

свидетельствует о большой роли лабораторных работ (на лабораторных макетах либо в виде компьютерных моделирующих программ) в процессе обучения студентов. Самостоятельное проведение опытов, исследований студентами позволяет им лучше усвоить материал лекций, практически оценить важность изучаемых вопросов, а также развивает творческий подход к обобщению и анализу полученных результатов. Нельзя не отметить и общую педагогическую ценность такого вида занятий. Так как зачастую студенты работают бригадами, то подобная их деятельность вырабатывает навыки работы с людьми, позволяет проявить инициативу даже при работе командой.

**Список литературы:** 1. *Мелецінек А.* Інженерна педагогіка. Практика передачі технічних знань: Пер. с англ. – Харків, 2003. – 240с. 2. *Haug A.*: Labordidaktik in der Ingenieurausbildung. VDE-Verlag Berlin, 1980.

*Поступила в редколлегию 20.11.06г.*

УДК 612.111.11

**РОЗАНОВА Е.Д.**, канд. биол. наук, **ТИМЧЕНКО Н.Н.**, канд. биол. наук.

## **ВОЗМОЖНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ФЕТАЛЬНОГО ГЕМОГЛОБИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ И МЕДИЦИНЕ**

Розглядаються можливості застосування фетального гемоглобіну в експериментальних дослідженнях та клінічній практиці. В багатьох країнах ведуться розробки кровозамінників, дія яких направлена на часткове або повне заміщення функцій крові, які порушені внаслідок масової крововтрати, травми, отруєння та іншого екстремального впливу.

В связи с имеющимся предположением, что увеличенное содержание HbF при патологических состояниях является компенсаторной реакцией организма, в клинической практике и экспериментальных исследованиях предпринимаются попытки использования особых кислородсвязывающих свойств (и, вероятно, не только их) фетального гемоглобина. Так, в работе [1] отмечается, что высокие уровни HbF при серповидноклеточных повреждениях плодотворно влияют на состояние больных, что наблюдается в клинической практике. Также говорится, что стало возможным предотвращение всех осложнений серповидноклеточных анемий с помощью многочисленных терапевтических агентов, подходящих для индукции HbF (5-азоцитидин, гидроксимочевина, бутираты) и использование комбинационной терапии для увеличения уровней HbF. Также в работе [1] отмечается, что полезными при гемоглобинопатиях могут быть натрия фенилацетат и его прекурсор натрий- 4-фенилбутират-агенты, индуцирующие HbF .

Представлены результаты экспериментов на 19 беспородных собаках, которым кровопотерю моделировали по Уиггерсу, а возмещали ее взвесью фетальных эритроцитов или взвесью эритроцитов донорской крови взрослого человека [2]. Показано, что инфузия взвеси фетальных эритроцитов в условиях постгеморрагической гипотензии на уровне 40 мм рт. ст. сопровождалась более выраженной нормализацией показателей кислотно-щелочного состояния, напряжения кислорода в мышце, гемодинамики и дыхания по сравнению с

