УДК 612.111:541.6:612.115.35
DOI: 10.7868/S3034606126030087

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО КАТИОННОГО ПОЛИМЕРА С ТРЕТИЧНЫМИ И ЧЕТВЕРТИЧНЫМИ АМИНОГРУППАМИ И ГЕПАРИНА НА ГЕМОЛИЗ И АГРЕГАЦИЮ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

В. П. Иванова[1, *], О. В. Назарова[2], Ю. И. Золотова[2]

[1] Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, 194223, Российская Федерация

[2] Филиал Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» — Институт высокомолекулярных соединений, Санкт-Петербург, 199004, Российская Федерация

** E-mail: valet@iephb.ru*

Аннотация. **Обоснование.** Катионные полимеры используются в практической медицине как средства доставки биоактивных молекул, а также клеточного и генетического материала в ткани различного происхождения. Поликатионы, как в свободной, так и в связанной форме, при поступлении в кровь могут влиять на свойства различных компонентов крови. **Цель работы** состояла в изучении влияния катионного сополимера 2-диметиламиноэтилметакрилата (ДМАЭМ) с N, N-диметил-N-этил-метакрилоилоксиэтиламмоний йодидом (ДМЭАЭМ) на функции эритроцитов человека, а также влияния на эти процессы известного антикоагулянта гепарина. **Методы.** Использовали методы проточной цитометрии, микроскопического анализа и спектрофотометрического измерения. **Результаты.** Показано, что сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ практически не влиял на лизис эритроцитов, но вызывал агрегацию эритроцитов при концентрации 10 и 100 мкг/мл. Полианион гепарин изменял степень агрегации эритроцитов, индуцированной сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ. Воздействие гепарина на агрегацию эритроцитов зависело от использованной концентрации как гепарина, так и сополимера. Гепарин в фармакологических дозах (от 5 до 20 ед./мл) ингибировал агрегационный эффект сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ соответственно в дозе 10 или 100 мкг/мл. Это приводило к распаду агрегатов и восстановлению популяции одиночных клеток. **Выводы.** Мембранотропное действие сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на эритроциты, обусловленное положительным зарядом сополимера, полностью или частично блокировалось полианионом гепарином, возможно, за счет образования полиэлектролитных комплексов между противоположно заряженными полимерами. Полученные данные позволяют рекомендовать использование гепарина в медицинской практике в качестве препарата для ингибирования токсического действия поликатионов, введенных в организм человека.

Ключевые слова: поликатион, гепарин, гемосовместимость, эритроциты

Принятые сокращения: ДМАЭМ – 2-диметиламиноэтилметакрилат; ДМЭАЭМ – йодистый N, N-диметил-N-этил-метакрилоилоксиэтиламмоний; ПДМАЭМ – поли-2-диметиламиноэтилметакрилат; ПЭИ — полиэтиленимин; Q-ПТДАЭ — кватернизованный полимер поли-тио-2диэтиламинометилэтилен.

Финансирование работы. Работа выполнена в рамках государственного задания Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН (№ 075-00264-26-00).

Соблюдение этических стандартов. Эксперименты были одобрены этическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН (протоколы № 01-04 от 7 апреля 2022 г. и № 03-02 от 28 февраля 2024 г.). От здоровых доноров получали информированное согласие на использование проб крови для исследования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. ВПИ: оригинальная идея и схема экспериментов, проведение экспериментов, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка рисунков, написание и редакция рукописи. ОВН и ЮИЗ: химический синтез поликатиона. Все авторы прочитали окончательную версию рукописи и согласились с ней.

Ссылка для цитирования. Иванова В. П., Назарова О. В., Золотова Ю. И. Влияние синтетического катионного полимера с третичными и четвертичными аминогруппами и гепарина на гемолиз и агрегацию эритроцитов человека. Цитология / Cell and Tissue Biology. 2026. Т. 68. № 3. С. 322–338. doi: 10.7868/S3034606126030087

Поступила в редакцию: 27.03.2026
После доработки: 21.04.2026
Принята к 29.04.2026

© Иванова В. П., Назарова О. В., Золотова Ю. И., 2026

ЦИТОЛОГИЯ / CELL AND TISSUE BIOLOGY, 2026, том 68, № 3, с. 322—338

DOI: 10.7868/S3034606126030087

Influence of Synthetic Cationic Polymer with Tertiary and Quaternary Aminogroups and Heparin on the Hemolysis and Aggregation of Human Erythrocytes

V. P. Ivanova[a], *, O. V. Nazarova[b], J. I. Zolotova[b]

[a] *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194223, Russian Federation*

[b] *Branch of Petersburg Konstantinov Nuclear Physics of National Research Centre "Kurchatov Institute" — Institute of Macromolecular Compounds, St. Petersburg, 199004, Russian Federation*

** E-mail: valet@iephb.ru*

Abstract. **Objective:** Cationic polymers are used in applied medicine as bioactive molecules, cell and gene delivery materials into tissues of different origin. Polycations in both free and bound form can affect functions of various blood components at entering polymers in the blood. **The aim of the work** was to study the effect of copolymer of 2-dimethylaminoethylmethacrylate (DMAEM) with N,N-dimethyl-N-ethyl-methacryloiloxyethylammonium iodide (DMEAEM) on human erythrocytes functions and also the impact of well-known anticoagulant heparin on these processes. **Methods:** We used the methods of flow cytometry, microscopic analysis and spectrophotometric measurements. **Results:** It was shown that the DMAEM-DMEAEM copolymer practically did not affect the lysis of erythrocytes but caused erythrocyte aggregation at the concentration of 10 and 100 μg/mL. We found that the heparin effect on erythrocyte aggregation depended on the used dose both heparin and polycation. Heparin at pharmacological doses (from 5 to 20 Un/mL) inhibited the aggregation effect of the DMAEM-DMEAEM copolymer accordingly at the dose of 10 or 100 μg/mL. This resulted in the disruption of aggregates and recovering population containing single erythrocytes. **Conclusions:** Membranotropic action of the DMAEM-DMEAEM copolymer on erythrocytes caused by the positive charge of copolymer partly or totally was blocked by polyanionic heparin perhaps via the formation of polyelectrolyte complexes between opposite charged polymers. Data obtained allow us to recommend the heparin for use in practical medicine as a preparation for inhibiting the toxic effect of polycations injected into the human organism.

Key words: polycation, heparin, hemocompatibility, erythrocytes

Funding. The work was carried out within the framework of the State Assignment of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia (no. 075-00264-26-00).

Ethics approval and consent to participate. All studies were conducted in accordance with the principles of biomedical ethics and were also approved by the Ethics Committee of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry (protocols no. 01-04 dated April 7, 2022 and no. 03-02 dated February 28, 2024). Each participant in the study provided a voluntary written informed consent to the use of his biomaterials for research and subsequent publication of the results after receiving an explanation of the potential risks and benefits, as well as the nature of the upcoming study.

Conflict of interest. The authors of this work declare that they have no conflicts of interest.

Author contribution. VPI: original concept and experimental design, execution of the experiments, analysis and interpretation of the obtained data, preparation of the figures, writing and editing of the manuscript. OVN and YuIZ: chemical synthesis of the polycation. All authors read the final version of the manuscript and agreed to it.

For citation. Ivanova V. P., Nazarova O. V., Zolotova J. I. Influence of synthetic cationic polymer with tertiary and quaternary aminogroups and heparin on the hemolysis and aggregation of human erythrocytes. Tsitologiya / Cell and Tissue Biology, 2026. V. 68. No. 3. P. 322–338. doi: 10.7868/S3034606126030087

Received March 27, 2026
Revised April 21, 2026
Accepted April 29, 2026

© Ivanova V. P., Nazarova O. V., Zolotova J. I., 2026

Разработка катионных полимеров с новыми химическими и биологическими характеристиками по-прежнему вызывает повышенный интерес, как у химиков, так и медиков и биологов. Известно, что при взаимодействии молекулы катионного полимера с клеткой основную роль в формировании связей играют химические характеристики аминогруппы боковой цепи полимера: первичный, вторичный, третичный или четвертичный атом азота (Samal et al., 2012; Stawski, 2023). Наличие аминогрупп обеспечивает электростатическое взаимодействие поликатиона с клеточной мембраной (Molotkovsky et al., 2021). Величина положительного заряда катионного полимера определяется природой аминогруппы и плотностью распределения заряда вдоль цепи полимера. Введение различных алкильных заместителей в четвертичную аммонийную группу молекулы поликатиона позволяет варьировать химические свойства полимера, регулируя степень его гидрофобности (Teper et al., 2023; Santoro, Izzo, 2024).

Оптимальное сочетание электростатических и гидрофобных взаимодействий поликатиона с мембраной клетки, а также с другими полимерами или лекарственными препаратами при формировании нанокомплексов для транспортировки последних к месту доставки (клеткам-мишеням) является необходимым условием для использования полимерных соединений в медицинской практике.

Гепарин – это эндогенное соединение, которое образуется у человека и млекопитающих в тучных клетках различных органов (Rabenstein, 2002). Гепарин оказывает антикоагулянтное (антитромботическое) действие посредством прямого связывания с компонентами системы свертывания крови (Jeswani, et al., 2015). Используется гепарин для профилактики и терапии различных тромбоэмболических заболеваний, при оперативных вмешательствах для предотвращения тромбообразования, а также для поддержания гипокоагулирующего состояния крови в аппаратах искусственного кровообращения и аппаратуре для гемодиализа (Машковский, 2000; Hirsh et al., 2001; Орлов, 2008). Кроме противосвертывающей активности гепарин, как установлено, обладает противовоспалительным, противовирусным и противоопухолевым действием (Sultana, Kamihira, 2024).

Гепарин относится к классу сульфатированных гликозаминогликанов (Hirsh et al., 2001; Сомонова и др., 2014) и является полианионом. Поэтому молекулы гепарина, как в кровотоке, так и на поверхности клеток могут взаимодействовать не только с компонентами системы свертывания крови, но и другими макромолекулами, такими как ростовые факторы, цитокины, протеазы и эстеразы, липид-связывающие белки, мембрано-связанные белки, адгезивные молекулы и др. (Capila, Linhardt, 2002; Beurskens et al., 2020).

