

ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРЕНОСЧИКОВ КИСЛОРОДА В СОВРЕМЕННЫХ ЗАМЕНИТЕЛЯХ КРОВИ

Николай Васильевич Шевченко*, Сергей Николаевич Худяков, Андрей Анатольевич Зырянов, Денис Александрович Пыренков

354-й окружной военный клинический госпиталь

Реферат

Интраоперационную и посттравматическую кровопотерю можно компенсировать введением кристаллоидных и коллоидных растворов. Гемотрансфузия служит эффективным методом, но имеет ряд недостатков: может вызывать тяжёлые гемолитические реакции, инфицирование и иммунные нарушения.

Решить большинство этих проблем могут заменители крови на основе молекул-переносчиков кислорода. Поиск альтернативы донорской крови и её препаратам продолжается давно, но только на современном этапе несколько переносчиков кислорода достигли фазы клинических исследований. Искусственные переносчики кислорода — фармакологические препараты, применяемые с целью улучшения доставки кислорода независимо от функций эритроцитов, выполняющие лишь транспортную функцию по переносу кислорода.

В данной работе мы постарались отразить современный этап в разработке, внедрении и применении переносчиков кислорода.

Ключевые слова: переносчики кислорода, модифицированные гемоглобины, перфторуглероды, гемотрансфузия.

CHARACTERISTICS OF OXYGEN CARRIERS IN MODERN BLOOD SUBSTITUTES *N.V. Shevchenko, S.N. Khudyakov, A.A. Zyryanov, D.A. Pyrenkov. 354th District Military Clinical Hospital, Russia.* Intraoperative and posttraumatic blood loss can be compensated by the introduction of crystalloid and colloid solutions. Blood transfusion is an effective method, but has several disadvantages: it may cause severe hemolytic reactions, infections and immune disorders. Blood substitutes based on oxygen-carrying molecules can solve most of these problems. The search for alternatives to donor blood and its preparations has continued for a long time, but only at this stage a few of the oxygen carriers have reached the phase of clinical trials. Artificial oxygen carriers are pharmacological agents used to improve oxygen delivery, regardless of the functions of erythrocytes, which perform solely a transport function of oxygen delivery. In this article, the authors have tried to reflect the current stage in the development, implementation and usage of oxygen carriers. **Keywords:** oxygen carriers, modified hemoglobins, perfluorocarbons, blood transfusion.

Кровь состоит из клеточной и жидкой фаз, выполняет различные функции, главная из которых — транспорт кислорода, включая его доставку к органам и тканям, с одновременным выведением углекислого газа. Кислород переносится в связанном с гемоглобином состоянии в эритроцитах. Количество кислорода, перенесённого гемоглобином, зависит от концентрации гемоглобина и его насыщения кислородом. Внутри эритроцита гемоглобин находится в тесном контакте с некоторыми соединениями и ферментами (такими, как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионовая пероксидаза и др.), которые защищают его от окисления. Выполняя функцию переноса кислорода, кровезаменители должны отвечать следующим требованиям:

- не быть токсичными и иммуногенными;
- сочетать высокую способность к переносу кислорода со свойствами, позволяющими осуществлять достаточную доставку его тканям;
- быть аналогичными по свойствам естественному гемоглобину;
- не вступать в реакцию с кислородом;
- не быть катализатором реакций между кислородом и другими компонентами крови;
- иметь достаточное время циркуляции в сосудистом русле;
- иметь отличные от свободного гемоглобина

пути метаболизма;

- иметь близкую к крови вязкость, онкотическое, осмотическое и реологические свойства;
- быть стойкими при стерилизации и хранении;
- быть доступными в большом количестве при невысокой стоимости.

Создание растворов, переносящих кислород, проводили в двух направлениях. Первое — использование естественных растворов гемопротеина, в которых кислород связывался с молекулой-носителем. Второе — использование растворов синтетических молекул, в которых кислород растворялся без связывания. С первым направлением связаны растворы модифицированных природных и рекомбинантных гемоглобинов, со вторым — растворы перфторуглеродов.

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ РАСТВОРЫ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ГЕМОГЛОБИНА

Внеклеточный гемоглобин распадается на α - и β -димеры, обладающие нефротоксичными свойствами. Для устранения нефротоксичности молекулы гемоглобина химически или генетически модифицируют. Полученный гемоглобин сохраняет такое же сродство к кислороду, как и естественный, в соответствии с кривой диссоциации оксигемоглобина. Тем не менее, модифицированный гемоглобин также обладает рядом побочных реакций: системная и лёгочная вазоконстрикция

из-за связывания оксида азота, высвобождение эндотелина и сенсибилизации α -адренорецепторов, повышение количества панкреатических ферментов и билирубина.

МОДИФИКАЦИИ МОЛЕКУЛЫ ГЕМОГЛОБИНА

Образование внутримолекулярных поперечных связей. Молекулы α - и β -димеров гемоглобина обладают достаточной стабильностью, но быстро фильтруются почками. Цель интрамолекулярной модификации — поперечная связка α - или β -субъединиц между собой. Данная модификация предотвращает диссоциацию тетрамера гемоглобина, сохраняя время нахождения в сосудистом русле, но снижает его афинность к кислороду.

