# ГЛАВА 1. ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ.

## Кровь как ткань в человеческом организме.

Организм человека состоит из множества систем клеток и неклеточных структур, объединенных общей функцией, строением и происхождением, называемых тканями.

Составляющей этих тканей, в том числе и крови, является совокупность клеток и межклеточного вещества.

На химическом уровне межклеточное вещество представляет собой систему биополимеров и молекул воды, причём концентрация биополимеров в данном комплексе достигает высоких отметок. Также в составе содержатся такие структурные элементы, как волокна коллагена, кровеносные капилляры, нервные волокна и чувствительные окончания (болевые, температурные и прочие рецепторы) и другие. Если говорить о крови, то непосредственно её межклеточным веществом является плазма, составляющая 55% всей крови. Плазма содержит в себе минеральные (соли натрия, кальция и другие) вещества и белки. Прочие клетки крови называются форменными элементами и включают в себя эритроциты, лейкоциты и тромбоциты. Кроме того, в крови содержатся фагоциты и антитела.

Подобное содержание крови обеспечивает необходимые условия для нормальной жизнедеятельности ткани и выполнения ей своих функций[[1]](#footnote-1).

## Необходимость в трансфузии компонентов крови.

Переливанием, или трансфузией, компонентов крови является метод, применяемый для лечения и заключающийся во введении в кровеносное русло реципиента компонентов, взятых от донора или самого реципиента (аутодонорство); кроме этого также вводится кровь и ее компоненты, излившиеся в различные полости тела при травмах и операциях (реинфузия).

Долгое время считалось, что наиболее универсальной трансфузионной средой является цельная кровь; в результате этого суждения сложилось определенное мнение о процедуре. Казалось, её проведение не вызывает трудностей, поэтому последовал широкий спектр показаний, основанный на заместительном и стимулирующем механизме её действия. Следствием широкого применения переливания крови стало возникновение большого количества осложнений.

Суть появившихся осложнений заключается в том, что при переливании цельной крови реципиент наряду с необходимыми его организму компонентами получает и функционально неполноценные клетки, например, форменные клетки, продукты их распада, антитела и антигены. По этой же причине возможны отторжения и реакция «трансплантат против хозяина». Во избежание подобных случаев и для снижения риска их появления были разработаны новые методы трансфузии: замещаются конкретные компоненты при их недостаточности.

В лечебной практике наиболее широкое распространение имеют переливания эритроцитарной массы (взвеси), свежезамороженной плазмы, концентрата тромбоцитов.

## Эритроцит и трансфузия эритроцитарной массы.

Одной из главных составляющих крови являются клетки эритроциты, основная функция которых заключается в их участии в газообмене. Эритроциты осуществляют поглощение кислорода в легких, после чего транспортируют его к тканям и органам; кроме того, переносят двуокись углерода в легкие. Эритроциты участвуют также в регуляции кислотно-щелочного равновесия и водно-солевого обмена.

По своему строению эритроцит представляет собой безъядерную клетку, состоящую из губчатого вещества, содержащего гемоглобин, в полупроницаемой белково-липоидной оболочке. Форма данной клетки – двояковогнутый диск, диаметр которого колеблется от 4,75 до 9,5 мк. Цвет эритроцитов под микроскопом при окраске розовый, а интенсивность окраски зависит от содержания гемоглобина в губчатом веществе. Эритроциты - красные кровяные тельца.

В состав эритроцитарной массы входит то же количество эритроцитов, что и в цельной крови, однако значительно меньше цитрата, продуктов распада клеток, клеточных и белковых антигенов и антител. Этот факт обусловливает преимущество трансфузии компонентов крови перед трансфузией цельной крови по функциональным свойствам и лечебной эффективности[[2]](#footnote-2).

Получение эритроцитарной массы происходит путем отделения плазмы; по внешнему виду она отличается от цельной крови именно меньшим объемом плазмы над слоем осевших клеток, показателем гематокрита[[3]](#footnote-3). По клеточному составу эритроцитарная масса состоит в основном из эритроцитов; меньшая ее часть составляет тромбоциты и лейкоциты; это является причиной меньшей реактогенности, то есть снижет риск каких-либо побочных эффектов при введении в организм.

Эритроцитарная масса может и успешно применяется в комплексе с плазмозаменителями и препаратами плазмы. Более эффективно такое соединение, чем применение цельной крови, так как в эритроцитарной массе снижено содержание цитрата, аммиака, внеклеточного калия, а также микроагрегатов из разрушенных клеток и денатурированных белков плазмы.

Переливания эритроцитарной массы необходимы при анемизации пациентов, которая может случаться по разным причинам в совершенно различных условиях, начиная от непредвиденных оперативных кровотечений и заканчивая реакцией организма на проведение лечения какого-либо заболевания. Однако, иметь в постоянном доступе свежую донорскую эритроцитарную массу не представляется возможным, поэтому актуальной остается задача сохранения компонентов крови для переливания.

## Способы сохранения эритроцитарной массы для дальнейших переливаний.

Как уже упоминалось выше, замороженные эритроциты, как из периферической крови, так и из костного мозга, используются для различных диагностических и терапевтических целей.