инфузией взвеси эритроцитов донорской крови взрослого человека, а возмещение кровопотери, проводимой в менее жестких условиях на уровне гипотонии 60 мм рт. ст., не выявило различий в постинфузионном эффекте с применением различных эритроцитов в эксперименте и клинике. В эксперименте использована была модель геморрагического шока, как модель прогрессирующего типа циркуляторной гипоксии с неспособностью клеток жизненно важных органов усваивать кислород. Заранее авторами [2] предполагалось, что НбF может быть эффективным в ликвидации вторичной метаболической тканевой гипоксии, ведущей к невыживаемости подопытных животных даже в условиях самой активной трансфузионной терапии. Опыты на собаках, которым на фоне длительной гипотензии вводили кровезаменитель АН-2Ф, полученный на основе НбF, показали, что восполнение по объему 2/3 кровопотери приводит к стабильной нормализации артериального давления, повышению напряжения кислорода в мышцах и увеличению оксигенации крови до 96% при артериальном давлении 70 мм рт. ст. Выживаемость подопытных животных составляла 90% при 60% в контрольных опытах. В дальнейшем во время Эльбрусской экспедиции были поставлены опыты на взрослых и старых кроликах с кровопотерей (30 мл на 1кг массы тела), моделируемой в горах на высотах 2200 и 3450м над уровнем моря. Контрольные опыты проведены с использованием кровезаменителя, полученного на основе НбА. Как взрослые, так и старые животные после введения кровезаменителя АН-2Ф выжили. У них выявлена компенсаторная реакция костного мозга на кровопотерю. Все четыре контрольных кролика не выжили в первые сутки после кровопотери. Эффективность концентрированного препарата НбF была проверена на кроликах и в условиях барокамеры: введение препарата НбF повышало выживаемость взрослых кроликов при условиях, соответствующих 12000м над уровнем моря. Контрольная группа кроликов не выжила при условиях, соответствующих высоте 10000-11000 м над уровнем моря на 10-13-й минуте. Была также изучена выживаемость белых крыс под влиянием окиси углерода. Одной группе крыс перед началом опыта был введен внутривенно или внутрибрюшинно препарат АН-2Ф. Контрольной группе животных не вводили никаких препаратов, реакция на СО происходила на 30-35 секунде, на 3-4-й минуте животные не выживали. Животные, которым перед затравкой был введен препарат АН-2Ф, реагировали на СО позже (на 1 минуте 10-й секунде). Не выживали животные на 6-й минуте. Три крысы из восьми после прекращения опыта выжили. Другой группе животных препарат с НбF вводили в момент остановки дыхания. У большинства из них через 50-90 секунд дыхание начинало восстанавливаться и приобретало ритмичный характер на 5-9-й минуте. На 12-27-й минуте животное принимало естественное положение. Из восьми животных выжило шесть. Аналогичные опыты проведены с НбА, который вводили перед и после затравки. Клиника воздействия СО была схожа с контрольной группой, животные на 4-й минуте не выживали. Авторы [3] применяли эритроцитарную массу пуповинной крови плода, содержащую 80% эритроцитов с фетальным гемоглобином, в комплексном лечении больных бронхиальной астмой. При этом выявили выраженный антигипоксический эффект эритроцитов плода у таких больных. Авторы [3] делают вывод, что стимуляция синтеза НбF, как и введение его повышает устойчивость животных к гипоксии, и высказывает предположение, что при разных видах гипоксии в условиях нарушенного кислотно-щелочного

равновесия появляется фактор, освобождающий подавленный участок ДНК, с которым связан синтез  $\gamma$ -цепи фетального гемоглобина на ранних стадиях онтогенеза, что, следовательно, приводит к появлению его в периферической крови взрослых особей.

Из вышеизложенного следует, что отмечается плодотворное влияние на состояние больных высоких уровней HbF при серповидноклеточных повреждениях. Введенный кровезаменитель АН-2Ф, полученный на основе HbF, животным на фоне длительной гипотензии, способствовал тому, что выживаемость подопытных составляла 90% при 60% в контрольных опытах. Опыты на животных по выживаемости под влиянием окиси углерода показали, что среди тех подопытных, которым вводили препарат АН-2Ф, некоторые выжили. В целом, можно отметить, что кровезаменитель АН-2Ф дает положительные результаты в экспериментах на подопытных животных.

Во многих странах ведутся разработки кровезаменителей, действие которых направлено на частичное или полное замещение функций крови, нарушенных в результате массовой кровопотери, травмы, отравления и других экстремальных воздействий [4]. В работе [5] отмечается, что возникающее в медицинской практике состояние острой анемии различной этиологии и необходимость ее коррекции определили задачу разработки кислородсвязывающих кровезаменителей. Но пока еще можно лишь обсуждать потенциальные возможности создания кровезаменителя на основе раствора Hb, так как введение раствора Hb непосредственно в кровь пациенту будет порождать сложные проблемы, от решения которых во многом зависит возможность применения таких кровезаменителей. Кроме того, в работе [6] говорится о том, что исследования растворов Hb, полученных из эритроцитов донорской крови, не привели к полному пониманию механизма их воздействия на живой организм. Разнообразные реакции, возникающие при введении растворов Hb, многими авторами связываются с наличием в них различных примесей как липидной, так и белковой природы. Состав липидных примесей подробно изучен в ряде работ, однако это не привело к выявлению источника токсического действия растворов Hb. Имеются немногочисленные сведения, анализирующие белковые загрязнения, источники происхождения этих примесей. Указано, что большую часть белков, загрязняющих растворы Hb, составляет внутриэритроцитарный фермент карбоангидраза; есть данные, что токсические реакции, возникающие при введении растворов Hb, обусловлены преимущественно фосфатидил-этаноломином и фосфатидил-серином (фосфолипидами мембран эритроцитов), а также экзотоксинами, которые содержатся в незначительном количестве (ниже порога чувствительности теста на пирогенность). Максимально очищенный от примесей «идеальный» раствор Hb вызывает минимум патологических реакций, однако вопрос о его безвредности окончательно не решен.