Кроме природных макромолекул гепарин может связываться прямо или через спейсеры с различными синтетическими соединениями, используемыми в качестве лекарственных препаратов или полимерных носителей (Kemp, Linhardt, 2010; Hogan et al., 2023; Sultana, Kamihira, 2024; Wang et al., 2025).

Известно, что основное ограничение для использования в медицинской практике катионных полимеров и полиэлектролитных комплексов (в состав которых входят поликатионы) связано с цито- и гемотоксичностью последних (Fisher et al., 2003; Moghimi et al., 2005; You et al., 2007; Monnery et al., 2017; Иванова и др., 2023, 2025). Сывороточный альбумин, как основной природный белок с дезинтоксикационной активностью, способен формировать комплексы не только с природными, но и синтетическими соединениями, включая полимерные макромолекулы (Ragi et al., 2005; Liu et al., 2012), уменьшая тем самым токсическое действие этих соединений на клетки крови (Иванова и др., 2025). Ввиду структурных особенностей гетерополисахарид гепарин можно рассматривать в качестве препарата, способного формировать полиэлектролитные комплексы и тем самым влиять на свойства катионных полимеров в отношении различных клеточных компонентов крови.

В представленной работе впервые исследована биологическая активность катионного сополимера 2-диметиламиноэтилметакрилата (ДМАЭМ) с йодистым N, N-диметил-N-этил-метакрилоилоксиэтиламмонием (ДМЭАЭМ) в отношении морфофункциональных параметров эритроцитов человека. ДМЭАЭМ содержит в качестве алкильного заместителя группу C_2H_5 у четвертичной аммонийной группы. Кроме того, впервые проанализирована активность антикоагулянта гепарина на индуцированные сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ изменения основных характеристик эритроцитов человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материалы. Использованный в работе катионный сополимер ДМАЭМ с ДМЭАЭМ (сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ) был синтезирован в филиале Петербургского института ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» — Институте высокомолекулярных соединений (Санкт-Петербург). Молекулярная масса сополимера составляла 47 000 Да. Сополимер содержал 24 мол. % звеньев ДМЭАЭМ.

Выделение эритроцитов. В работе использовали венозную кровь здоровых доноров. Кровь стабилизировали добавлением антикоагулянта (2 мМ EGTA; Sigma, США). Эритроциты дважды промывали PBS (Sigma, США), pH 7.4 и ресуспендировали в том же буфере для получения суспензии эритроцитов (гематокрит 2.3%). Количество эритроцитов контролировали с помощью гематологического анализатора Medonic-M20 (Boule Medical A. B., Швеция).

Гемолиз эритроцитов. Гемолитическую активность сополимера оценивали по описанному ранее методу (Иванова и др., 2025). Суспензию отмытых эритроцитов (гематокрит 2.3%) инкубировали с различными концентрациями сополимера (от 0.1 до 100 мкг/мл) или без сополимера в присутствии или отсутствии натриевой соли гепарина (НПО «Микрон», Москва, Россия) в концентрации от 1 до 20 ед./мл (с шагом увеличения дозы

гепарина в 5 ед./мл) 30 мин при 37 °С. Молекулярный вес гепарина колеблется в пределах 12 000—16 000 Да. Степень гемолиза оценивали по величине выделившегося гемоглобина в среду инкубации. Количество выделенного гемоглобина оценивали по оптической плотности, которую измеряли при длине волны 540 нм, используя мультимодальный планшетный ридер Clariostar Plus (BMG Labtech, Германия). Полный лизис эритроцитов получали после добавления в суспензию эритроцитов 1%-ного раствора Тритона X-100 (Merck, Германия). Результаты выражали в процентах от содержания гемоглобина в эритроцитах после их полного лизиса.

Анализ морфологической трансформации эритроцитов. Для изучения действия сополимера и гепарина на морфологию эритроцитов использовали суспензию эритроцитов (гематокрит 2.3%), разведенную в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS, pH **7.**4, Sigma, США) в 20 раз. Отмытые эритроциты инкубировали в PBS с сополимером 30 мин при 37 °С в концентрации от 0.1 до 100 мкг/мл с добавлением или без добавления гепарина (НПО «Микрон», Москва, Россия) в концентрации от 1 до 20 ед./мл. Эритроциты, обработанные сополимером и/или гепарином, переносили в 96-луночный планшет и анализировали морфологию эритроцитов с помощью инвертированного микроскопа Nikon Eclipse TS2-FL (Nikon, Япония), оснащенного фотокамерой Retiga R1 (Cairn, Великобритания). В экспериментах использовали объективы с увеличением 20× и 40×.

Агрегация эритроцитов. Распределение эритроцитов и их объединений оценивали с помощью проточной цитометрии, используя цитометр CytoFLEX (Beckman Coulter, США). В каждом образце учитывали не менее 10 000 событий.

Суспензию эритроцитов в PBS (гематокрит 2.3%) инкубировали с сополимером в тех же концентрациях или без него с добавлением или без гепарина (НПО «Микрон», Москва, Россия) в концентрации от 1 до 20 ед./мл 30 мин при 37 °С. Затем инкубированную суспензию разводили в 30 раз. Полученные пробы анализировали на проточном цитометре, регистрируя комбинацию прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния клеточными элементами в пробе. Регистрация интенсивности прямого и бокового светорассеяния позволяет судить о размерах и степени гранулярности эритроцитов в пробе. Точечная диаграмма показывает плотность распределения имеющихся в пробе популяций эритроцитов и их агрегатов. Популяции агрегированных и не агрегированных эритроцитов выражали в процентах от общего числа зарегистрированных событий.

Статистическая обработка результатов. Результаты представлены в виде средних значений и их ошибок. Достоверность различий оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента для сравнения контрольных и экспериментальных групп. Различия считали достоверными при вероятности нулевой гипотезы $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как уже упоминалось, модификация химической структуры молекулы полиэлектролитов остается основным инструментом для создания катионных полимеров с заданными химическими характеристиками для использования в перспективе в медицинской практике.

Поликатион 2-диметиламиноэтилметакрилат (ПДМАЭМ) относится к линейным полимерам, содержащим третичные аминогруппы в боковой цепи (Stawski, 2023). Наличие аминогрупп определяет положительный заряд молекулы ПДМАЭМ, который обусловливает взаимодействие поликатиона с клеточной мембраной. Для увеличения гидрофобности поликатиона путем алкилирования по аминогруппам полимера вводятся алкильные заместители. В результате этого процесса третичные аминогруппы трансформируются в четвертичные аммонийные группы (Stawski, 2023; Teper et al., 2023; Santoro, Izzo, 2024). Химические характеристики алкильных радикалов у атома азота в молекуле поликатиона определяют вариабельность гидрофобных свойств у поликатионов.

Ранее нами установлено, что катионный сополимер ДМАЭМ с йодистым N, N-диметил-N-октилметакрилоилоксиэтиламмонием (ДМОАЭМ), содержащий в качестве алкильного заместителя у атома азота октиловый радикал, вызывает выраженный гемолиз и агрегацию эритроцитов человека (Иванова и др., 2025). Нас интересовал вопрос, в какой мере длина алкильного радикала в четвертичных аминогруппах будет влиять на гемосовместимость поликатиона. С этой целью проведен анализ влияния катионного сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на гемолиз и агрегацию эритроцитов человека. В качестве алкильного заместителя у атома азота в молекуле сополимера использовали C_2H_5 группу.

Внутрисосудистый гемолиз эритроцитов происходит как в нормальных условиях для удаления старых эритроцитов, так и при патофизиологических состояниях как следствие гипоксии, ацидоза и ускорения процессов накопления активных форм кислорода, которые активируют окисление липидов и белков (Орлов, 2008). Экзогенные и эндогенные токсины также увеличивают гемолитические процессы в сосудистом русле (Николаева и др., 2014; Jeswani et al., 2015).

Для характеристики гемосовместимости катионных полимеров проводят анализ гемолитической активности препарата, который определяет наличие или отсутствие повреждающего действия поликатиона на эритроцитарные мембраны.

Из данных, представленных на рис. 1, видно, что исследованный сополимер не влиял на лизис эритроцитов при концентрациях от 0.1 до 10 мкг/мл. Т.е. при использованных концентрациях сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ не проявлял гемолитической активности. В дозе 100 мкг/мл сополимер увеличивал гемолиз эритроцитов в 2 раза по сравнению с клетками, не обработанными сополимером. Однако при этих условиях степень лизиса эритроцитов не превышала 2.5%.

Согласно данным литературы, соединения, вызывающие гемолиз от 2 до 5%, обладают низкой (слабой) гемолитической активностью (Bauer et al., 2012). По мнению

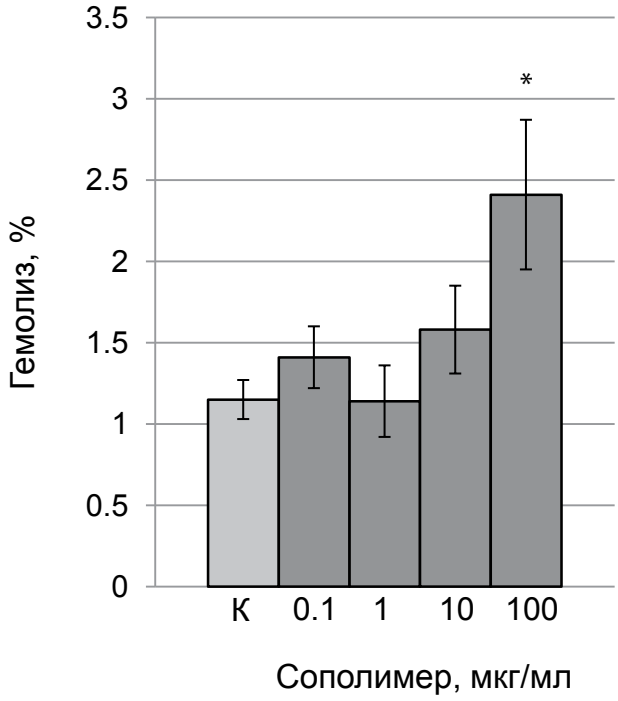


Рис. 1. Влияние сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на гемолиз эритроцитов человека. Отмытые эритроциты инкубировали с сополимером в концентрации от 0.1 до 100 мкг/мл 30 мин при 37 °С. Контролем служили эритроциты, не обработанные сополимером. Степень гемолиза оценивали по величине выделившегося гемоглобина в среду инкубации. Результаты представлены в процентах от содержания гемоглобина в клетках после их полного гемолиза. Показаны средние значения и их ошибки из 6 независимых измерений. (*) – отличия от контроля достоверны при $P < 0.001$

других исследователей, препараты считаются нетоксичными или малотоксичными, если они вызывают гемолиз эритроцитов в концентрации соответственно менее 5 или от 5 до 10 % (Włoch et al., 2022). Это означает, что влияние исследованного нами сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на гемолиз эритроцитов в дозе 100 мкг/мл оказалось незначительным (2.41 ± 0.46). Таким образом, катионный сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ можно отнести к группе поликатионов, не индуцирующих лизис эритроцитов человека даже при максимальной из использованных в экспериментах концентраций сополимера.