Полимеризация. Для предотвращения экскреции почками множество молекул олигомера гемоглобина соединяется посредством диальдегидов, увеличивая молекулярную массу образующейся молекулы свыше 500 кДа (у неизменённого гемоглобина — 64,5 кДа).

Конъюгация. Объединение молекулы гемоглобина ковалентными связями с биологическими полимерами, подобными полисахариду, что также предотвращает его почечную экскрецию.

Инкапсуляция. Включение гемоглобина в липидные везикулы при помощи раствора фосфолипидов.

«Гемоглобин без стромы»

«Гемоглобин без стромы» получают путём очистки гемоглобина от стромы эритроцитов. Основной его недостаток — вазоконстрикция и более высокая афинность к кислороду из-за потери 2,3-дифосфоглицерата при очистке.

Полимеризованный человеческий гемоглобин

PolyHeme пиридоксал гемоглобин (Northfield Laboratories, Evanston, IL, USA) получают из эритроцитарной массы с истёкшим сроком хранения, гемоглобин полимеризуют при помощи глутаральдегида. Применение препарата не сопровождается выраженными побочными эффектами, такими как вазоконстрикция или нефротоксичность, не требует определения группы крови. Срок хранения данного препарата при комнатной температуре — более года, кроме того, процесс переработки снижает риск передачи вирусной инфекции. В декабре 2006 г. компания-производитель представила предварительные результаты второй стадии клинических исследований, свидетельствующие об увеличении летальности в группе получавших препарат.

Переносчики O_2 , основанные на полимеризованном коровьем гемоглобине

Препарат HBOC-201, Hemosol (Biopure, Cambridge, MA, USA), представляет собой коровий гемоглобин, полимеризованный при помощи связей глутаральдегидлизина. Побочные эффекты данного препарата — вазоконстрикция и повышение активности амилазы и липазы крови. Его ограниченно используют в Южной Африке.

Гемоглобин рафимер

Hemolink (Hemosol Research Corporation, Mississauga, Ontario, Canada) представляет собой гемоглобиновый препарат, в котором О-раффиноза поперечно связывает β -цепи, стабилизируя тетрамеры, и соединяет поверхностные аминокислоты, вызывая полимеризацию гемоглобина. Использование препарата ограничено вследствие кардиотоксичности.

Гемоглобин, поперечно связанный диаспирином

HemAssist (Baxter, Deerfield, IL, USA) представляет собой поперечно сшитые при помощи диаспирина α -субъединицы гемоглобина. Первоначальные опыты на животных и клинические исследования с оценкой возможности применения в кардиохирургии показали значительное снижение потребности в препаратах крови. Однако на догоспитальном этапе отмечена более высокая летальность в основной группе. В настоящее время разработка диаспирин поперечно связанного гемоглобина приостановлена.

Гемоглобин, модифицированный малеимидактивированным полиэтиленгликолем

Такая модификация позволяет укрупнить молекулы гемоглобина и снизить их способность к диффузии. В исследованиях на животных было показано, что данные растворы вызывают минимальную вазоконстрикцию, но сопровождаются артериальной гипертензией. Последний эффект связывают с повышением сердечного выброса вследствие коллоидных свойств препарата. К настоящему моменту завершено несколько исследований второй фазы, не продемонстрировавших серьёзных побочных эффектов препарата. Зарегистрированы случаи незначительного повышения активности амилазы, липазы и печёночных ферментов, а также тенденция к большей частоте брадикардии.

Другие растворы модифицированного вис клеточного гемоглобина

Ряд препаратов находится на стадии преclinical или экспериментальных исследований. Полигемоглобин, поперечно связанный ферментами, служит примером использования каталазы для формирования поперечных связей и супероксида для предотвращения его последующего образования из накапливающегося гипоксантина и вновь образовавшегося кислорода, что чревато последующим высвобождением свободных кислородных радикалов. Другие экспериментальные препараты включают человеческий рекомбинантный гемоглобин, синтезируемый *E. coli*, связанный гемоглобин и рекомбинантный гибрид человеческих α -субъединиц и коровьих β -субъединиц гемоглобина.

ЭМУЛЬСИИ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ

Перфторуглероды — биохимически инертные летучие жидкости с высокой степенью растворимости как для углекислого газа, так и для кисло-

рода (пропорционально их парциальному давлению). Поскольку кислород не связан, его доставка на уровне тканей происходит легко. Жидкие перфторуглероды представляют собой циклические или линейные молекулы с малой молекулярной массой, в которых все атомы водорода замещены фтором (450–500 Да). Они практически инертны в химическом и биохимическом отношении, не метаболизируются и подвержены быстрой экскреции через лёгкие. Для получения стабильных эмульсий при комнатной температуре и в процессе стерилизации в настоящее время в основном используют фосфолипиды яичного желтка.

Перфторуглероды I поколения

Флузол (Green Cross Corporation Осака, Япония) — смесь перфтордекалина и перфтортрипропиламина (70:30) с использованием плуроника F-68 в качестве эмульгатора. Основные недостатки — малая стабильность, технические трудности в его подготовке к клиническому применению и такие побочные эффекты, как активация комплемента из-за плуроника F-68. Флузол также задерживается в органах в течение продолжительного времени.