При таких заболеваниях мозга, как развитие мозгового инсульта, прогрессирование дисциркуляторной энцефалопатии сопровождаются нарушением газообмена и процессов тканевого дыхания. Принимая во внимание особые кислородсвязывающие свойства HbF, можно сделать осторожное предположение о перспективах использования кровезаменителя на основе HbF у пациентов с заболеваниями, при которых ведущим звеном является гипоксия и нарушение процессов тканевого дыхания, в том числе гипоксия мозговой ткани (церебральная

гипоксия), обусловленная дезгемическими нарушениями. Теоретически возможно прогнозировать, что HbF может способствовать повышению резистентности мозговой ткани к гипоксии.

Особенностями проблем пери- и неонатальной гематологии является то, что гемолитические анемии во внутриутробном развитии и новорожденных плохо поддаются каким-либо медикаментозным воздействиям [7]. Отмечено [7], что метод обменного переливания свежей крови взрослых новорожденным, имеющим тяжелую неонатальную аноксию, должен быть пересмотрен. В работе [7] говорится, что у новорожденных, как здоровых, так и с различной патологией чаще встречается геморрагический синдром, чем в другие периоды жизни и нередко сопровождается внутричерепными кровоизлияниями и желудочно-кишечными кровотечениями, приводящими к тяжелым последствиям. Отмечается необходимость совершенствования техники заменных трансфузий у новорожденных.

Среди прочих существуют модельные гемоглобин-содержащие липосомальные системы, которые предположительно могут использоваться в качестве переносчиков кислорода в организме [8]. Изучаются взаимодействия окси-, метгемоглобинов с модельными фосфолипидными мембранами [9, 10]. Известно, что фетальный гемоглобин и гемоглобин А по-разному соединяются с эритроцитарной мембраной [11]. Исследования о взаимодействии фетального гемоглобина с отдельными фосфолипидами представлены в работе [12].

Имеются данные о разработках кровезаменителя на основе химически модифицированного гемоглобина А человека [13-19]. Также изучаются свойства гемоглобина после длительного хранения при различных температурах [20-22]. В литературе [23-26] представлены данные об исследовании влияния факторов замораживания на фетальный гемоглобин.

Таким образом, необходимо дальнейшее изучение свойств фетального гемоглобина и гемоглобина А, которое поможет формированию теоретического основания для возможного применения этих гемоглобинов в клинической практике.

**Список литературы:** 1. Atweh G. F., Schechter A. N. Pharmacologic induction of fetal hemoglobin: raising the therapeutic bar in sickle cell disease // *Curr. Opin. Hematol.* – 2001. – Vol. 8. – P. 123-130. 2. Антоненко В. Т., Королев Ю. Н., Кузьменко В. А. и др. Влияние взвеси фетальных эритроцитов на течение геморрагического шока // *Физиологический журнал.* - 1980. - Т. 26, №5. - С. 639-645. 3. Антоненко В. Т. Фетальный гемоглобин и адаптация к гипоксии. Применение препаратов Ф-Нв в лечении гипоксических состояний // *Молекулярные аспекты адаптации к гипоксии.* - К.: Наукова думка. – 1979. – С. 31-36. 4. Литвиненко Ю. А., Колонина И. Р., Соколов А. В. и др. Изучение эффективности искусственного переносчика кислорода на основе гемоглобина при замещении кровопотери у собак // *Гематология и трансфузиология.* - 1991. - Т. 36, №8.- С. 16-18. 5. Чуйкин А. Е., Иванов К. П., Столбов А. Л. Газообмен и транспорт газов в организме при коррекции острой анемии раствором модифицированного гемоглобина или за счет дыхания гипероксической газовой смесью // *Гематология и трансфузиология.* - 1993. - Т. 38, № 9. – С. 25-29. 6. Лившиц А. Б., Берковский А. Л., Крылова В. Е. Белковые примеси в очищенных растворах гемоглобина // *Гематология и трансфузиология.* - 1992. - Т. 37, №4. - С. 35-37. 7. Самсыгина Г. А., Румянцев А. Г. Научные и практические вопросы неонатальной гематологии // *Гематология и трансфузиология.* - 1991. - Т. 36, №5. - С. 3-5. 8. Ушакова И.П., Серебренникова Г.А., Евстигнеева Р.П. Обратимые переносчики