Ранее нами показано (Иванова и др., 2025), что катионный сополимер ДМАЭМ-ДМОАЭМ с октиловым радикалом, вызывает выраженный лизис эритроцитов человека (51.15 ± 1.10) в дозе 100 мкг/мл. Это означает, что обработка эритроцитов сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ с этиловым заместителем в четвертичной аминогруппе в дозе 100 мкг/мл уменьшает в 21.22 раза гемолитический эффект по сравнению с аналогичным действием октилированного сополимера. В дозе 10 мкг/мл этилированный сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ не вызывал лизис эритроцитов, при этом степень гемолиза эритроцитов была на уровне контрольных значений (рис. 1). По сравнению с гемолитической активностью октилированного сополимера ДМАЭМ-ДМОАЭМ при обработке эритроцитов человека в дозе 10 мкг/мл (14.76 ± 1.23) (Иванова и др., 2025) введение C_2H_5-группы в третичную аминогруппу ПДМАЭМ приводит к 9-кратному падению гемолитического эффекта сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ.

В настоящее время известные данные о гемотоксичности поликатионных макромолекул разрозненны и достаточно противоречивы, что может быть связано с различным строением изученных поликатионов и различным происхождением эритроцитов, использованных в исследованиях, а также условиями определения гемолитической активности исследованных поликатионов. Так, линейный поликатион поли-L-лизин вызывал 10 %-ный гемолиз эритроцитов крысы (Fischer et al., 2003) и 5 %-ный гемолиз эритроцитов человека (Moreau et al., 2002). Разветвленный поликатион полиэтиленимин (ПЭИ) индуцировал 9 %-ный лизис эритроцитов крысы (Fischer et al., 2003). Катионный полимер ПДМАЭМ по данным разных исследователей по-разному влиял на гемолиз эритроцитов. А именно: ПДМАЭМ практически не влиял на лизис эритроцитов барана (Phillips et al., 2017) и человека (Moreau et al., 2002; Cerda-Cristerna et al., 2011). Вместе с тем имеются факты о значительном гемолитическом эффекте поликатиона ПДМАЭМ в отношении эритроцитов человека (в пределах 28 %) (Иванова и др., 2023). По данным Моро (Moreau et al., 2000) частично кватернизованный полимер поли-тио-2диэтиламинометилэтилен (Q-ПТДАЭ), содержащий третичные и четвертичные аминогруппы, индуцировал заметный (25 %-ный) гемолиз эритроцитов человека. Катионный сополимер ДМАЭМ-ДМОАЭМ с третичными и четвертичными аминогруппами вызывал 51 %-ный гемолиз эритроцитов человека (Иванова и др., 2025). Вместе с тем амфифильный блок-сополимер, в состав которого входят кватернизованный ДМАЭМ, гидрофобный блок бутилметакрилата и блок метакрилата, содержащий D-глюкозамин, не влиял на гемолиз эритроцитов человека (Alvarez-Paino et al., 2014).

Агрегация эритроцитов, увеличивая вязкость крови, может вызывать нарушение микроциркуляции и стимулировать в сосудах застойные явления, приводящие к активации процессов тромбообразования (Соколова, 2010; Bascurt, Meiselman, 2013; Wagner et al., 2013).

Способность эритроцитов агрегировать зависит не только от генетических характеристик эритроцитов, но и от внешнего воздействия различных химических соединений, включая полимерные макромолекулы. Агрегацию эритроцитов можно рассматривать в качестве индикатора степени взаимодействия и совместимости катионных полимеров с эритроцитами.

Нами проведен анализ с использованием метода проточной цитометрии о влиянии сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на распределение эритроцитов человека (рис. 2) и их агрегацию (рис. 3). Гейтированные области на точечных диаграммах (рис. 2) соответствуют

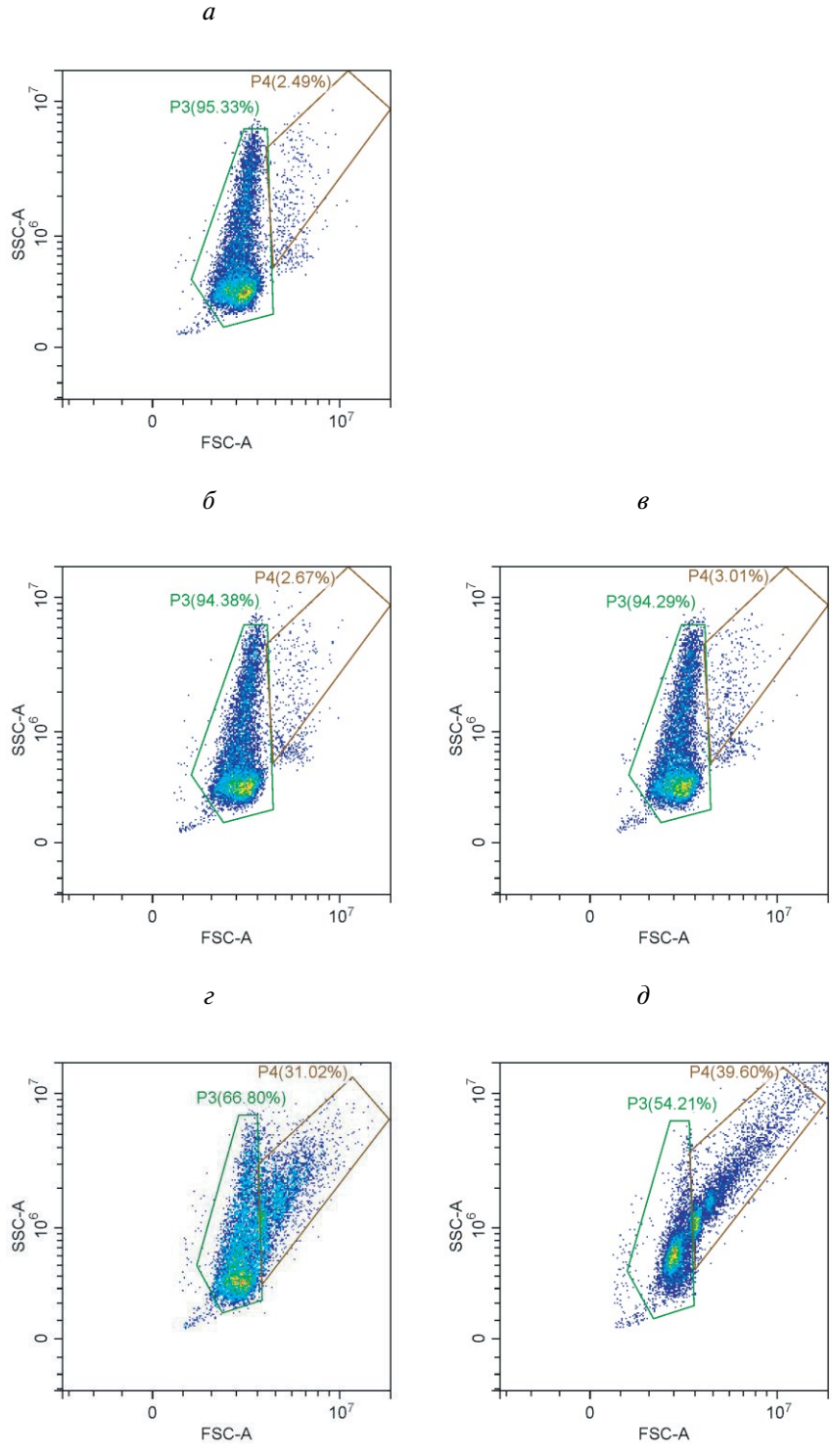


Рис. 2. Распределение популяций эритроцитов в суспензии в присутствии или отсутствии (контроль) сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ. Клетки инкубировали 30 мин при 37 °С. Данные проточной цитометрии (цитометр CytoFLEX (Beckman Coulter, США)). FSC-A – прямое, SSC-A – боковое светорассеяние. *а* — Контроль, *б–д* – эритроциты, обработанные сополимером в концентрации 0.1 (*б*), 1 (*в*), 10 (*г*) и 100 (*д*) мкг/мл. Представлены типичные точечные диаграммы (одного из 10 независимых экспериментов). Левый гейт (зеленая рамка) характеризует распределение одиночных суспендированных клеток, правый гейт (коричневая рамка) – распределение агрегированных клеток. Популяция не агрегированных (P3) и агрегированных (P4) эритроцитов выражены в процентах от общего числа зарегистрированных событий

