

**SCI-CONF.COM.UA**

**MODERN RESEARCH  
IN WORLD SCIENCE**



**PROCEEDINGS OF V INTERNATIONAL  
SCIENTIFIC AND PRACTICAL CONFERENCE  
AUGUST 7-9, 2022**

**LVIV  
2022**

# **MODERN RESEARCH IN WORLD SCIENCE**

Proceedings of V International Scientific and Practical Conference

Lviv, Ukraine

7-9 August 2022

**Lviv, Ukraine**

**2022**

# ВПЛИВ НАНОАЛМАЗІВ НА МЕМБРАНИ ЕРИТРОЦИТІВ ПІД ЧАС РАДІАЦІЙНОЇ ТЕРАПІЇ ПУХЛИН

**Батюк Лілія Василівна,**

к.біол.н., доцент

Харківський національний медичний університет

**Кізілова Наталія Миколаївна,**

д.фіз.-мат.н., професор

Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна

м. Харків, Україна

**Вступ.** Ультрадисперсні алмази детонаційного синтезу або, за сучасною термінологією, наноалмази (НА) були виділені з продуктів детонації вибухових речовин (тротил, гексоген) ще в 1963 р., але перші публікації про їх фізико-хімічні властивості з'явилися лише наприкінці 80-х років минулого століття [1,2]. Було встановлено, що НА мають високі адсорбційні характеристики (1-10 мкг-екв/м<sup>2</sup>), велику поверхню (до 450 м<sup>2</sup>/г), велику кількість неспарених електронів ((3-7)·10<sup>19</sup> спін/см<sup>3</sup>) і електричний заряд (-78,44 мДж/моль). Крім того, кристал НА, маючи хімічно пасивне ядро класичного кубічного алмазу, має досить хімічно активну поверхню з безпечних для людини функціональних груп [3,4]. При цьому НА, як і звичайні алмази, є хімічно інертними до хімічних і біохімічних реагентів, не є канцерогенними або мутагенними [5,6]. Ці властивості НА знайшли застосування в машинобудуванні, суднобудуванні, авіабудуванні, інструментальній промисловості, електроніці, електротехніці, радіотехніці, полімерних композиціях, гумотехнічних виробках, мастильних матеріалах, полірувальних сумішах тощо [7-9]. Хімічна стабільність НА, висока площа поверхні та каталітична активність привернули значний інтерес у застосуваннях, які пов'язані з енергетикою [10] і з сучасними нано- і біотехнологіями [11,12]. Нещодавно було показано, що НА проявляють антирадіційну дію на організм і можуть використатися при радіаційній терапії пухлин [13,14].

**Мета роботи.** В даній роботі наведені результати досліджень впливу НА на кров та еритроцити щурів, які зазнали сумарного рентгенівського опромінення в дозі 4,0 Гр, шляхом вивчення кількісних змін гематологічних показників периферичної крові щурів. Метою роботи є детальне дослідження фізико-хімічних властивостей НА і їх дії на еритроцити крові.

**Матеріали та методи.** 30 статевозрілих щурів лінії Wistar масою 160-180 г утримували у віварії на стандартній дієті, згідно з рекомендаціями Асоціації з оцінки та акредитації догляду за лабораторними тваринами (AAALAC) [15]. Рентгенівське опромінення в дозі 4,0 Гр проводилось в апараті РУМ-17 за стандартними характеристиками: напруга на трубці  $U = 190$  кВ, сила струму  $I = 10$  мА, потужність дози  $q = 50,7$  Гр /хв. НА додавали до стандартної дієти у вигляді суспензії перорально в дозі 20 мг/кг маси тіла з першої доби після опромінення, а потім протягом 30 днів. Суспензія має  $C = 0,01$  % від сухої маси НА у фізіологічному розчині.

Експеримент був організований у вигляді кількох серій:

1. Контрольна група 10 тварин: опромінення у дозі 4,0 Гр;
2. Експериментальна група 10 тварин: опромінення дозі 4,0 Гр + дієта з НА;
3. Інтактна група 10 тварин: дієта з НА.

На 3, 7, 14 і 30 дні у щурів відбирали зразки крові і досліджували гематологічні показники, кількості фрагментованих еритроцитів, масу еритроцитів і стійкість до кислотного гемолізу за стандартними методиками [16]. Статистичний аналіз отриманих даних проводився за допомогою інструментів пакету Statistica 13.3.

