $50\pm 10$  мл/мин, 60 мин,  $t=23^\circ\text{C}$ ). Концентрацию общего белка, альбуминов и глобулинов определяли колориметрическими методами на биохимическом анализаторе Architect c8000 (Abbott Laboratories, США).

Липополисахарид-связывающую способность оценивали с использованием модельного раствора липополисахарида *E. coli* в концентрациях 90, 180, 270 и 360 ЕУ/мл (среда — апиrogenный физиологический раствор). Раствор пропускали через колонки, содержащие 1 г лигандизованного полисульфона со скоро-

стью  $50 \pm 10$  мл/мин в течение 60 мин. Концентрацию ЛПС определяли хромогенным методом по конечной точке с использованием набора реактивов BIOENDO ЕС. Для оценки обратимости связывания проводили элюирование неспецифически связанного ЛПС 0,9 % раствором Рингера.

Результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха [25 %; 75 %]. Статистический анализ проводили непараметрическими методами (Statistica 10.0): U-критерий Манна–Уитни, критерий Вилкоксона. Для оценки динамики в трех временных точках проводили ранговый дисперсионный анализ Фридмана. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Анализ изменения клеточного состава крови после стендовых экспериментов показал, что полисульфоновые капилляры не оказывают клинически значимых изменений показателей крови. Концентрация эритроцитов снижалась в течение 60 мин контакта, однако абсолютное снижение не превышало 10 % от исходного уровня и оставалось в пределах референсных значений. Наиболее выраженное снижение зафиксировано в динамическом эксперименте с закрытыми капиллярами, однако медианные значения на 60-й минуте составили  $3,78 [3,60; 3,88] \times 10^{12}/л$ , что соответствует стандарту биосовместимости ISO 10993-4-2020 [6].

Концентрация тромбоцитов снижалась в обеих экспериментальных сериях. В динамических условиях потеря тромбоцитов за 60 мин для образцов с открытыми капиллярами составила 12–15 % и 8–11 % для образцов с закрытыми капиллярами. В статических экспериментах — 8–11 % и 6–9 % соответственно. Исходные концентрации тромбоцитов составляли  $300 [263; 372] \times 10^9/л$  для модификации сорбента с закрытыми капиллярами и  $270 [198; 312] \times 10^9/л$  для модификации сорбента с открытыми капиллярами полисульфона. Через 60 мин при закрытых капиллярах остаточная концентрация —  $251,5 [244,2; 278,2] \times 10^9/л$ , при открытых —  $235,0 [180,2; 271,7] \times 10^9/л$  ( $p < 0,05$ ). Наибольшая скорость снижения концентрации тромбоцитов наблюдалась в первые 30 мин эксперимента, что свидетельствует о преимущественно контактной активации в начале перфузии.

Снижение концентрации тромбоцитов на 12–15 % в динамических условиях с открытыми капиллярами и на 8–11 % с закрытыми капиллярами соответствует критериям стандарта ISO 10993-4-2020, который допускает снижение количества тромбоцитов до 20 % от исходного уровня при оценке гемосовместимости *in vitro*. Такая потеря не вызывает клинически значимой тромбоцитопении у пациентов с исходно нормальным уровнем тромбоцитов ( $>150 \times 10^9/л$ ). Однако у пациентов с сепсисом, у которых часто наблюдается тромбоцитопения потребления или коагулопатия, даже умеренная дополнительная адсорбция тромбоцитов может быть нежелательной. Следовательно, предпочтительной является модификация с закрытыми капиллярами, обеспечивающая меньшую потерю тромбоцитов. Полученные результаты согласуются с полученными нами ранее данными по адсорбции тромбоцитов на полиакриламидных сорбентах (например, «ЛПС-Гемо»), где потеря составляет 10–15 %.

