

Влияние низких температур на гемоглобин, встроенный в альгинатные микросферы

С.Л. Розанова

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Low Temperature Influence on Hemoglobin Loaded in Alginate Microspheres

S.L. Rozanova

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine*

В последние годы альгинатные системы для инкапсулирования нашли широкое применение в фармацевтической промышленности для доставки лекарств орального применения, терапии, а также иммобилизации других молекул [Sachan N.K. и соавт., 2009]. Так, инкапсулированный в микросферы гемоглобин рассматривается как искусственные эритроциты в трансфузионной медицине [Dalmoro A. и соавт., 2012]. Криоконсервирование может быть оптимальным методом хранения инкапсулированного гемоглобина. Целью данной работы было исследовать влияние замораживания-оттаивания на свойства гемоглобина, инкапсулированного в кальций-альгинатные микросферы, а также выяснить, способен ли инкапсулированный гемоглобин переносить кислород.

Альгинатные микросферы, содержащие гемоглобин, получали путем ионотропного гелирования. Замораживание микросфер проводили в воде, физиологическом растворе и фосфатно-солевом буфере (ФСБ) при температуре -20°C . Функциональную активность гемоглобина анализировали по способности высвобождать кислород в анаэробных условиях с использованием дитионита натрия. Процентное содержание окси-, дезокси- и метгемоглобина в микросферах оценивали по спектрам поглощения гемоглобина. Исследование восстановления ABTS^+ -радикала использовали для оценки стабильности белка.

Показано, что замораживание-оттаивание микросфер, содержащих гемоглобин, приводит к частичной потере гемоглобина, а также к снижению белковой ABTS^+ -радикалвосстанавливающей активности, которое наиболее выражено при использовании воды в качестве среды замораживания. Было показано, что гемоглобин, инкапсулированный в альгинатные микросферы, способен высвобождать кислород в анаэробных условиях. Замораживание микросфер как в физиологическом растворе, так и в ФСБ, не влияло на эту способность. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности клинического применения инкапсулированного в микросферы гемоглобина.

Recently alginate encapsulating systems have found wide applications in pharmaceutical industry as a drug delivery, for therapy and for immobilizing other macromolecules [Sachan N.K. *et al.*, 2009]. In particular, hemoglobin-encapsulated microspheres were considered as artificial erythrocyte substitute in transfusion medicine [Dalmoro A. *et al.*, 2012]. Cryopreservation could be as a proper way of encapsulated hemoglobin storage. Thus, obtaining of the data concerning freeze-thawing influence on properties of hemoglobin encapsulated in calcium alginate microspheres and the elicitation whether encapsulated hemoglobin is still able to transfer oxygen is of great importance for widening perspectives of its clinical usage.

Hemoglobin-loaded alginate microspheres were obtained by ionotropic gelation. Microspheres were frozen in water, physiological solution or phosphate-buffered saline (PBS) down to -20°C . Hemoglobin functional activity was analyzed by ability to release oxygen in anaerobic conditions using sodium dithionite. Percentage of oxy-, deoxy- and methemoglobin in microspheres was detected by alterations in hemoglobin absorption spectra. ABTS^+ radical cation decolorization assay was used to investigate protein stability.

Freeze-thawing of hemoglobin loaded microspheres has been shown to lead to partial hemoglobin loss as well as to the lowering of protein ABTS^+ radical scavenging ability, the most severe in the case of using water as a freezing medium. It has been demonstrated that hemoglobin loaded into alginate microspheres was able to release oxygen in anaerobic condition. Freezing of microspheres both in physiological solution and in PBS did not affect this ability. The obtained results make Hb-loaded microspheres perspective for clinical application.