**Результати та обговорення.** Отримані результати дослідження гематологічних показників периферичної крові щурів (Табл. 1, Табл. 2) свідчать, що під впливом іонізуючого випромінювання (4 Гр) відбуваються значні порушення функціонального стану елементів системи кровообігу. Згідно з літературними даними, опромінення викликає явище деформації еритроцитів, внаслідок чого збільшується кількість ехіноцитів у периферійній крові. При

цьому на поверхні клітин з'являються шипуваті виступи, що є результатом зникнення поверхневих компонентів мембрани внаслідок протеолітичного розщеплення білкових сполук і появи дефектів, наприклад, наскрізних пор. У свою чергу, це призводить до збільшення проникності клітинної мембрани для іонів та інших речовин у бішарі ліпідів.

**Таблиця 1**

**Гематологічні показники крові щурів при рентгенівському опроміненні та прийомі НА (на 14 добу)**

Index	Серія 1	Серія 2	Серія 3
Гемоглобін (г/л)	95.8 ± 2.57	98.4 ± 2.01	130.3 ± 5.6
Еритроцити (10 <sup>12</sup> /л)	4.06 ± 0.06	4.26 ± 0.2	6.33 ± 0.25
Лейкоцити (10 <sup>9</sup> /л)	11.14 ± 2.33	11.04 ± 1.01	7.2 ± 0.8
Тромбоцити	371.4 ± 33.3	375.6 ± 24.6	527.3 ± 62.7
Швидкість седиментації еритроцитів (мм/год)	9.4 ± 1.12	6.8 ± 0.86	3 ± 0.37
Деформовані	7.4 ± 0.67	5.4 ± 0.6	2.01 ± 0.11
Сегментовані	44.8 ± 6.62	40.0 ± 4.18	22.3 ± 1.45
Лімфоцити	34.0 ± 5.59	45.7 ± 2.28	66.3 ± 2.35
Моноцити	12.8 ± 1.31	9.6 ± 1.47*	8.33 ± 0.96

Результати наших досліджень показують, що пік ехіноцитозу припадає на ранні стадії променевого ураження. Результати дослідження особливостей розвитку гематологічних реакцій за умов застосування НА в дієті щурів протягом радіаційної терапії порівняно з показниками в контрольній і інтактній групах свідчать про значну гемостимулюючу активність НА.

Відмічено достовірне зменшення часу гемолізу еритроцитів у опромінених тварин (в середньому до 48 і 56 %) і швидкості гемолізу еритроцитів (до 70 і 82 %) на 3-7 добу (Рис. 1, 2). Ці результати свідчать про радіаційне пошкодження мембранних структур еритроцитів. При застосуванні НА на 3-7 добу виявлено зменшення часу гемолізу (на 52 і 55 %) і підвищення швидкості осідання еритроцитів (до 95 і 133 %). На 14 добу час гемолізу значно

збільшується у тварин, які приймали НА порівняно з контролем (до 153%), а швидкість знижується до 49%. Це свідчить про підвищення стабільності клітинних мембран крові на фоні підвищення проникності клітинної мембрани для іонів, що може бути пов'язано зі збільшенням у периферичній крові нових форм еритроцитів з кісткового мозку.