Лейкоциты демонстрировали сложную динамику: в статических условиях отмечалось постепенное снижение концентрации: для закрытых капилляров с  $6,42 [5,89; 6,72]$  до  $6,11 [5,51; 6,46] \times 10^9/л$ . Для открытых капилляров снижение

лейкоцитов в статическом эксперименте было более выражено — с 5,44 [5,15; 6,51] до 5,04 [4,71; 6,01]  $\times 10^9$ /л. В динамических экспериментах резкое снижение лейкоцитов к 30-й минуте сменялось тенденцией к восстановлению к 60-й минуте, что объясняется адгезией с последующей десорбцией слабо связанных клеток, либо снижением скорости прохождения лейкоцитов через полимер. Для открытых капилляров в динамике к 60-й минуте концентрация лейкоцитов не восстанавливалась, а лишь замедлялась скорость её снижения.

Сложная динамика лейкоцитов (резкое снижение в первые 30 минут с последующей стабилизацией) объясняется быстрой адгезией гранулоцитов и моноцитов к гидрофобным участкам полисульфона, что типично для полимерных мембран [7]. Восстановление концентрации в динамическом режиме для закрытых капилляров, вероятно, связано с десорбцией слабо связанных клеток под действием сдвигового напряжения потока. Для открытых капилляров, где площадь контакта больше, восстановление не наблюдается, что может указывать на более прочное закрепление клеток в порах мембраны. Этот феномен не имеет критического клинического значения, поскольку абсолютное снижение лейкоцитов не выходит за пределы физиологических колебаний.

Уровень свободного гемоглобина оставался в пределах референсных значений (0,00–0,60 г/л) во всех экспериментальных группах. Максимальная концентрация (0,30 г/л) зафиксирована в статическом эксперименте с закрытыми капиллярами, в динамических условиях гемолитический потенциал был ниже (0,20 г/л), что указывает на достаточную гемосовместимость исследуемого полимерного материала.

Неспецифическая адсорбция белка плазмы значительно различалась для капилляров разного типа. Для закрытых капилляров адсорбция общего белка составила 1,2 [0,01; 2,8] %, альбуминов — 0,01 [0,01; 1,3] %, глобулинов — 9,1 [6,8; 13,1] %. Для открытых капилляров показатели были существенно выше: 18,5 [16,75; 21,98] %, 24,83 [22,57; 27,31] % и 20,04 [17,28; 21,54] % соответственно ( $p < 0,05$ ). Анализ элюата показал, что при промывке закрытых капилляров белок и альбумины практически полностью вымываются (2,0 [1,5; 2,9] г и 0,9 [0,8; 1,1] г со всего объема сорбента). Из открытых капилляров вымывается только 50% общего белка и 60% альбуминов, что свидетельствует о более высокой прочности связывания в пористой структуре мембраны полисульфона.

Меньшая неспецифическая адсорбция белка на закрытых (запаянных) капиллярах по сравнению с открытыми объясняется отсутствием сквозного потока через стенку полисульфонового волокна. В открытых капиллярах перфузируемый раствор проходит не только через внутренний просвет, но и через поры мембраны, что значительно увеличивает площадь контакта с полимером и способствует захвату белков как на внешней, так и на внутренней поверхности. В закрытых капиллярах контакт ограничивается только внутренней поверхностью, что снижает сорбцию альбуминов и глобулинов. Этот феномен соответствует данным литературы, где показано, что проточные мембранные системы обладают более высокой адсорбционной способностью, но при этом повышается риск нежелательного удаления полезных белков плазмы [8].

По уровню гемосовместимости разработанный лигандизованный полисульфон сопоставим с зарубежными гемосорбентами для удаления ЛПС. Так, для колонки Тогаумухин-РМХ-20R (Япония) в аналогичных экспериментах *in vitro* [9, 10]. Таким образом, модификация с закрытыми капиллярами демонстрирует более высокую селективность благодаря меньшей доступности внутренней поверхности полимера.

Для последующих экспериментов по изучению липополисахарид-связывающей способности была отобрана более подходящая для гемосорбции модификация полисульфона закрытого типа. Изучение адсорбции липополисахарида показало, что лигандизованный полисульфон закрытого типа эффективно связывает ЛПС из модельного раствора. Колонка с 1 г сорбента связывала до  $25 \pm 3$  нг ЛПС при максимальной концентрации 360 ЕУ/мл. Удаление ЛПС составляло 52,7–73,7 % в зависимости от исходной концентрации (таблица 1). Скорость перфузии  $50 \pm 10$  мл/мин обеспечивает пропускание до 3,0–3,6 л раствора за 60 мин, что соответствует примерно 0,6 объема циркулирующей крови взрослого пациента (который составляет примерно 5 л).