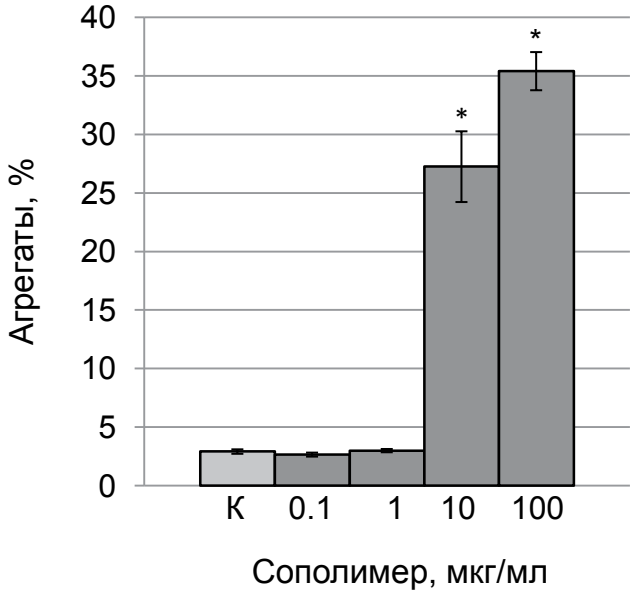


Рис. 3. Влияние сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на агрегацию эритроцитов человека. Клетки инкубировали 30 мин при 37 °С с сополимером в дозе от 0.1 до 100 мкг/мл. По данным проточной цитометрии (цитометр CytoFLEX (Beckman Coulter, США)). Количество агрегированных эритроцитов выражено в процентах от общего числа зарегистрированных событий. Данные показаны в виде средних значений и их ошибок из 10 независимых измерений. (*) – отличия от контроля достоверны при $P < 0.001$

двум субпопуляциям эритроцитов: одиночным клеткам (левый гейт – зеленая рамка) и агрегированным эритроцитам (правый гейт – коричневая рамка. Сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ в дозах 0.1 и 1 мкг/мл не изменял параметры распределения эритроцитов в клеточной суспензии (рис. 2*б*, *в*). В тоже время добавление сополимера в суспензию эритроцитов в дозе 10 и 100 мкг/мл приводило к появлению субпопуляции агрегированных эритроцитов (правый гейт) (рис. 2*г*, *д*) за счет сокращения субпопуляции одиночных клеток в суспензии обработанных сополимером эритроцитов.

Согласно данным, представленным на рис. 2 и 3, сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ в концентрации 0.1 и 1 мкг/мл не вызывал агрегацию эритроцитов, в то же время увеличение концентрации сополимера до 10 и 100 мкг/мл в суспензии эритроцитов приводит к значительному агрегационному эффекту. Количество агрегированных клеток увеличивалось до 27.2 и 35.4 % ($P < 0.001$) при добавлении сополимера в суспензию эритроцитов соответственно в дозе 10 и 100 мкг/мл. Т.е. скорость агрегации эритроцитов возрастала соответственно в 9.3 (10 мкг/мл) и 12.1 (100 мкг/мл) раза по сравнению с эритроцитами, не обработанными сополимером (рис. 3). Если сравнивать с аналогичными данными, полученными ранее для сополимера ДМАЭМ-ДМОАЭМ, можно отметить, что интенсивность агрегации эритроцитов под действием сополимера с октиловым радикалом, увеличивалась в 16.8 (10 мкг/мл) и 13.9 (100 мкг/мл) раза (Иванова и др., 2025). Это означает, что сополимер с этиловым заместителем в дозе 10 мкг/мл оказывал меньший токсический эффект (в 1.8 раза), чем октилированный сополимер при приблизительно равном агрегационном эффекте обоих сополимеров в дозе 100 мкг/мл.

Результаты морфометрического анализа (рис. 4) подтверждают данные, полученные нами с помощью проточной цитометрии, о распределении одиночных и агрегированных эритроцитов в ходе изменения концентрации сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ в суспензии эритроцитов. Инкубация эритроцитов с сополимером в дозе 0.1 или 1 мкг/мл не приводила к агрегации эритроцитов. При этом в присутствии 0.1 мкг/мл сополимера эритроциты сохраняют дисковидную форму клеток, как и в контроле (рис. 4*а, б*). Обработка клеток сополимером в дозе 1 мкг/мл приводила к появлению в клеточной популяции эхиноцитов (рис. 4*в*). Дальнейшее увеличение концентрации сополимера в суспензии эритроцитов до 10 и 100 мкг/мл вызывало агрегацию эритроцитов (рис. 4*г, д*). При этом в концентрации сополимера 10 мкг/мл формировались мелкие агрегаты с преобладанием рулексной формы агрегатов. В то же время при максимальной из использованных концентраций сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ усиливал агрегационные процессы (рис. 4*д*). В указанных условиях формировались крупные агрегаты нерегулярной формы.

Полученные нами данные об индукции агрегации эритроцитов, вызванной обработкой клеток катионным сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ (в дозах 10 и 100 мкг/мл), не противоречат результатам других исследователей о влиянии полимеров на процесс агрегации эритроцитов. Согласно данным из литературы (Dekie et al., 2000; Moreau et al., 2002) линейные поликатионные макромолекулы различного строения, такие как поли-L-лизин и ПДМАЭМ вызывают сильную агрегацию эритроцитов человека. Агрегацию эритроцитов также вызывал поликатион ПЭИ (Thomas et al., 2010; Shelma, Sharma, 2011). Кватернизованные поликатионы также активируют агрегационные процессы у эритроцитов человека. Например, сополимеры Q-ПТДАЭ и ДМАЭМ-ДМОАЭМ индуцировали агрегацию эритроцитов человека (Moreau et al., 2002; Иванова и др., 2025). Известно, что агрегация эритроцитов в присутствии поликатионов обусловлена, прежде всего, нейтрализацией (снижением) отрицательного заряда на поверхности мембран эритроцитов после адсорбции положительно заряженных молекул поликатионов, что приводит к слипанию/объединению эритроцитов. Предполагается, что молекулы поликатионов выступают в роли соединений, обеспечивающих связывание/объединение соседних эритроцитов (Соколова, 2010; Bascurt, Meiselman, 2013).

При комплексном подходе к лечению больных чаще всего применяют методы системной диагностики и терапии с использованием препаратов, включая биополимеры,

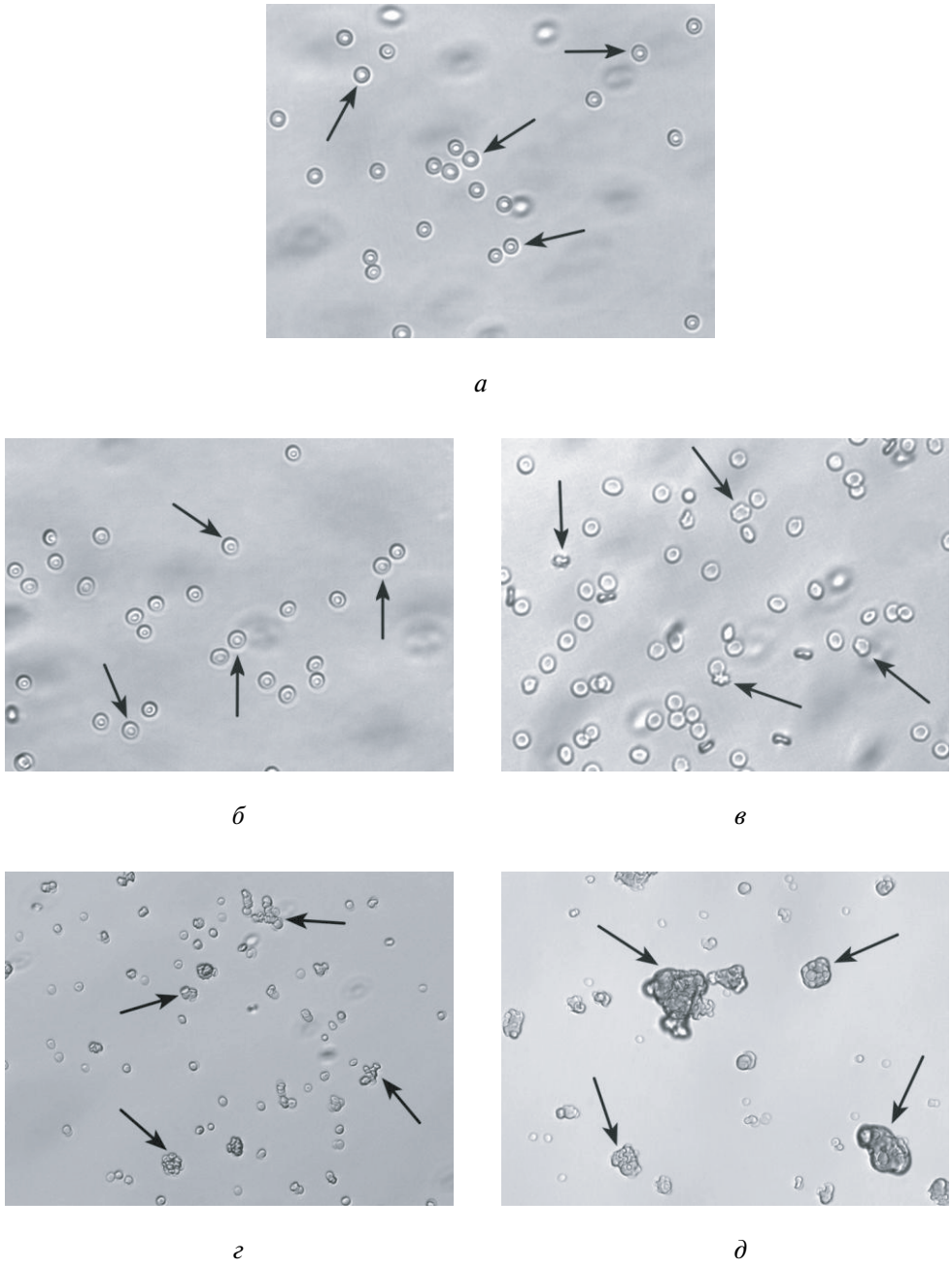


Рис. 4. Влияние сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на морфологию эритроцитов человека. *а* — Эритроциты, необработанные сополимером (контроль), *б–д* – эритроциты, обработанные сополимером в концентрации 0.1 (*б*), 1 (*в*), 10 (*г*) и 100 (*д*) мкг/мл. Клетки инкубировали с сополимером 30 мин при 37 ˚С. Форму эритроцитов оценивали после разбавления суспензии эритроцитов в 20 раз, используя микроскоп Nikon Eclipse TS2-FL (Япония) и объектив 20× (*г, д*) или 40× (*а-в*). Стрелками указаны дискоциты (*а*), эхиноциты (*б, в*), агрегаты эритроцитов (*г, д*)

в качестве кровезаменителей, полимерных носителей для адресной доставки стволовых и др. типов клеток, лекарственных препаратов, ростовых факторов, пептидных соединений и др. (Samal et al., 2012). Попадая в кровоток, биополимеры могут взаимодействовать практически с любыми клеточными и неклеточными компонентами крови, включая белки/полипептиды, полисахариды, липидные соединения, жирные кислоты и др. (Liu et al., 2012).