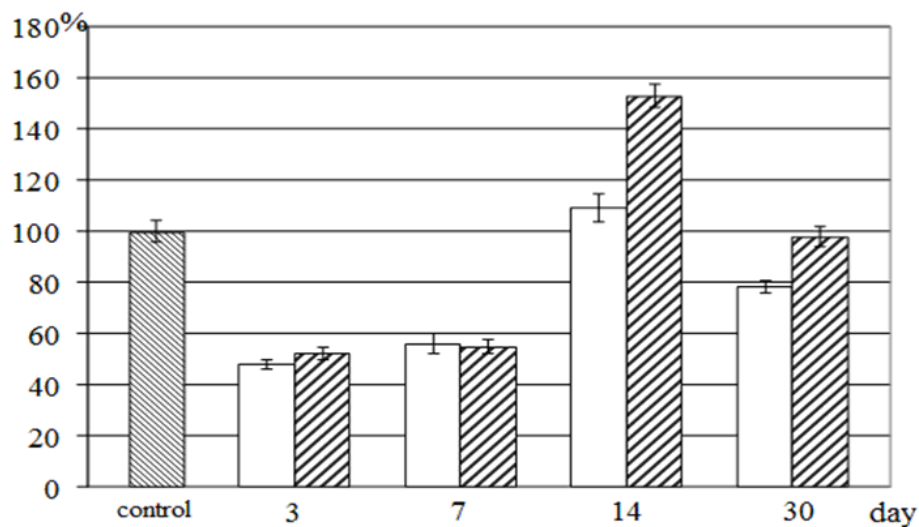
**Таблиця 2**

**Гематологічні показники крові щурів при рентгенівському опроміненні та прийомі НА (на 30 добу)**

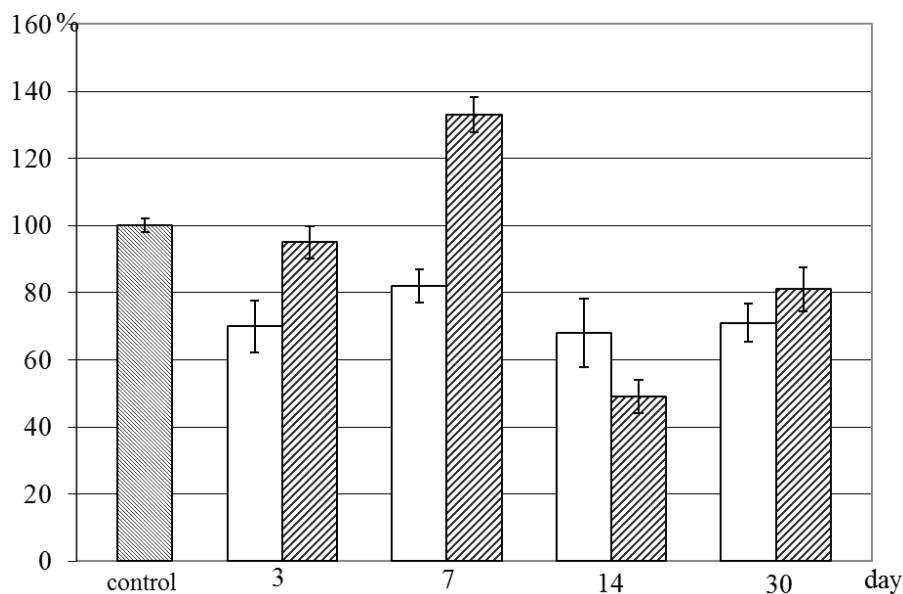
Index	Серія 1	Серія 2	Серія 3
Гемоглобін (г/л)	76.8 ± 5,08	119.4 ± 4.5	130.3 ± 5.6
Еритроцити (10 <sup>12</sup> /л)	3.35 ± 0.28	6.07 ± 0.45	6.33 ± 0.25
Лейкоцити (10 <sup>9</sup> /л)	29.86 ± 7.68	6.74 ± 1.13	7.2 ± 0.8
Тромбоцити	254.8 ± 63.2	633.6 ± 98.5	527.3 ± 62.7
Швидкість седиментації еритроцитів (мм/год)	9.0 ± 1.25	3.4 ± 0.8	3 ± 0.37
Деформовані	8.4 ± 0.51	4.2 ± 0.73	2.01 ± 0.11
Сегментовані	58.2 ± 2.09	21.2 ± 2.41	22.3 ± 1.45
Лімфоцити	14.5 ± 2.48	67.4 ± 2.22	66.3 ± 2.35
Моноцити	17.8 ± 1.18	7.2 ± 0.67	8.33 ± 0.96

Через 30 діб після опромінення спостерігається відносне зменшення часу гемолізу майже до норми (на 98%), що свідчить про менше пошкодження мембранних структур еритроцитів. Це можна пояснити появою в крові еритроцитів з відновленими мембранами. Слід відзначити позитивний вплив НА на ці реакції, що проявляється в ослабленні ступеня пошкодження та активації репараційних процесів. Один із можливих механізмів цього процесу: накопичення НА на поверхні мембран еритроцитів змінює їх властивості. Ці закономірності свідчать про те, що під впливом радіації мембрани еритроцитів щурів зазнають суттєвої конформаційної зміни на молекулярному рівні, внаслідок чого змінюються їх структурно-функціональні властивості. Певний внесок у зміну характеристик еритроцитів можуть вносити порушення якісного складу мембран. Мембранні структури клітин крові при опроміненні та

застосуванні УДА характеризуються менш різкими змінами конформації, ніж мембранні структури клітини крові лише при опроміненні. УДД призводять до відносного поліпшення мембранних структур еритроцитів.



a



б

**Рис. 1. Час гемолізу еритроцитів щурів у порівнянні з контрольною групою (серія 1) на 14-ту (а) і 30-ту (б) добу: □ – серія 2; ▨ - серія 3.**

**Висновки.** Були експериментально досліджені склад периферійної крові, наявність пошкоджених і фрагментованих еритроцитів, швидкість осідання еритроцитів і їх стійкість до кислотного гемолізу. Всі гематологічні параметри крові зазнають змін, які характерні до іонізуючого опромінення стандартними дозами, що використовуються в радіаційній медицині.