Аналогичные эмульсии разработаны в России (фторосан или перфторан) и Китае (эмульсия №2).

Перфторуглероды II поколения

Охугент (Альянс, Сан-Диего) на основе перфторктил бромида (перфлуброна), в качестве эмульгатора используют фосфолипиды яичного желтка. Препарат имеет допустимо низкие значения давления пара и хорошую стабильность, а также проявляет устойчивость при стерилизации и замораживании. Недостатком является быстрое выведение моноцитарно-макрофагальной системой. Он относится к перфторуглеродам, которые имеют наиболее высокую растворимость кислорода, в данное время препарат проходит клинические испытания третьей стадии с целью использования в качестве раствора-переносчика кислорода.

Перфторуглероды III поколения

Разрабатывается третье поколение перфторуглеродных эмульсий, которые дополняются смешанными молекулярными фтороуглеродными, водородными основами в качестве стабилизатора концентрированных перфторуглеродных эмульсий, что обеспечивает лучший размер частиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На современном этапе переносчики кислорода в своём большинстве проходят вторую стадию клинических испытаний.

Препараты модифицированного гемоглобина относительно безопасны, если применяются в малых или умеренных дозах, но сохраняют один из главных своих недостатков — малый срок жизнеспособности в кровотоке. Токсичность высоких доз препаратов до конца не выяснена, поскольку метаболизм данных модифицированных гемоглобинов остаётся в значительной степени неиз-

менным. Препараты на основе рекомбинантных гемоглобинов предоставляют огромный простор для развития и безопасного применения.

Развитие группы препаратов на основе эмульсий перфторуглеродов также имеет свои перспективы. Эмульсии II поколения более безопасны и способны к большему переносу кислорода, но остаются нестойкими. Эмульсии III поколения характеризуются большей стабильностью, устойчивостью и более развитой способностью регуляции размера частиц.

Обе группы препаратов значительно отличаются по свойствам, механизмам переноса кислорода и метаболизму, они должны иметь определённые показания к применению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Афонин Н.И. Современные принципы инфузионно-трансфузионной терапии острой кровопотери // Вестн. службы крови Рос. — 2000. — №2 — С. 13–16.
2. Брюсов П.Г. Трансфузионная терапия при острой кровопотере // Воен.-мед. ж. — 1997. — №7. — С. 17–19.
3. Мороз В.В., Атауллаханов Ф.И., Лисовская И.Л. и др. Влияние перфторана на морфологию и реологические свойства эритроцитов у больных с тяжёлой травмой и кровопотерей // Анестезиол. и реаним. — 2001. — №6. — С. 22–25.
4. Медус А.И., Сансай В.Ф., Немецин Е.С. Основные аспекты инфузионно-трансфузионной терапии на современном этапе. — Иркутск: Мед. изд-во, 2002. — С. 170–175.
5. Усенко Л.В., Клигуленко Е.Ф., Заяц А.Н. Перфторорганические соединения в биологии и медицине. — Пушкино, 1997. — С. 89–93.
6. Coctan R., Spahn D. Haemoglobin, oxygen carriers and perioperative organ perfusion // Best Prac. Res. Clin. Anaesth. — 2008. — Vol. 22. — P. 63–80.
7. Kim H., Greenburg A. Artificial oxygen carriers as red blood cell substitutes: a selected review and current status // Artificial Organs. — 2004. — Vol. 28. — P. 813–828.
8. Inayat M., Bernard A., Gallicchio V. et al. Oxygen carriers: a selected review // Transfus. and Apheres. Sci. — 2006. — Vol. 34. — P. 25–32.
9. Winslow R. Red cell substitutes // Semin. in Hematol. — 2007. — Vol. 44. — P. 51–59.
10. Sprung J., Kindscher J., Wahr J. et al. The use of bovine hemoglobin glutamer-250 (Hemopure) in surgical patients: a result of a multicenter, randomized, single-blinded trial // Anesth. Analg. — 2002. — Vol. 94. — P. 799–808.
11. Greenburg A., Kim H. Use of an oxygen therapeutic as an adjunct to intraoperative autologous donation to reduce transfusion requirements in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery // J. of the Amer. Coll. of Surg. — 2004 — Vol. 198. — P. 373–383.
12. Sloan E.P., Koenigsberg M., Brunett P.H. et al. Post hoc mortality analysis of the efficacy trial of diaspirin cross-linked hemoglobin in the treatment of severe traumatic hemorrhagic shock // J. Trauma. — 2002. — Vol. 52. — P. 887–895.
13. Kerner T., Ahlers O., Veit S. et al. DCL-Hb for trauma patients with severe hemorrhagic shock: the European «On-Scene» Multicenter Study // Intens. Care Med. — 2003. — Vol. 29. — P. 378–385.
14. Vandegriff K.D., Malavalli A. et al. MP4, a new nonvasoactive PEG-Hb conjugate // Transfusion. — 2003. — Vol. 43. — P. 509–516.