Одним из широко используемых клинических антикоагулянтов в терапии венозных тромбозов

и тромбоэмболий артерий и вен, а также хирургических вмешательствах для предотвращения послеоперационного тромбообразования является гепарин. Гепарин относится к классу сульфатированных гликозаминогликанов (Hirsh et al., 2001; Rabenstein, 2002; Сомонова и др., 2014). Это линейный полисахарид, состоящий из повторяющихся дисахаридных единиц (уроновой кислоты и D-глюкозамина). В состав гепарина, как правило, входит 90% L-идуроновой кислоты и 10% D-глюкуроновой кислоты (Rabenstein, 2002; Щербак, 2005; Beurskens et al., 2020).

Как уже отмечалось, гепарин является полианионом. Суммарный отрицательный заряд гепарина составляет −75 (Rabenstein, 2002). Поэтому молекулы гепарина как в кровотоке, так и на поверхности клеток могут взаимодействовать с различными белковыми соединениями (Capila, Linhardt, 2002; Beurskens et al., 2020). В структуре многих белков выявлены гепарин-связывающие сайты, которые представляют собой кластеры положительно заряженных аминокислотных остатков (в основном Lys и Arg), с которыми и взаимодействуют отрицательно заряженные молекулы гепарина (Rabenstein, 2002).

Раствор гепарина в клинических условиях вводится больным внутривенно или подкожно (Машковский, 2000). Средняя молекулярная масса коммерческого гепарина колеблется от 12000 до 16000 Да, что соответствует около 20 дисахаридным единицам на цепь полисахарида. Структурные вариации молекулы гепарина обеспечивают гетерогенность распределения отрицательного заряда вдоль цепи полисахарида. Подобная гетерогенность позволяет молекулам гепарина взаимодействовать с различными по свойствам белками, изменяя их активность. Попадая в кровоток, гепарин может не только взаимодействовать с нативными белками, циркулирующими в плазме крови, или мембраносвязанными белками клеток, но и формировать комплексы с соединениями искусственного происхождения, такими как фармакологические препараты или полимерные материалы (Kemp, Linhardt, 2010; Hogan et al., 2023; Sultana, Kamihira, 2024; Wang et al., 2025).

Учитывая вышеизложенное, нами был проведен анализ влияния гепарина на гемосовместимость катионного сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ, а именно: на лизис и агрегацию эритроцитов человека, вызванные сополимером. В экспериментах использовали дозы гепарина 1, 5, 10, 15 и 20 ед./мл. Сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ и гепарин вносили в суспензию эритроцитов одновременно, после чего клетки выдерживали 30 мин при 37 °C.

Установлено, что увеличение дозы гепарина от 1 до 20 ед./мл в инкубационной среде, содержащей сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ соответственно в концентрации 0.1, 1, 10 и 100 мкг/мл, практически не изменяет показатели гемолиза по сравнению с клетками, обработанными только сополимером в тех же концентрациях (рис. 5). При этом степень гемолиза во всех вариантах остается низкой. Другими словами, гепарин не оказывает влияния на лизис эритроцитов человека, обработанных сополимером при

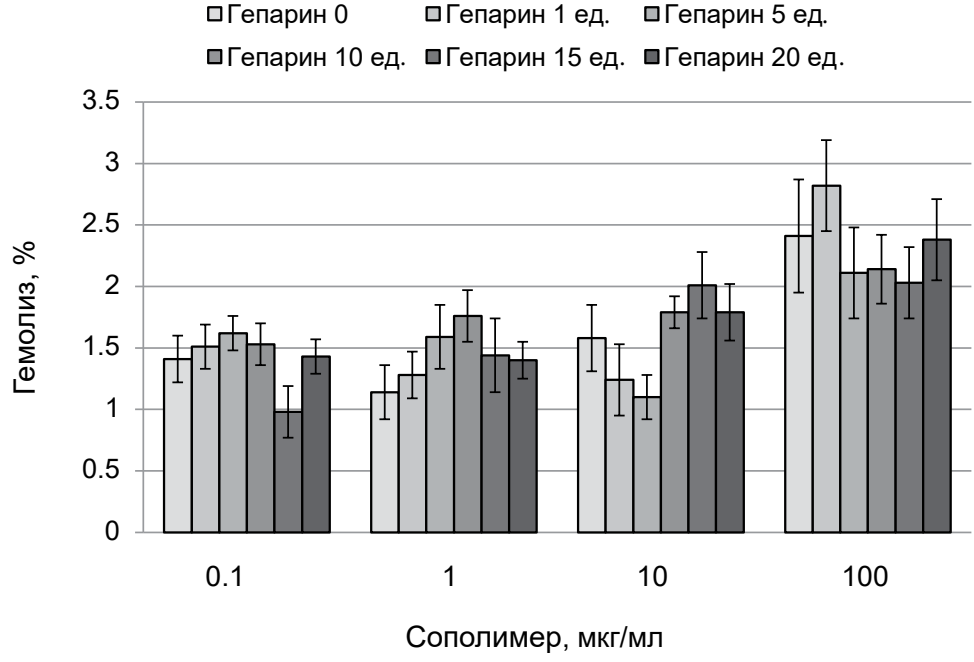


Рис. 5. Влияние гепарина на индуцированный сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ лизис эритроцитов человека. В суспензию эритроцитов одновременно вносили гепарин (от 1 до 20 ед./мл) и сополимер (от 1 до 100 мкг/мл) и инкубировали 30 мин при 37 °C. Степень гемолиза оценивали по количеству выделившегося гемоглобина в среду инкубации. Результаты представлены в процентах от содержания гемоглобина в клетках после их полного гемолиза. Показаны средние значения и их ошибки из 6 независимых измерений

соответствующих использованных концентрациях, т. е. гепарин не изменяет величину гемолиза эритроцитов после воздействия соответствующих доз сополимера.

Из данных, представленных на рис. 6 и в табл. 1, следует, что влияние гепарина на индуцированную сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ агрегацию эритроцитов человека зависело от использованной дозы, как гепарина, так и исследованного сополимера.

Показано, что гепарин в концентрации от 1 до 20 ед./мл не влиял на агрегацию эритроцитов при добавлении в суспензию эритроцитов исследованного сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ в концентрациях 0.1 и 1 мкг/мл (табл. 1). При этом количество агрегированных клеток в суспензии эритроцитов, обработанных одновременно сополимером и гепарином, не отличалось от такового для контрольных клеток, обработанных только сополимером (табл. 1). Влияние гепарина на индуцированную сополимером агрегацию эритроцитов в дозе 10 мкг/мл зависело от использованной концентрации гепарина (табл. 1 и рис. 6). Только при одной концентрации гепарина (1 ед./мл) сохранялась остаточная агрегация эритроцитов человека. При этом количество агрегированных клеток сокращалось в 3 раза по сравнению с этим же показателем для эритроцитов, обработанных только сополимером. Дальнейшее увеличение концентрации гепарина от 5 до 20 ед./мл в суспензии эритроцитов в присутствии сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ в дозе 10 мкг/мл вызывало устранение субпопуляции агрегированных эритроцитов (правый гейт) (рис. 6) и приводило к восстановлению количества одиночных клеток в суспензии эритроцитов до уровня контрольных значений.

Интересные данные получены нами при одновременной обработке эритроцитов гепарином и сополимером в дозе 100 мкг/мл (табл. 1 и рис. 6). Показано, что гепарин в дозе 1 ед./мл не изменял количество агрегированных эритроцитов, если сравнивать с клетками, обработанными только поликатионом. В дозе 5 и 10 ед./мл гепарин способствовал проявлению более сильного агрегационного эффекта в присутствии 100 мкг/мл сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ соответственно в 1.37 и 1.25 раза по сравнению с эритроцитами, обработанными сополимером. Только при концентрации гепарина 15 ед./мл отмечено сокращение субпопуляции агрегированных клеток (рис. 6, правый гейт) в 2.59 раза (табл. 1) по сравнению с эритроцитами, обработанными только сополимером. Наконец, полное устранение агрегации эритроцитов под влиянием сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ (в дозе 100 мкг/мл) выявлено при внесении в суспензию эритроцитов гепарина в концентрации 20 ед./мл. При этом происходит количественное восстановление субпопуляции одиночных клеток (рис. 6, левый гейт) до контрольных значений.

Представленные выше результаты, полученные с помощью проточной цитометрии, подтверждаются морфометрическим анализом изменения формы эритроцитов при совместной обработке суспензии эритроцитов гепарином и сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ (рис. 7).

Таблица 1. Влияние гепарина на интенсивность агрегации эритроцитов человека, вызванной сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ

Концентрация сополимера, мкг/мл	Количество агрегированных клеток, %					
	без гепарина	1 ед./мл гепарина	5 ед./мл гепарина	10 ед./мл гепарина	15 ед./мл гепарина	20 ед./мл гепарина
0 (контроль)	2.91 ± 0.19	2.99 ± 0.17	3.05 ± 0.15	3.03 ± 0.21	3.02 ± 0.14	2.91 ± 0.16
0.1	2.65 ± 0.17	2.75 ± 0.15	2.86 ± 0.21	2.91 ± 0.15	2.95 ± 0.19	2.77 ± 0.13
1	2.99 ± 0.14	2.71 ± 0.13	2.95 ± 0.15	2.97 ± 0.17	2.92 ± 0.12	2.73 ± 0.17
10	27.25* ± 3.02	8.82** ± 2.11	2.98 ± 0.19	3.00 ± 0.18	2.73 ± 0.14	3.10 ± 0.23
100	35.41* ± 1.63	37.08* ± 1.45	48.60* ± 1.35	44.44* ± 2.12	13.63* ± 2.58	3.01 ± 0.16

Примечание. Суспензию эритроцитов инкубировали с добавлением сополимера (от 0.1 до 100 мкг/мл) и гепарина (от 1 до 20 ед./мл) 30 мин при 37 °C. Контролем служили клетки, инкубированные в соответствующем буфере без добавления сополимера. Анализ распределения популяций эритроцитов в суспензии эритроцитов проводили на цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США) (см. Материал и методика). Количество агрегированных эритроцитов выражали в %-ном соотношении от общего числа зарегистрированных событий. Данные показаны в виде средних значений и их ошибок из 10 независимых измерений. Отличия от контроля достоверны при $P < 0.001$(*) и $P < 0.05$ (**).

