

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Том 4. Биология и фундаментальная медицина

Сборник научных трудов
XIX Международной конференции студентов, аспирантов
и молодых ученых

26–29 апреля 2022 г.

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

Volume 4. Biology and fundamental medicine

Abstracts

XIX International Conference of students, graduate students
and young scientists

April 26–29, 2022



Национальный
исследовательский
**Томский
государственный
университет**



Томск 2022

УДК 612.111.4

**ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИИ ПОВЕРХНОСТИ СКАФФОЛДОВ НИКЕЛИДА ТИТАНА
КУКУРБИТ[6]УРИЛОМ НА ГЕМОЛИТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ**

Д.А. Федоришин, А.Э. Ухов

Научные руководители: профессор, д.х.н. А.А. Бакибаев, к.ф.-м.н. Е.С. Марченко

Национальный исследовательский Томский государственный университет

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: strix187@vandex.ru

**EFFECT OF SURFACE MODIFICATION OF TITANIUM NICKELIDE SCAFFOLDS BY
CUCURBIT[6]URIL ON THE HEMOLYTIC EFFECT**

D.A. Fedorishin, A.E. Ukhov

Scientific Supervisors: Prof., Dr. A.A. Bakibaev; Ph.D. E.S. Marchenko

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin str., 36, 634050

E-mail: strix187@vandex.ru

***Abstract.** Currently, materials based on titanium nickelide with shape memory effects (SME) and superelasticity (SE) are developed. However, their biocompatibility is not always sufficient for use in medicine. One way to improve biocompatibility is to modify these materials with nitrogen-containing supramolecular heterocycles. In this study, the cytocompatibility of titanium nickelide scaffolds modified by CB[6] studied by assessing their hemolytic activity. The low hemolytic activity of modified CB[6] samples was shown. The optimal parameters for assessing the hemocompatibility of such samples were established.*

Введение. В настоящее время активно разрабатываются материалы на основе никелида титана. Главным их преимуществом являются эффекты памяти формы (SME) и сверхэластичности (SE) [1].

Однако при этом остро стоит проблема дальнейшего повышения физиологической совместимости имплантируемых материалов. Существует много путей решения данной проблемы. Одним из таких путей является придание имплантируемым материалам биоподобия [2].

Создание биоподобных материалов – весьма сложная задача. Некоторое время назад открыта группа азотсодержащих соединений, называемых кукурбитурилами. Особенностью данных соединений является их биоподобность, что обеспечивает высокую вовлеченность в естественные биологические процессы, и, как следствие, высокую биосовместимость. Поэтому разработка и исследование биоподобных материалов с применением кукурбитурилов является очень актуальным направлением. Эти молекулы представляют собой макроциклические гексамеры гликолурила с метиленовым мостиком. Полости кукурбитурилов являются гидрофобными, в то время как порталы с карбонильной каймой проявляют дипольные свойства, которые очень привлекательны для катионных гостевых молекул. Внутренние полости демонстрируют сильное связывание с гидрофобными соединениями. Кукурбитурилы представляют собой молодое семейство молекулярных контейнеров, способных образовывать устойчивые комплексы с различными «гостями», включая молекулы лекарств, различные

аминокислоты и пептиды, сахараиды, красители, углеводороды, перфторированные углеводороды и даже высокомолекулярные соединения, такие как белки (например, человеческий инсулин) [2].

При биотестировании материалов, контактирующих с внутренней средой организма, наибольшее внимание уделяется влиянию биоматериала на клетки крови, то есть в первую очередь на реакцию эритроцитов и лейкоцитов. Исследование гемосовместимости перспективных биоматериалов *in vitro* может максимально точно имитировать варианты условий контакта материалов с кровью при их клиническом применении [3].

Целью исследования является оценка гемосовместимости скаффолдов из никелида титана, модифицированных кукурбитурилом (СВ[6]).

Материалы и методика исследования. В данном исследовании использовались образцы, представляющие собой скаффолды из никелида титана, имеющие форму прямоугольного параллелепипеда с длиной стороны 10 мм и высотой 1 мм ($n = 7$). Для их модификации использовалось одно азотсодержащее макроциклическое соединение – кукурбитурил (СВ[6]). СВ[6] - наиболее распространенный представитель кукурбитурилов.

Модификация поверхности представленных на исследование образцов осуществлялась 2 методами – окунанием ($n = 3$) и СВЧ-модификацией ($n = 3$). При окунании образцы окунали в 1 % раствор СВ[6] в физиологическом растворе (0,9 % NaCl в дистиллированной воде) на 15 мин с последующим высушиванием на воздухе при комнатной температуре. СВЧ-нанесение осуществлялось при 50 °C с помощью лабораторной системы для микроволнового синтеза Speedwave four Microwave Digestion Systems (Berghof Products, Germany). Время экспозиции составляло 40 мин при 95 % мощности.