кислорода на основе липосомальных форм производных гема и гемоглобина // Биологические мембраны. – 1987. – Т.4, № 6. – С. 565-589. 9. Бондаренко С.В., Ушакова И.П., Левит Л.Ф., Серебренникова Г.А., Евтигнеева Р.П. Изучение взаимодействия гемоглобина с фосфолипидными везикулярными мембранами различного состава // Биоорганическая химия. – 1985. – Т. 11, № 10. – С. 1385-1390. 10. Bossi L., Alema S., Calissano P., Marra E. Interaction of different forms of haemoglobin with artificial lipid membranes // Biochim. et Biophys. Acta. – 1975. – Vol. 375. – P. 477-482. 11. Fredrick W., Smith L.A., Winter W.P. Effect of ligand state on the binding of hemoglobin to the cytoplasmic side of the red cell membrane // Blood. – 1991. – Vol. 78, № 10. – P. 88 a. 12. Тимченко Н.Н. Влияние замораживания-оттаивания на конформацию фетального гемоглобина и взаимодействие его с липосомами // Проблемы криобиологии.-2003.-№ 2.-С.104-108. 13. Benesch R., Triner L., Benesch R.E., Kwong S., Verosky M. Enhanced oxygen unloading by an interdimensionally crosslinked hemoglobin in an isolated perfused rabbit heart // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1984. – Vol. 81, № 9. – P. 2941-2943. 14. Nakajima I., Fuchinoue S., Teraoka S., Tojinbara T., Fujikawa H., Kawai T., Honda H., Agishi T., Ota K. Forty-eight hour liver preservation using an artificial blood substitute // ASAIO Trans. – 1988. – Vol. 34, № 3. – P. 277-279. 15. Iwasaki S., Araki H., Miyauchi Y., Nishi K. 24-hour preservation of isolated rat hearts perfused with pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene conjugate (PHP) solution at low temperature // Artif. Organs. – 1991. – Vol. 15, № 2. – P. 78-85. 16. Satoh T., Koayashi K., Sekiguchi S., Tsuchida E. Characteristics of artificial red cells. Hemoglobin encapsulated in polylipid vesicles // ASAIO J. – 1992. – Vol. 38, № 3. – 580-684. 17. Iwashita Y. Relationship between chemical properties and biological properties of pyridoxalated hemoglobin-polyoxyethylene // Biomater. Artif. Cells Immobilization Biotechnol. – 1992. – Vol. 20, № 2. – P. 299-307. 18. Chang T.M. Modified hemoglobin blood substitutes: present status and future perspectives // Biotechnol. Annu. Rev. – 1998. -№ 4. – P.75-112. 19. Sakai H., Tomiyama K.I., Sou K., Takeoka S., Tsuchida E. Poly(ethylene glycol)-conjugation and deoxygenation enable long-term preservation of hemoglobin-vesicles as oxygen carriers in a liquid state // Bioconjug. Chem. – 2000. – Vol. 11, №3. – P. 425-432. 20. Labrude P., Chaillot B., Vigneron C. Influence of physical conditions on the oxidation of hemoglobin during freeze-drying // Cryobiology. – 1984. – Vol. 21, № 1. – P. 33-38. 21. Menu P., Labrude P., Vigneron C. Usual physicochemical criteria provide insufficient evidence that a functional hemoglobin solution can be used for transfusions after storage for 36 months at +4 degrees C // Biomater. Artif. Cells Artif. Organs. – 1990. – Vol. 18, № 2. – P. 169-181. 22. Moore G.L., Zegna A., Ledford M.E., Huling J.P., Fishman R.M. Evaluation of methemoglobin formation during the storage of various hemoglobin solutions // Artif. Organs. – 1992. – Vol. 16, № 5. – 513-518. 23. Тимченко Н.Н., Розанова Е.Д., Кучеренко Ю.В., Леонов Б.Н. Аутоокисление гемоглобинов А и F после замораживания-оттаивания // Проблемы криобиологии.-2002.-№4.-С.68-71. 24. Тимченко Н.Н. Влияние замораживания-оттаивания на конформацию фетального гемоглобина и взаимодействие его с липосомами // Проблемы криобиологии.-2003.-№ 2.-С.104-108. 25. Тимченко Н.Н., Розанова Е.Д., Моисеев В.А., Хромушкин К.М. Изучение влияния концентрированных растворов натрия хлорида на состояние фетального гемоглобина и гемоглобина А // Біофізичний вісник. – 2001.-№2 (9).-С.64-66. 26. Тимченко Н.Н., Розанова Е.Д., Моисеев В.А., Хромушкин К.М. Сравнительное изучение влияния замораживания-оттаивания на гемоглобин А и F // Проблемы криобиологии –2001.-№3.-С.20.

*Поступила в редколлегию 13.04.2008*