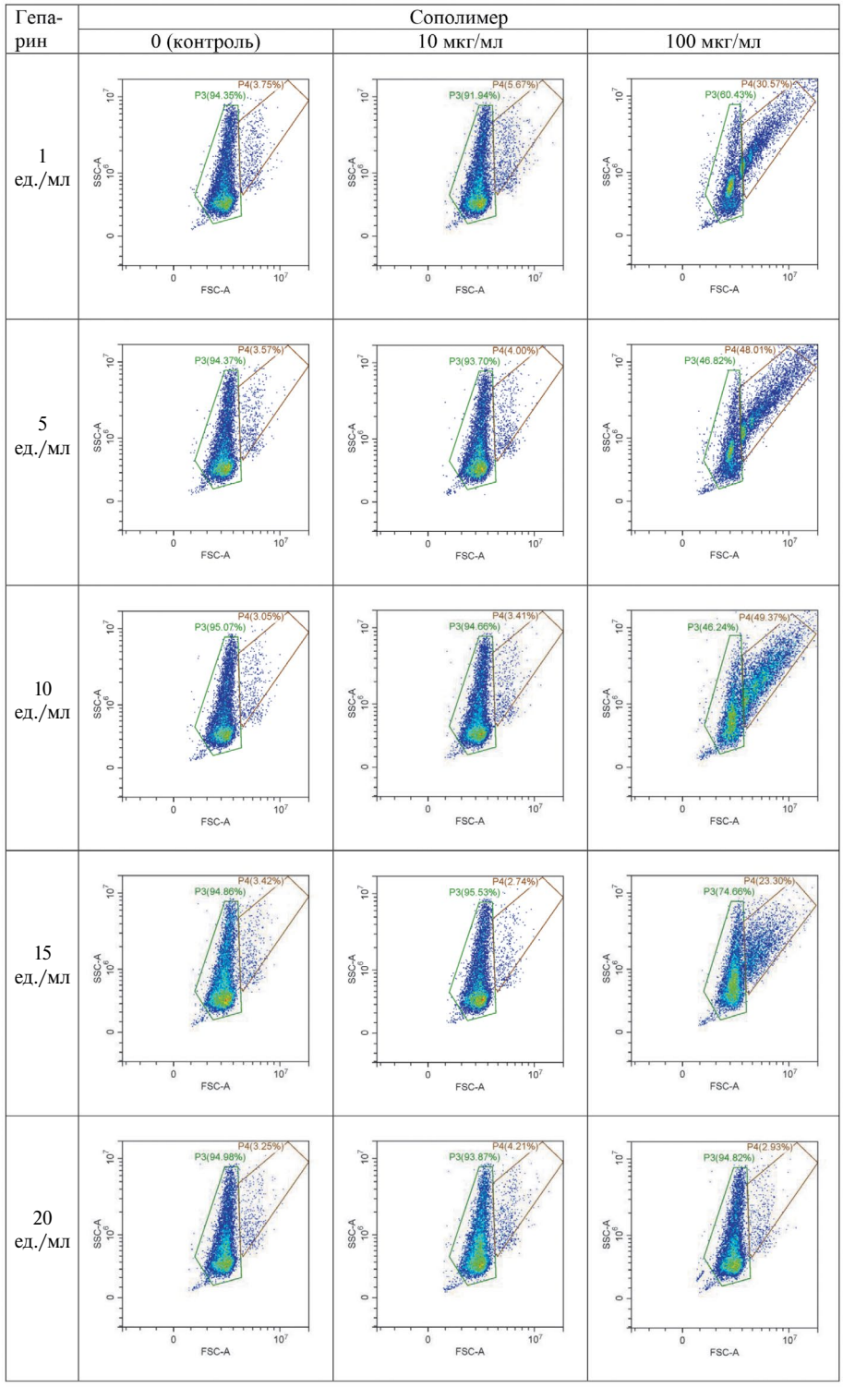


Рис. 6. Распределение популяций эритроцитов в суспензии после совместной обработки клеток гепарином (от 1 до 20 ед./мл) и сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ (от 1 до 100 мкг/мл) 30 мин при 37 °С. Точечные диаграммы проточной цитометрии. FSC-A – прямое, SSC-A – боковое светорассеяние. Контролем служили клетки, обработанные только гепарином. Левый гейт (зеленая рамка) соответствует популяции одиночных суспендированных клеток, правый гейт (коричневая рамка) – популяции агрегированных клеток. Представлены типичные точечные диаграммы (одного из 10 независимых экспериментов). Популяции не агрегированных и агрегированных эритроцитов выражены в процентах от общего числа зарегистрированных событий

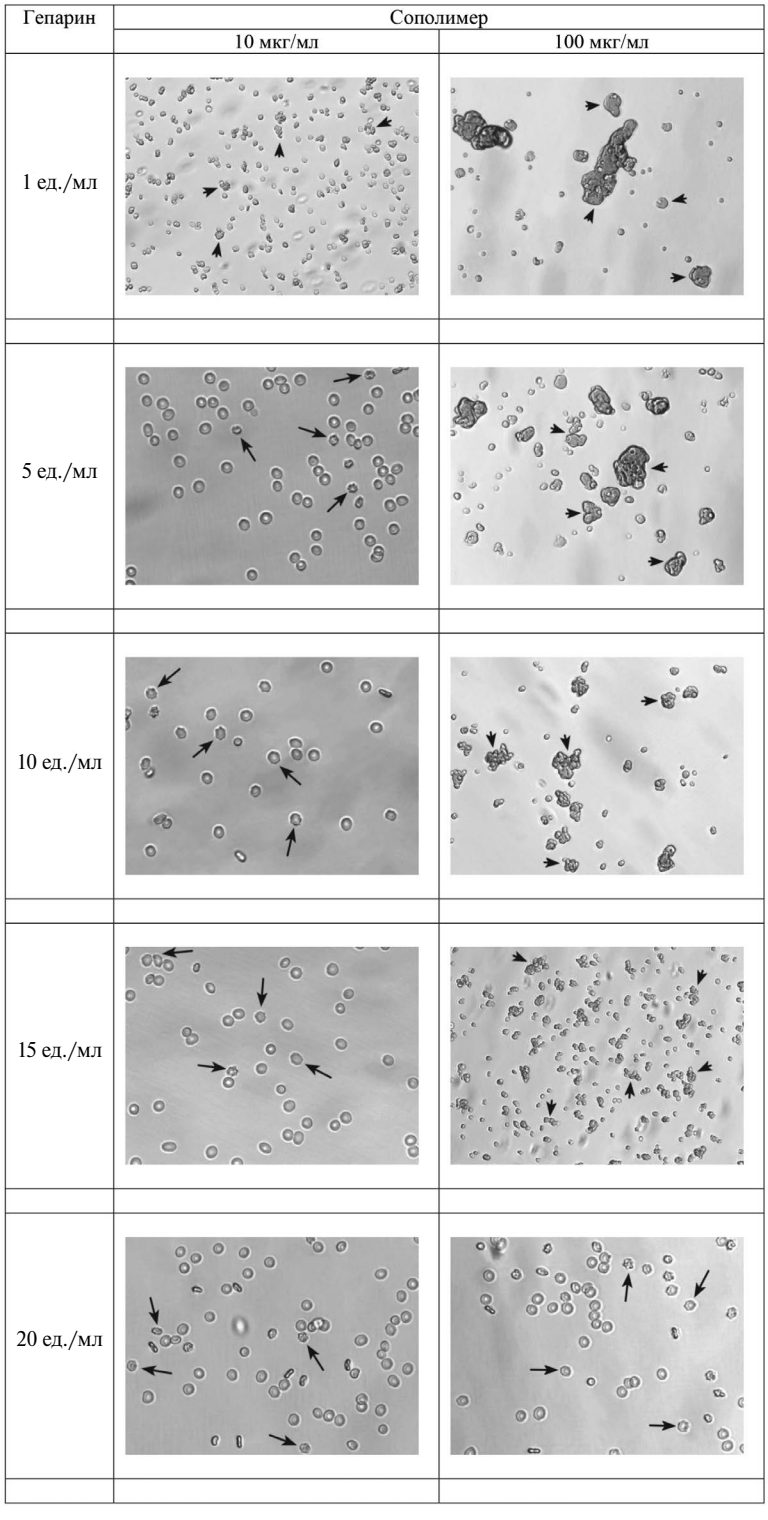


Рис. 7. Морфологическая трансформация эритроцитов человека, подвергнутых совместной обработке гепарином (от 1 до 20 ед./мл) и сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ (от 1 до 100 мкг/мл) в течение 30 мин при 37 °С. Форму эритроцитов оценивали после разбавления суспензии эритроцитов в 20 раз, используя микроскоп Nikon Eclipse TS2-FL (Япония). Использовались объективы 40× для проб, обработанных сополимером в дозе 10 мкг/мл (совместно с гепарином в дозе от 5 до 20 ед./мл) и в дозе 100 мкг/мл (совместно с гепарином в дозе 20 ед./мл) и 20× — для проб, обработанных сополимером в дозе 10 мкг/мл (совместно с гепарином в дозе 1 ед./мл) и в дозе 100 мкг/мл (совместно с гепарином в дозе от 1 до 15 ед./мл). Длинными стрелками указаны эхиноциты, короткими – агрегаты эритроцитов

Установлено, что в дозе сополимера 10 мкг/мл только при одной концентрации гепарина 1 ед./мл сохраняется агрегационный процесс. При этом происходит образование мелких агрегатов с сохранением большого количества одиночных эритроцитов. В остальных дозах гепарин (от 5 до 20 ед./мл) снимал агрегацию эритроцитов, вызванную сополимером в концентрации 10 мкг/мл, при этом суспензия эритроцитов содержала, как дискоциты, так и эхиноциты (рис. 7). Добавление в суспензию эритроцитов одновременно гепарина в дозе от 1 до 10 ед./мл и сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ в концентрации 100 мкг/мл сохранялась агрегация эритроцитов, при этом наблюдалось образование крупных агрегатов нерегулярной формы (рис. 7). При увеличении дозы гепарина до 15 ед./мл в суспензии эритроцитов уменьшался агрегационный эффект, вызванный сополимером (100 мкг/мл). В указанных условиях отмечено образование мелких клеточных агрегатов, включая рулексные формы. Агрегационная способность эритроцитов под действием 100 мкг/мл сополимера полностью ингибировалась при обработке клеток гепарином в концентрации 20 ед./мл (рис. 7). В последнем случае в результате совместного действия гепарина и сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ суспензия эритроцитов содержала только одиночные клетки, как дискоциты, так и эхиноциты.