Существует большое разнообразие протоколов для специфической криоконсервации клеток, технологии развиваются до сих пор. Методы различаются в отношении использованных концентраций клеток, защитных растворов (криопротекторов и их концентраций), изменений времени и температуры в процессе охлаждения и согревания и температуры хранения. Кроме того, некоторые из криопротекторов приводят к осмотически-стимулированному лизису клеток при переливании в организм, например, глицерин для эритроцитов (RBCs). В таких случаях, необходима омывающая процедура после оттаивания, предшествующая применению или трансфузии.

Итогом исследований сейчас является создание трех различных методов криоконсервации клеток для клинического применения:

* Метод Хаггинса: использование глицерина в неионогенных суспензиях и устранение криопротектора путем обратимого скопления эритроцитов.
* Метод Мэримэна и Хорнблауэра: высокое содержание глицерина и медленное снижение температуры; является преобладающим методом криоконсервации в США;
* Метод Роу и Крижнэна: низкое содержание глицерина и быстрое снижение температуры; является преобладающим методом криоконсервации в Европе.

В этой области актуально использование высокомолекулярных криопротекторов: водорастворимые криозащитные макромолекулы (такие как альбумин, декстраны, модифицированный желатин, поливинилпирролидон (PVP), полиэтиленоксид, полиэтиленгликоль, и гидроксиэтилкрахмал (HES)), главным преимуществом которых является то, что не входят в клетку. Это свойство значительно облегчало их устранение после оттаивания, а в случае возникновения непредвиденных ситуаций этот шаг может быть опущен, если добавки (например, альбумин, декстраны, модифицированный желатин и HES) биологически разлагаемы и переносимы человеческим организмом.

В 1967 году, Кнорпп и его соавторы впервые описали успешную криоконсервировацию эритроцитов человека с помощью HES и жидкого азота, сравнивая эффективность HES с эффективностьюзаря PVP. Они предпочитали коллоидный HES, так как PVP удерживался в значительной мере на реципиенте (как полиэтиленоксид и полиэтиленгликоль). Кроме того, в случае гиповолемии альбумин, декстраны, модифицированные желатины и HES служат в качестве замены объема крови.

На практике было проведено несколько исследований для оптимизации процедуры HES в искусственных условиях, естественных условиях при участии семи здоровых добровольцев. И после успешных экспериментов было произведено изучение в естественных условиях на лабораторных животных и семи здоровых добровольцах.

## Гипотеза воздействия магнитного поля на ткань при заморозке.

Магнитное поле в качестве криопротектора в отличие от множества других не проявляет токсичности, что непременно является преимуществом его использования. Магнитное поле не проникает внутрь клетки, не нарушая состав ее цитоплазмы и осмотический баланс.

Другой причиной его использования можно назвать теорию о том, что применение магнитного поля при криоконсервации способно повлиять на некоторые процессы, вследствие чего мембраны клеток сохраняют свою структуру, а их разрыв предотвращается. Причины подобных процессов непосредственно связаны с воздействием магнитного поля на аспекты, описанные далее.

Изменение структуры льда осуществляется под действием магнитного поля следующим образом: за счёт магнитных свойств ядер атомов ориентация и рост кристаллов происходит не хаотично, а упорядоченно. Этот результат позволяет сохранить мембраны большего количества клеток.

Можно также рассматривать кристаллизацию воду с точки зрения составляющих эритроцита: в нем, как в любой живой клетке, содержится ряд заряженных ионов (Ca2+, Na+, K+, Cl-), а под влиянием магнитного поля взаимодействие между диссоциировавшими ионами и также между молекулами воды изменяется. Согласно одной из теорий водород связывается с ионами в условиях установленного магнитного поля, и в воде образуется свободный атом кислорода, то есть в ней образуются "пузырьки", что превращает охлаждаемую жидкость в аморфную, неструктурированную, не имеющую острых кристаллических структур, которые могли бы повредить мембраны клеток.

Приведённые гипотезы рассматриваются в квантовой и ядерной физике, однако сейчас они не находят абсолютного подтверждения; соответственно, выводы о влиянии магнитного поля на кристаллизацию воды в присутствии других веществ не очевидны.

## Известные научные исследования воздействия магнитного поля на живую ткань.

Метод криоконсервации, представленный впервые в 2010 году, демонстрирует возможность хранения периодонтальной связки человека (PDL) в замороженном виде на протяжении 3 дней[[4]](#footnote-4). Условия криоконсервации дали возможность сохранить жизнеспособность связок, а значит в дальнейшем сохранить живой размороженный зуб. В указанном методе были исследованы конечная температура, инкубация при -5℃ и интенсивность магнитного поля морозильной камеры. Клетки замораживали в течение 3 дней при -150℃, количество выживших клеток подсчитывали путем введения трипанового синего красителя (клетки с неповрежденными клеточными мембранами не окрашиваются). Когда в качестве температуры предварительного замораживания использовали -30℃, количество выживших клеток превысило 90%. Интенсивность электрического тока, необходимого для генерации магнитного поля, составляла 75 мА. