

Е.И. Малигон, А.Н. Белоусов, В.В. Яворский

Кафедра анестезиологии, интенсивной терапии, трансфузиологии, гематологии (зав. – проф. А.Н. Белоусов) Харьковской медицинской академии последипломного образования

НОВЫЕ ПУТИ ПРОДЛЕНИЯ ВРЕМЕНИ ХРАНЕНИЯ ЭРИТРОЦИТСОДЕРЖАЩИХ КОМПОНЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ НАНОТЕХНОЛОГИЙ

НОВІ ШЛЯХИ ПРОДОВЖЕННЯ ТЕРМІНУ ЗБЕРІГАННЯ ЕРИТРОЦИТВМІСНИХ КОМПОНЕНТІВ ЗА ДОПОМГОЮ НАНОТЕХНОЛОГІЙ

Резюме. У даній роботі вперше, порівняно з контролем, представлені показники, які характеризують залежність терміну появи гемолізу від кратності обробки крові наночастинками МУС-Б. Встановлено, що екстракорпоральна обробка крові наночастинками МУС-Б достовірно знижує активність Са, Mg-АТФази еритроцитів. Проведені дослідження засвідчують те, що на сьогодні за допомогою наночастинок МУС-Б стає можливим не тільки значно зменшити гемоліз, а отже продовжити термін зберігання крові, впливати на активність аденозинтрифосфатаз еритроцитів, регулювати трансмембранний обмін, але і екстракорпорально впливати на клітинний апоптоз.

Ключові слова: еритроцитвмісні компоненти, нанотехнології, термін зберігання.

Метаболическая реставрация, продление нормального функционирования клеток как внутри, так и вне организма – основная задача медико-биологического направления XXI века. С решением поставленной задачи человечество вплотную приблизится к тайнам долголетия, лечения ранее неизлечимых заболеваний, сделает значимый шаг вперед в области микробиологии, трансплантологии, выращивании и хранении клеток. Станет ли возможным в ближайшее будущее целенаправленно управлять клеточным метаболизмом, лечить ранее неизлечимые заболевания и т.д.? Какими для этого должны быть инструменты и методы? На все эти вопросы может дать ответ современное направление науки – нанотехнология. Нанотехнология – настоящий прорыв в науке XXI века, да и в жизни вообще. Устранение отрицательного влияния деятельности человека на окружающую среду, защита озонового слоя, производство любой ткани, любого вида топлива, физическое бессмертие организма – вот лишь краткий список того, что принесет в нашу жизнь эта область науки. Американский Национальный институт здоровья (НИН) включил наномедицину в пятерку самых приоритетных областей развития медицины в XXI веке [1]. Ученые из Национального института рака США считают, что нанотехнология поможет лечить рак в его самых ранних стадиях [2-4].

В Украине первые препараты медицинской

нанотехнологии синтезированы и запатентованы в 1998 году [5]. Это такие препараты как интракорпоральный нанобиокорректор “ИКНБ”, магнитоуправляемый сорбент (МУС-Б) и “Микромаг-Б” [6].

Основу препаратов составляют наночастицы магнетита (Fe_3O_4) размером от 6 до 12 нм. Наличие адсорбционного слоя обеспечивает наночастицам магнетита высокую сорбционную активность. Суммарная площадь их сорбционной поверхности составляет от 800 до 1200 m^2/g , а напряженность магнитного поля, которое индуцируется каждой частицей – 300-400 кА/м.

Цель работы: экстракорпорально уменьшить гемолиз эритроцитов с помощью наночастиц магнитоуправляемого сорбента (МУС-Б).

Материал и методы. *Материал:* коллоидный раствор магнитоуправляемого сорбента (МУС-Б). *Основа МУС-Б* – наночастицы магнетита (Fe_3O_4). *Размер частиц* – 6-12 нм; *суммарная площадь сорбционной поверхности* $S_n = 800-1000 m^2/g$; *намагниченность насыщения* $I_s = 2,15 kA/m$; *объемная концентрация* $q = 0,00448$; *вязкость* $\eta = 1,0112 cSt$.

Объект исследования: эритроциты венозной крови человека.

Все исследования проводились in vitro. Изучено состояние эритроцитов венозной крови у 20 практически здоровых добровольцев. Возраст обследованных составил от 24 до 40 лет. Исследо-

вания включали 3 етапа: I етап – исходное состояние эритроцитов; II – после обработки наночастицами МУС-Б; III – состояние эритроцитов на 21-е сутки наблюдения.

Методы исследования. У обследуемого из периферической вены в пробирки осуществлялся забор венозной крови объемом 3 мл. С целью предупреждения свертывания крови вводился лимоннокислый натрий. Первая пробирка была контрольной. Во вторую пробирку однократно вводился МУС-Б в количестве 1,5 мл с последующим выделением его с помощью постоянного магнитного поля напряженностью 200 кА/м. В третьей пробирке – кровь, которая двукратно была обработана МУС-Б. В четвертой – трехкратно. Взвесь клеток крови после выполнения биохимического исследования хранилась в холодильной камере при температуре +1°C. На 14-е сутки визуально регистрировались признаки гемолиза. На I и II этапах изучалась активность транспортных аденозинтрифосфатаз эритроцитов: Na, К-АТФазы и Са, Mg-АТФазы по общепринятой методике биохимического анализа [9].

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась параметрическим методом вариационной статистики по t-критерию Стьюдента. Обработка полученных данных осуществлялась при помощи программного обеспечения Excel.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате исследования установлено, что в контрольной и пробирках, где кровь была обработана наночастицами МУС-Б, на 1-е сутки наблюдения видимых признаков гемолиза не отмечено (рис. 1).

Однако на 21-е сутки в контрольной пробирке, где кровь трехкратно была обработана наночастицами МУС-Б, отмечались признаки гемолиза.

Напротив, в пробирках, где кровь один и два раза была обработана наночастицами МУС-Б, ге-

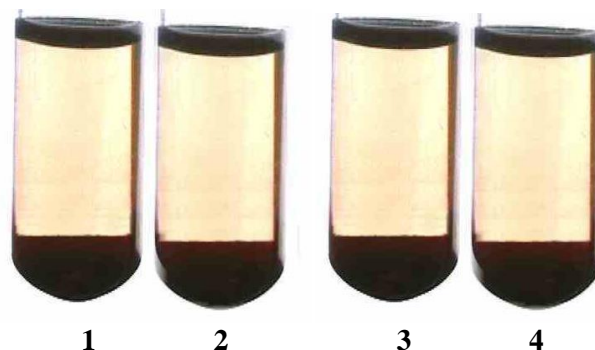


Рис. 1. Визуальная картина состояния крови на 1-е сутки наблюдения. Примечания: 1 – контроль; 2 – после однократной обработки МУС-Б; 3 – после двукратной обработки МУС-Б; 4 – после трехкратной обработки МУС-Б

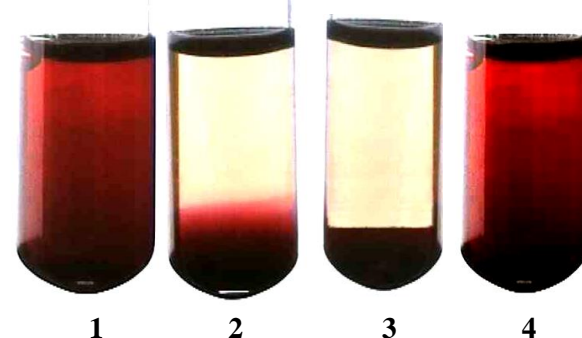


Рис. 2. Визуальная картина состояния эритроцитов на 21 сутки наблюдения. Примечания: 1 – контроль; 2 – после однократной обработки МУС-Б; 3 – после двукратной обработки МУС-Б; 4 – после трехкратной обработки МУС-Б

молиз практически не наблюдался (рис. 2).

Результаты исследований активности аденозинтрифосфатаз представлены в таблице. Так, данные таблицы свидетельствуют, что однократная обработка крови МУС-Б достоверно уменьшает (в сравнении с контролем) активность Са, Mg-АТФазы эритроцитов – на $2,47 \pm 0,6$ ммоль/мг белка в мин ($p < 0,01$), двукратная – на $5,19 \pm 0,5$ ммоль/мг белка в мин ($p < 0,001$), трехкратная – на $6,01 \pm 0,5$ ммоль/мг белка в мин ($p < 0,001$).

Таблица

Результаты исследований активности аденозинтрифосфатаз до и после обработки эритроцитов наночастицами МУС-Б ($M \pm m$; $n=20$)

Аденозин-трифосфатазы	Контроль	Кратность обработки МУС-Б		
		Однократно	Двукратно	Трехкратно
Na, К-АТФазы, ммоль/мг белка в мин	$6,34 \pm 0,5$	$6,11 \pm 0,6^*$	$5,89 \pm 0,7^*$	$5,93 \pm 0,4^*$
Са, Mg-АТФазы, ммоль/мг белка в мин	$23,64 \pm 0,6$	$21,17 \pm 0,7^{**}$	$18,45 \pm 0,5^{***}$	$17,63 \pm 0,3^{***}$

Примечания: * – $p > 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$

Напротив, достоверных различий относительно изменений активности Na, K-АТФазы ни в одной из пробирок (в сравнении с контролем) не выявлено ($p > 0,05$).

Таким образом, в результате исследований найдена оптимальная кратность экстракорпоральной обработки крови наночастицами МУС-Б, при которой существенно замедляется гемолиз. При этом минимальные значения активности Ca, Mg-АТФазы эритроцитов составляют – $18,45 \pm 0,5$ ммоль/мг белка в мин. Последующее снижение активности Ca, Mg-АТФазы ведет к ускорению гемолиза эритроцитов.

Выводы. 1. Найдена оптимальная кратность (1-2 раза) обработки крови наночастицами МУС-

Б, при которой отмечается угнетение гемолиза. 2. Установлено, что активность Ca, Mg-АТФазы эритроцитов уменьшается с возрастанием кратности обработки крови наночастицами МУС-Б. 3. Активность Na, K-АТФазы эритроцитов при экстракорпоральной обработке крови наночастицами МУС-Б не изменяется ($p > 0,05$). 4. Найден минимальный показатель активности Ca, Mg-АТФазы – $6,01 \pm 1,2$ ммоль/мг белка в мин, при котором время появления гемолиза практически не отличается от контроля.

Перспектива дальнейших исследований. В дальнейшем необходимо изучить влияние других наночастиц с целью продления сроков хранения эритроцитов и уменьшить их гемолиз.

Список использованной литературы

1. Северина С.Е. Транспортные аденозинтрифосфотазы. В кн.: *Современные методы исследования* / С.Е. Северина. – Изд-во МГУ, 1977. – 194 с.
2. Белоусов А.Н. Лечебно-профилактический продукт "Microtagе-B": Госпатент №30538А UA А 23L 1/304/ (Украина). – Заявл. 25.05.98. Опубл. 15.11.00. Бюл. № 6-11. – 3 с.
3. Белоусов А.Н. Сорбент для экстракорпоральной детоксикации биологических жидкостей: Госпатент №24322А UA А61N2/00/ (Украина). – Заявл. 19.06.97; Опубл. 17.07.98. Бюл. №7. – 4 с.
4. Белоусов А.Н. Способ получения магнитной жидкости для транспорта и удержания лекарств в организме: Госпатент №14817А UA А61N2/00/ (Украина). – Заявл. 21.06.96; Опубл. 18.02.97. Бюл. №2. – 3 с.
5. Белоусов А.Н. Влияние магнетита – препарата нанотехнологии на клеточный метаболизм / А.Н. Белоусов // *Вісн. проблем біолог. і мед.* – 2004. – № 2. – С. 34-37.
6. Ling E. *Biochem. Biophys* / E. Ling, V. Sapirstein // *Res. Commun.* – 1984. – Vol. 120. – P. 291-298.

ЭРИТРОЦИТОСОДЕРЖАЩИХ КОМПОНЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ НАНОТЕХНОЛОГИИ

Резюме. В данной работе впервые, в сравнении с контролем, представлены показатели, характеризующие зависимость времени появления гемолиза от кратности обработки крови наночастицами МУС-Б. Установлено, что экстракорпоральная обработка крови наночастицами МУС-Б достоверно снижает активность Ca, Mg-АТФазы эритроцитов. Проведенные исследования стали свидетельством того, что в настоящее время с помощью наночастиц МУС-Б становится возможным не только значительно уменьшить гемолиз, тем самым продлить время хранения крови, оказывать влияние на активность аденозинтрифосфотаз эритроцитов, регулировать трансмембранный обмен, но и экстракорпорально влиять на клеточный апоптоз.

Ключевые слова: эритроцитсодержащие компоненты, нанотехнологий, время хранения.

NEW WAYS TO EXTEND THE STORAGE PERIOD OF ERYTHROCYTE CONTENT COMPONENTS THROUGH NANOTECHNOLOGY

Abstract. In this work for the first time, in comparing with controls, the indicators that characterize dependence of hemolysis terms appearance on multiplicity of blood processing with nanoparticles MCS-B. It was found that extracorporeal blood treatment with MCS-B nanoparticles significantly reduces the activity of Ca, Mg-ATPase of erythrocytes. The performed researches confirm that with the help of nanoparticles of the MCS-B, it is possible not only to significantly reduce hemolysis, thereby extending the shelf life of the blood, but also to affect the activity of adenosine trisphosphatase of erythrocytes, to regulate the transmembrane exchange, and to affect extracorporeally the cellular apoptosis.

Key words: erythrocyte-containing components, nanotechnology, storage life.

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education (Kharkiv)

Надійшла 17.04.2017 р.

Рецензент – проф. Шкварковський І.В. (Чернівці)