Для оценки гемосовместимости образцов использовалась цельная гемостатированная кровь здорового донора-мужчины. Кровь разводили стерильным раствором 1X PBS с температурой 37 °C в соотношении 1:9. Интактные и модифицированные образцы помещали в стандартный 12-луночный планшет для культивирования клеток и заливали полученным раствором крови в PBS в соотношении 1 мл раствора на 1 см² площади поверхности образца. В качестве положительного контроля использовали деионизированную воду, в качестве отрицательного контроля использовали раствор 1X PBS. Затем планшет инкубировали в термостате при 37 °C в течение 60 мин. После этого кровь из лунок планшета переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали 5 мин при 3000 об/мин для осаждения оставшихся эритроцитов. Затем осторожно удаляли супернатант и переносили в кювету для спектроскопического анализа при 545 нм и анализировали с помощью ультрафиолетового спектрофотометра Uniplan (Pikon Inc.). Процент гемолиза представляет собой среднее значение трех повторностей и рассчитывается по формуле:

$$\text{Hemolysis} = \frac{\text{OD}_{\text{test}} - \text{OD}_{\text{control}}^{\text{negative}}}{\text{OD}_{\text{control}}^{\text{positive}} - \text{OD}_{\text{control}}^{\text{negative}}} \times 100\%$$

Результаты. Установлено, что гемолитический индекс для контрольного образца никелида титана составил $0,5 \pm 0,1$ %, что представляет собой наименьший процент гемолиза в данной выборке (Рис. 1, «Control»). При этом уровни гемолиза образцов никелида титана, модифицированных методами окунания и СВЧ в 2,4 и 2,8 раза соответственно выше, чем уровень гемолиза контрольного образца ($p < 0,05$) (Рис. 1, «Dipping» и «Microwave»). При этом не обнаружено статистически достоверных различий непосредственно между образцами, модифицированными методами окунания и СВЧ ($p > 0,05$).

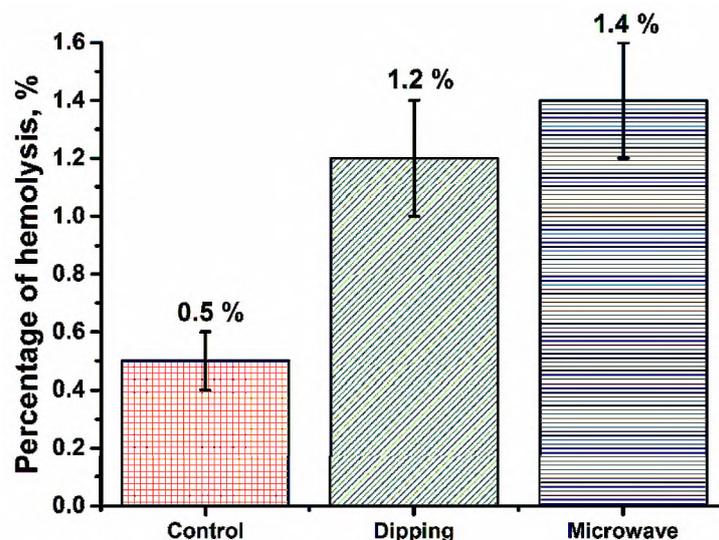


Рис. 1. Процент гемолиза эритроцитов при прямом контакте с модифицированными СВ[6] образцами никелида титана

Заключение. Установлено, что интенсивность окраски надосадочной жидкости в опытных пробах достоверно превышала таковую контрольных проб. Следовательно, модифицированные СВ[6] образцы никелида титана вызывали частичный выход гемоглобина из эритроцитов в надосадочную жидкость. Также выявлено, что степень гемолиза зависит от количества эритроцитов в эритроцитарной взвеси. Наиболее выраженный гемолиз наблюдался при концентрации эритроцитов $1,0 \times 10^6$ тыс/мл. При этом в опытных пробах оптическая плотность надосадочной жидкости была в 2,4 раза выше, чем в контрольной пробе ($p < 0,05$). Поэтому данная концентрация эритроцитов будет использоваться в дальнейших исследованиях.

Апробированный в данной работе способ контроля цитосовместимости успешно проявил себя в качестве достоверного экспрессного метода контроля общей цитотоксичности материалов. Все представленные на исследование образцы никелида титана не превышают допустимых уровней гемолиза для медицинских материалов, контактирующих с кровью согласно ГОСТ ISO 10993-4-2020 [3]. Также показано, что модификация поверхности образцов с помощью СВ[6] обоими использованными методами усиливает гемолитическую активность образцов крайне незначительно, что позволяет использовать это соединение для дальнейших исследований по модификации поверхности и придания материалам биоподобия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kokorev O.V., Khodorenko V.N., Bajgonakova G.A. [et al.]. Metal-Glass-Ceramic Phases on the Surface of Porous TiNi-Based SHS-Material for Carriers of Cells // Russ. Phys. J. – 2019. – Vol. 61. – P. 1734–1738.
2. Das D., Assaf K.I., Nau W.M. Applications of Cucurbiturils in Medicinal Chemistry and Chemical Biology // Front. Chem. – 2019. – Vol. 7. – P. 1–23.
3. ГОСТ ISO 10993-4-2020 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 4. Исследования изделий, взаимодействующих с кровью – М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 39 С.