В результате проведенных исследований впервые показано, что гепарин в фармакологических дозах (от 5 до 20 ед./мл) (Betal, Setty, 2008) снимает агрегационный эффект сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ соответственно в дозе 10 или 100 мкг/мл, сохраняя инкубированные эритроциты в суспензионном состоянии. Важно отметить, что гепарин уже в концентрации 1 ед./мл, не относящейся к фармдозам, уменьшает в 3 раза агрегацию эритроцитов, индуцированную сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ в дозе 10 мкг/мл.

На основании полученных нами данных о влиянии сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на гемолиз и агрегацию эритроцитов человека можно предположить возможный способ воздействия сополимера на эритроцитарные мембраны. При первичном контакте сополимера с мембраной эритроцита происходит адсорбция сополимера на поверхности клетки за счет электростатического взаимодействия, сила которого определяется плотностью положительного заряда катионного полимера (Fischer et al., 2003). Образующийся полимерный слой на поверхности мембран соседних эритроцитов способствует их агрегации (рис. 4*г, д*). При этом в начальной фазе агрегации (рис. 4*г*) происходит контактное взаимодействие агрегированных клеток практически без изменения формы эритроцитов. Увеличение концентрации катионного сополимера приводит к тому, что слипающиеся эритроциты не только теряют дисковидную форму, но и соединяются друг с другом под разными углами. При этом степень уплотнения агрегированных клеток настолько велика, что невозможно определить отдельно взятую клетку (рис. 4*д*).

Наличие в молекуле сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ четвертичных аммонийных групп за счет введения алкильных цепей влияет на характер взаимодействия сополимера с клеточной поверхностью (Wilkosz et al., 2017). Исследованный нами сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ содержит в четвертичных аминогруппах короткие алкильные группы (C_2H_5), которые могут инкорпорироваться только в наружный слой бислоя клеточной мембраны, вызывая формирование спикул на поверхности у части эритроцитов. Это означает, что часть популяции эритроцитов под воздействием определенной концентрации сополимера принимает эхиноцитарную форму (рис. 4*в*).

Влияние гепарина на индуцированную сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ агрегацию эритроцитов зависело как от дозы гепарина, так и от дозы сополимера (рис. 7). Гепарин в дозе от 5 до 20 ед./мл полностью снимал агрегационный эффект сополимера (в концентрации 10 мкг/мл) и только в дозе 1 ед./мл наблюдалось частичное ингибирование процесса агрегации эритроцитов, вызванное сополимером. Противоположная картина наблюдалась при воздействии гепарина на индуцированный 100 мкг/мл сополимером агрегацию эритроцитов. При малых и средних дозах (от 1 до 10 ед./мл) гепарин не влиял на агрегацию эритроцитов, индуцированную сополимером, в дозе 15 ед./мл – отмечено замедление агрегационных процессов у клеток, и только в дозе 20 ед./мл гепарин полностью ингибировал агрегацию эритроцитов.

Можно предположить, что гепарин, являясь полианионом, может образовывать комплексы с молекулами катионного сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ за счет взаимодействия сульфатных и карбоксильных групп гепарина с аминогруппами сополимера. В результате уменьшения концентрации реактивных аминогрупп активность сополимера снижается, соответственно, уменьшается токсический эффект сополимера. Особенно четко этот эффект гепарина проявляется при совместном действии с сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ в дозе 10 мкг/мл. При достижении дозы сополимера 100 мкг/мл в инкубационной среде количество макромолекул гепарина (дозе от 1 до 10 ед./мл) недостаточно, чтобы предотвратить взаимодействие макромолекул сополимера с эритроцитами. Оставшееся количество молекул сополимера после комплексообразования гепарина с сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ достаточно, чтобы адсорбироваться на клеточной поверхности и вызвать агрегацию эритроцитов. Гепарин в дозе 20 ед./мл полностью блокировал агрегацию эритроцитов, индуцированную сополимером (100 мкг/мл), вероятно за счет образования полиэлектролитных комплексов между полианионом и сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключении необходимо подчеркнуть, что исследованный сополимер ДМАЭМ-ДМЭАЭМ практически не оказывал влияния на лизис эритроцитов человека. Одновременно катионный сополимер проявлял двойственный эффект на процесс агрегации эритроцитов: при низких дозах он не влиял на агрегацию клеток, а в дозах 10 и 100 мкг/мл индуцировал значительную агрегацию эритроцитов. Впервые показано, что известный антикоагулянт гепарин, характеризующийся полианионной структурой, дискретно действует на гемосовместимость катионного сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ. Оказалось, что гепарин не изменял степень гемолиза эритроцитов, после воздействия соответствующих концентраций сополимера, но влиял на агрегационные процессы эритроцитов, индуцированные сополимером ДМАЭМ-ДМЭАЭМ. При этом воздействие гепарина на агрегацию эритроцитов зависело от использованной дозы, как гепарина, так и исследованного сополимера. Гепарин в фармакологических дозах (от 5 до 20 ед./мл или 20 ед./мл) ингибировал агрегационный эффект сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ соответственно в дозе 10 мкг/мл или 100 мкг/мл. В указанных условиях происходит распад агрегатов эритроцитов и восстановление популяции одиночных эритроцитов, содержащей дисковидные и эхиноцитарные клеточные формы. Мембранотропное действие сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ на эритроциты, обусловленное высоким положительным зарядом сополимера, полностью или частично блокировалось гепарином, возможно, за счет образования полиэлектролитных комплексов. В результате этого процесса количество реактивных аминогрупп в молекулах сополимера ДМАЭМ-ДМЭАЭМ сокращается, что обусловливает снижение активности сополимера и, соответственно, уменьшение гемотоксичности катионного сополимера.

Суммируя вышесказанное, можно утверждать, что гепарин в фармакологических дозах может быть использован в качестве препарата для детоксикации или блокирования нежелательного токсического действия катионных полимеров in vivo. Однако необходим предварительный подбор не только приемлемых доз для поликатиона и гепарина, но и продолжительности циркуляции обоих препаратов в организме человека.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Иванова В. П., Алексеенко Л. Л., Назарова О. В., Миндукшев И. В.* 2023. Влияние синтетического поликатиона поли-2-диметиламиноэтилметакрилата на биологическую активность резидентных и нерезидентных клеток млекопитающих. Цитология. Т. 65. № 5. С. 447. (*Ivanova V. P., Alekseenko L. L., Nazarova O. V., Mindukshev I. V.* 2024. The influence of synthetic polycation poly-2-dimethylaminoethyl methacrylate on the biological activity of resident and nonresident cells of mammals. Cell Tiss. Biol. (Tsitologiya). V. 18. № 1. P. 89.)
https://doi.org/10.31857/S0041377123050115
2. *Иванова В. П., Назарова О. В., Золотова Ю. И.* 2025. Гемосовместимость кватернизованного поли-2-диметиламиноэтилметакрилата. Цитология. Т. 67. № 3. С. 182. (*Ivanova V. P., Nazarova O. V., Zolotova J. I.* 2025. Hemocompatibility of quaternized poly-N, N-dimethylaminoethyl methacrylate. Tsitologia. V. 67. № 3. P. 182.)
https://doi.org/10.31857/S0041377125030064
3. *Машковский М. Д.* 2000. Лекарственные средства. М.: Издательство Новая волна. Т. 1. 540 с. (*Mashkovsky M. D.* 2000. Medicines. M.: New Wave Publishing. V. 1. 540 p.)
4. *Николаева Л. Л., Оборотова Н. А., Санарова Е. В., Ланцова А. В., Бунятян Н. Д.* 2014. Причины возникновения и методы обнаружения гемолитической анемии, вызванной лекарственными препаратами. Росс. биотерапевт. журн. Т. 13. № 2. С. 35. (*Nikolaeva L. L., Oborotova N. A., Sanarova E. V., Lancova A. V., Bunyatyan N. D.* 2014. Reasons of occurrence and finding methods for drug-induced hemolytic anemia. Rus. J. Biotherapy. V. 13. № 2. P. 35.)
5. *Орлов Ю. П.* 2008. Внутрисосудистый гемолиз эритроцитов в развитии органных дисфункций при критических состояниях. Общая реаниматология. Т. IV. № 2. С. 88. (*Orlov Yu. P.* 2008. Intravascular hemolysis of red blood cells in the development of organ dysfunctions in critical conditions. General Reanimatology. V. 4. № 2. P. 88.)
6. *Сомонова О. В., Маджуга А. В., Елизарова А. Л.* 2014. Тромбозы и тромбоэмболии в онкологии. Современный взгляд на проблему. Журн. Злокачественные опухоли. Т. 3. № 10. С. 172. (*Somonova O. V., Madzhuga A. V., Elizarova A. L.* 2014. Thrombosis and thromboembolism in oncology. A modern view on the problem. J. Malignant Tumors. V. 3. № 10. P. 172.)