Експериментально встановлено, що НА мають виражену радіопротекторну дію в умовах зовнішнього опромінення організму щурів. Встановлено протирадіаційні властивості НА за гемостимулюючою активністю в умовах зовнішнього променевого впливу на організм. В основі променевої активності НА лежать їх специфічні мембранотропні властивості, які забезпечують відновлення пошкоджених мембранних структур клітин крові, що комплексно підвищує загальну неспецифічну резистентність організму.

Перспективи застосування НА під час радіаційної терапії полягають у широкому діапазоні їх властивостей, низькій токсичності, біодоступності, слабкій вираженості або повній відсутності побічних ефектів.

### Література

1. V.V. Danilenko, On the history of the discovery of nanodiamond synthesis, *Phys. Solid. State.*, vol. 46, pp. 595–599, 2004.
2. J.A. Viecelli, S. Bastea, J. N. Glosli, F.H. Ree, Phase transformations of nanometer size carbon particles in shocked hydrocarbons and explosives, *J. Chem. Phys.*, vol. 115, pp. 2730–2736, 2001.
3. A.P. Puzyr, A.V. Baron, K.V. Purtov, E.V. Bortnikov, N. N. Skobelev, O.A. Mogilnaya, V.S. Bondar, Nanodiamonds with novel properties: A biological study, *Diam. Relat. Mater.*, vol. 16, pp. 2124–2128, 2007.
4. V.Yu. Dolmatov, Detonation synthesis ultradisperse diamonds: Properties and applications, *Chemical Reviews*, vol. 70, N7, pp. 607 – 626, 2001.
5. S. Chauhan, N. G. Jain, U. Nagaich, Nanodiamonds with powerful ability for drug delivery and biomedical applications: Recent updates on in vivo study and patents, *J. Pharmaceutic. Analysis*, vol. 10, N1, pp. 1-42, 2019.
6. C. Voycheva, Detonation Nanodiamonds: Opportunity for Pharmaceutical and Medical Application, *J. Pharm. Res.*, vol. 1, N2, pp. 1-5, 2017.
7. A.S. Barnard, S.P. Russo, I.K. Snook, Simulation and bonding of dopants in nanocrystalline diamond, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 5, pp. 1395–1407, 2005.



8. J.Y. Raty, G. Galli, C. Bostedt, J.-Y. Raty, G. Galli, C. Bostedt, T. W. van Buuren, L.J. Terminello, Quantum confinement and fullerene-like surface reconstructions in nanodiamonds, *Phys. Rev. Lett.*, vol. 90 (3), pp. 370–401, 2003.
9. A.P. Puzyr, V.S. Bondar, A.A. Bukayemsky, G.E. Selyutin, V.F. Kargin, Physical and Chemical properties of modified nanodiamonds, NATO Science Series II. Mathematics, *Physics and Chemistry*, vol.92, pp. 261–270, 2005.
10. H. Zhao, G. Dong, L. Duan, L. Wang, Y. Qiu, Co-actions of ambient pressure and gas molecular adsorption on the carriers' transport in polycrystalline pentacene thin-film transistors, *J. Phys. Chem.*, vol. 117, pp. 58–63, 2013.
11. S.-J. Yuan, Y.-H. Xu, C. Wang, H.-C. An, H.-Z. Xu, K. Li, N. Komatsu, L. Zhao, X. Chen, Doxorubicin-polyglycerol-nanodiamond conjugate is a cytostatic agent that evades chemoresistance and reverses cancer-induced immunosuppression in triple-negative breast cancer, *J. Nanobiotechnology*, vol. 17 (110), pp.1-25, 2019.
12. E.T. Sangiao, A.M. Holban, Applications of Nanodiamonds in the Detection and Therapy of Infectious Diseases, *Materials (Basel)*, vol. 12, pp. 1-10, 2019.
13. L. Batyuk, N. Kizilova, V. Berest, Investigation of Antiradiation and Anticancer Efficiency of Nanodiamonds on Rat Erythrocytes, *IEEE Intern. Con. on Nanomaterials: Applications & Properties*, vol.4, pp. 95–98, 2017.
14. L. Batyuk, N. Kizilova, Protective action of nanodiamonds against influence of ionizing radiation in rats, *AS Cancer Biology*, vol. 4 (3), pp. 01–05, 2020.
15. M. Gettayacamin, L. Retnam, AAALAC International Standards and Accreditation Process, *Toxicological Research*, vol. 33, pp. 183–189, 2017.
16. Z.S. Barkagan, I.V. Tamarin, Evaluation of the degree of erythrocyte damage in disseminated intravascular coagulation, *Laboratory*, vol. 3, pp. 34–39, 1998.