



FISA METODA ADAPTATA DE DETERMINARE A CAPACITATII ANTI-TROMBOGENICE A NANOMATERIALELOR

Denumire metoda: Determinarea capacitatii anti-trombogenice a nanomaterialelor prin masurarea timpului de coagulare a plasmei sangvine *in vitro*

Scurta descriere: Nanomaterialele anorganice pot influenta procesul de coagulare sangvina prin interactia cu unul sau mai multi dintre factorii pro- sau anticoagulanti sau cu activitatea fibrinolitica. Aceste interactii pot conduce uneori la efecte antagonice. In cazul testelor *in vitro*, nanomaterialele testate pot genera interferente prin interactii nedorite cu reactivii folositi in test sau prin modificarea absorbantei optice a probei ca urmare a absorbtiei sau imprastierii luminii de catre nanoparticulele aflate in suspensie ori in urma dizolvarii acestora in mediul de reactie.

Nanomaterialul testat este suspendat in tampon fosfat salin (PBS) sau alt mediu de interes (maximum 1 mg/ml), concentratiile testate fiind alese in functie de doza terapeutica estimata. Se folosesc minim cinci concentratii diferite pentru fiecare nanomaterial testat. Suspensiile obtinute se amesteca cu plasma sangvina si se incubeaza la 37 °C timp de 30 de minute. Particulele insolubile sunt separate prin centrifugare la sfarsitul perioadei de incubare, considerandu-se ca orice proteina implicata in procesul de coagulare adsorbita pe suprafata nanomaterialului va fi indepartata impreuna cu acesta. In cazul materialelor solubile nu se efectueaza centrifugare dupa incubare. Se folosesc probe-control specifice pentru stabilirea variatiilor timpilor de coagulare, stabilitatii plasmei pe perioada masuratorilor, prezentei artefactelor experimentale induse de interactii nanomaterial-reactivi sau efectelor asupra absorbantei optice.

Echipamente si materiale utilizate:

- Centrifuga cu sase tuburi rotatie variabila 1000-400rpm
- Tuburi probe centrifugare
- Pipete cu volum 0.5-10ml
- Baie de apa termostata
- Coagulometrul PABER cu 2 sau 4 canale si reactivi (sânge uman din cel puțin trei donatori, anti-coagulat cu citrat de sodiu, trombina, PTTA, heparina)

Principale caracteristici: Se evidentiaza prin aceasta metoda, actiunea diferitelor concentratii ale solutiei tampon asupra timpilor de coagulare masurati dupa interactiunea plasmei cu nanoparticulele mentionate. Se va masura cu coagulometrul parametrul aPTT la esantioanele de plasma incubate cu nanomaterialul.

Informatia dobandita: Modificarea timpilor de coagulare a plasmei în probele de plasmă expuse la nanoparticule sugereaza ca testul cu particule, fie exacerbeaza sau inhiba factorii de coagulare. Prin aceasta procedura se vor obtine informatii privind influenta nanomaterialelor asupra coagularii. Se va evalua efectul antitrombogenic al suprafetei unor materiale care pot fi utilizate pentru realizarea unor dispozitive intravasculare cu posibila estimare a efectelor adverse la folosirea in vivo sau clinica.