7. *Соколова И.А.* 2010. Агрегация эритроцитов. Регион. кровообращение и микроциркуляция. Т. 9. № 4. С. 4. (*Sokolova I.A.* 2010. Erythrocyte aggregation. Regional Blood Circ. Micrrcirc. (in Russ.) V. 9. № 4. P. 4) https://doi.org/10.24884/1682-6655-2010-9-4-4-26

8. *Щербак И.Г.* 2005. Биологическая химия. СПб: Изд-во СПбГМУ. 480 с. (*Scherbak I.G.* 2005. Biological chemistry. St. Petersburg: SPbSMU. 480 p.)

9. *Alvarez-Paino M., Muñoz-Bonilla A., López-Fabal F., Gómez-Garcés J.L., Heuts J.P.A., Fernández-Garcia M.* 2014. Effect of glycounits on the antimicrobial properties and toxicity behavior of polymers based on quaternized DMAEMA. Biomacromol. V. 16. P. 295. https://doi.org/10.1021/bm5014876

10. *Baskurt O.K., Meiselman H.J.* 2013. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance. Clin. Hemorheol. Microcirc. V. 53. P. 23. https://doi.org/10.3233/CH-2012-1573

11. *Bauer M., Lautenschlaeger C., Kempe K., Tauhardt L., Schubert U.S., Fischer D.* 2012. Poly(2-ethyl-2-oxazoline) as alternative for stealth polymer poly(ethylene glycol): comparison of in vitro cytotoxicity and hemocompatibility. Macromol. Biosci. V. 12. P. 986. https://doi.org/10.1002/mabi.201200017

12. *Betal S.G., Setty B.N.Y.* 2008. Phosphatidylserine-positive erythrocytes bind to immobilized and soluble thrombospondin-1 via its heparin-binding domain. Transl. Res. V. 152. P. 165. https://doi.org/10.1016/j.trsl.2008.07.007

13. *Beurskens D.M.H., Huckriede J.P., Schrijver R., Hemker H.C., Reutelingsperger C.P., Nikolaes G.A.F.* 2020. The anticoagulant and nonanticoagulant properties of heparin. Thromb. Haemost. V. 120. P. 1371. https://doi.org/10.1055/s-0040-1715460

14. *Capila I., Linhardt R.J.* 2002. Heparin-protein interactions. Angew. Chem. Int. Ed. V. 41. P. 390. https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020201)41:3<390:aid-anie390>3.0.co;2-b

15. *Cerda-Cristerna B.I., Flores H., Pozos-Guillén A., Pérez E., Sevrin C., Grandfils C.* 2011. Hemocompatibility assessment of poly(2-dimethylamine ethylmethacrylate) (PDMAEMA)-based polymers. J. Control. Release. V. 153. P. 267. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.04.016

16. *Dekie L., Toncheva V., Dubruel P., Schacht E.H., Barrett L., Seymour L.W.* 2000. Poly-L-glutamic acid derivatives as vector for gene therapy. J. Control. Release. V. 65. P. 187. https://doi.org/10.1016/s0168-3659(99)00235-7

17. *Fischer D., Li Y., Ahlemeyer B., Krieglstein J., Kissel T.* 2003. In vitro cytotoxicity testing of polycations: influence of polymer structure on cell viability and hemolysis. Biomaterials. V. 24. P. 1121. https://doi.org/10.1016/s0142-9612(02)00445-3

18. *Hirsh J., Anand S.S., Halperin J.L., Fuster V.* 2001. Guide to anticoagulant therapy: heparin. A statement for healthcare professionals from American heart association. Circulation. V. 105. P. 2994. https://doi.org/10.1161/01.cir.103.24.2994

19. *Hogan K.J., Perez M.R., Mikos A.G.* 2023. Extracellular matrix component-derived nanoparticles for drug delivery and tissue engineering. J. Control. Release. V. 360. P. 888. https://doi.org/10.1016/j.jcontrel.2023.07.034

20. *Jeswani G., Alexander A., Saraf S., Saraf Sw., Qureshi A., Ajazuddin.* 2015. Recent approaches for reducing hemolytic activity of chemotherapeutic agents. J. Control. Release. V. 211. P. 10. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.06.001

21. *Kemp M.M., Linhardt R.J.* 2010. Heparin-based nanoparticles. WIREs Nanomat. Nanomed. Nanobiotechnol. V. 2. P. 77. https://doi.org/10.1002/wnan.68

22. *Liu Z., Jiao Y., Wang T., Zhang Y., Xue W.* 2012. Interactions between solubilized polymer molecules and blood components. J. Contol. Release. V. 160. P. 14. https://doi.org/10.1016/j.jcontrol.2012.02.005

23. *Moghimi S.M., Symonds P., Murray J.C., Hunter A.C., Debska G., Szewczyk A.* 2005. A two-stage poly(ethylenimine)-mediated cytotoxicity: implications for gene transfer/therapy. Mol. Therapy. V. 11. P. 990. https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2005.02.010

24. *Molotkovsky R. J., Galimzyanov T. R., Ermakov Y. A.* 2021. Heterogeneity in lateral distribution of polycations at the surface of lipid membranes: from the experimental data to the theoretical model. Materials. V. 14. Art. ID: 6623. https://doi.org/10.3390/ma14216623

25. *Monnery B. D., Wright M., Cavill R., Hoogenboom R., Shaunak S., Steinke J. H.G., Thanou M.* 2017. Cytotoxicity of polycations: relationship of molecular weight and the hydrolytic theory of the mechanism of toxicity. Int. J. Pharm. V. 521. P. 249. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.02.048

26. *Moreau E., Domurado M., Chapon P., Vert M., Domurado D.* 2002. Biocompatibility of polycations: In vitro agglutination and lysis of red blood cells and in vivo toxicity. J. Drug Target. V. 10. P. 161. https://doi.org/10.1080/10611860290016766

27. *Moreau E., Ferrari I., Drochon A., Chapon P., Vert M., Domurado D.* 2000. Interactions between red blood cells and a lethal, partly quarternized tertiary polyamine. J. Control. Release. V. 64. P. 115. https://doi.org/10.1016/s0168-3659(99)00128-5

28. *Phillips D. J., Harrison J., Richards S. J., Mitchell D. E., Tichauer E., Hubbard A. T. M., Guy C., Portman I. H., Fullam E., Gibson M. I.* 2017. Evaluation of the antimicrobial activity of cationic polymers against Mycobacteria: toward antitubercular macromolecules. Biomacromolecules. V. 18. P. 1592. https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b00210

29. *Rabenstein D. L.* 2002. Heparin and heparan sulfate: structure and function. Nat. Prod. Rep. V. 19. P. 312. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.07.034

30. *Ragi C., Sedaghat-Herati M. R., Ouameur A. A., Tajmir-Riahi H.A.* 2005. The effects of poly(ethylene glycol) on the solution structure of human serum albumin. Biopolymers. V. 78. P. 231. https://doi.org/10.1002/bip.20281

31. *Samal S. K., Dash M., Vlierberghe van S., Kaplan D. L., Chiellini E., Blitterswijk van C., Moroni L., Dubruel P.* 2012. Cationic polymers and their therapeutic potential. Chem. Soc. Rev. V. 41. P. 7147. https://doi.org/10.1039/c2cs35094g

32. *Santoro O., Izzo L.* 2024. Antimicrobial polymer surfaces containing quaternary ammonium centers (QACs): synthesis and mechanism of action. Int. J. Mol. Sci. V. 25. Art. ID: 7587. https://doi.org/10.3390/ijms25147587

33. *Shelma R., Sharma C. P.* 2011. Development of lauryl sulfated chitosan for enhancing hemocompatibility of chitosan. Colloids Surfaces B: Biointerfaces. V. 84. P. 561. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.02.018

34. *Stawski D.* 2023. Poly(N, N-dimethylaminoethyl methacrylate) as a bioactive polyelectrolyte — production and properties. R. Soc. Open Sci. V. 10. Art. ID: 230188. https://doi.org/10.1098/rsos.230188

35. *Sultana R., Kamihira M.* 2024. Multifaceted heparin: diverse applications beyond anticoagulant therapy. Pharmaceuticals. V. 17. Art. ID: 1362. https://doi.org/10.3390/ph17101362

36. *Teper P., Celny A., Kowalczuk A., Mendrek B.* 2023. Quaternized poly(N, N-dimethylaminoethyl methacrylate) star nanostructures in the solution and on the surface. Polymers. V. 15. Art. ID: 1260. https://doi.org/10.3390/polym15051260

37. *Thomas J. J., Rekha M. R., Sharma C. P.* 2010. Dextran-protamine polycaton: an efficient nonviral and haemocompatible gene delivery system. Coll. Surf. B: Biointerf. V. 81. P. 195. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.07.015

38. *Wagner C., Steffen P., Svetina S.* 2013. Aggregation of red blood cells: from rouleaux to clot formation. C. R. Phys. V. 14. P. 459. https://doi.org/10.1016/j.crhy.2013.04.004

39. *Wang J. F., Jan J. S., Hu J. J.* 2025. Heparin-based growth factor delivery platforms: a review. Pharmaceutics. V. 17. Art. ID: 1145. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17091145

40. *Wilkosz N., Jamróz D., Kopéc W., Nakai K., Yusa S., Wytrwal-Sarna M., Bednar J., Nowakowska M., Kepezynski M.* 2017. Effect of polycation structure on interaction with lipid membranes. J. Phys. Chem. B. V. 121. P. 7318. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.7b05248

41. *Włoch A., Strugala-Danak P., Pruchnik H., Krawczyk-Łebek A., Szczecka K., Janeczko T., Kostrzewa-Susłov E.* 2022. Interaction of 4-methylflavonoids with biological membranes, liposomes and human albumin. Sci. Rep. V. 11. Art. ID: 16003.
https://doi.org/10.1038/s41598-021-95430-8

42. *You Y.Z., Manickam D.S., Zhou Q.H., Oupicky D.* 2007. Reducible poly (2-dimethylaminoethyl methacrylate): synthesis, cytotoxicity, and gene delivery activity. J. Control. Release. V. 122. P. 217.
https://doi.org/10.1016/j.jcontrol.2007.04.020