Таблица 1

Липополисахарид-связывающая способность лигандизованного полисульфона

Концентрация ЛПС, ЕУ/мл	Количество ЛПС до эксперимента, нг	Остаток ЛПС после эксперимента, ЕУ	Удаление ЛПС, %
90	9	42,5 [38,3; 47,8]	52,7 [47,7; 58,3]
180	18	56,9 [50,1; 62,4]	68,8 [62,6; 75,4]
270	27	71,0 [63,0; 79,0]	73,7 [66,1; 81,0]
360	36	124,6 [110,0; 138,2]	65,5 [59,2; 72,8]

Полученный результат сорбционной емкости составил 24,7 [21,2; 27,9] нг/г сорбента и сопоставим с характеристиками зарубежных аналогов: Тогаумухин (Япония), Altесо-LPS (Швеция), Тохірак (Россия) и отечественного гемосорбента «ЛПС-Гемо». При этом полисульфоновая матрица с закрытыми капиллярами обладает преимуществами в виде низкой неспецифической адсорбции белка, клеток крови, высокой механической прочности.

**Выводы.** Отобранная модификация с закрытыми капиллярами представляет собой оптимальный баланс между эффективностью удаления ЛПС и безопасностью. Низкая адсорбция белков и тромбоцитов минимизирует риск нежелательных эффектов при клиническом применении. Скорость перфузии 50 мл/мин и продолжительность сеанса 60 мин позволяют обработать до 3 л крови, что составляет около 60 % объема циркулирующей крови взрослого пациента. Для достижения полного очищения возможно проведение двух последовательных сеансов или увеличение времени перфузии. Полученные данные свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований на животных и в клинических условиях.

### **Список литературы**

1. Кирковский В.В., Дзядзько А.М., Гапанович В.Н. и др. Изменение среднего артериального давления и общего периферического сопротивления при проведении ЛПС-сорбции у пациентов с септическим шоком // *Здравоохранение*. – 2019. – № 5. – С. 51–55.
2. Гендель Л.Л. и др. Первичный клинический опыт применения колонки для ЛПС-адсорбции Тохірак в лечении пациентов с сепсисом // *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. – 2017. – Т. 14, № 5. – С. 42–50.
3. Громов М.И., Пивоварова Л.П., Шляпников С.А. и др. ЛПС-индуцированная активация иммунной системы при тяжелом сепсисе и септическом шоке. Селективная ЛПС-сорбция // *Журнал инфекции в хирургии*. – 2015. – № 3. – С. 15–18.
4. Bowry S.K., Gatti E., Vienken J. Contribution of polysulfone membranes to the success of convective dialysis therapies // *Contributions to Nephrology*. – 2011. – Vol. 173. – P. 110–118.
5. Камышников В.С. Клиническая биохимия. — Москва: МЕДпресс-информ, 2009. – 552 с. – ISBN 978-5-98322-514-5.
6. ISO 10993-4:2020 Biological evaluation of medical devices – Part 4: Selection of tests for interactions with blood.
7. Koga, Y. Biocompatibility of polysulfone hemodialysis membranes and its mechanisms: involvement of fibrinogen and its integrin receptors in activation of platelets and neutrophils. / Y. Koga [et al.] // *Artificial Organs*. – 2018. – Т. 42, № 9. – С. E246–E258.
8. Ávila, E. Biocompatibility in hemodialysis: artificial membrane and human blood interactions. / E. Ávila [et al.] // *BMC Nephrology*. – 2025. – Т. 26. – С. 482.
9. Murea, M. Membrane-to-patient optimization: individualized dialyzer selection for extracorporeal dialysis. / M. Murea [et al.] // *Toxins*. – 2026. – Т. 18, № 4. – С. 156.
10. Neyra, J. A. Polymyxin B haemoadsorption in endotoxic septic shock (Tigris): a multicentre, open-label, Bayesian, randomised, controlled, phase 3 trial. / J. A. Neyra [et al.] // *The Lancet Respiratory Medicine*. – 2026.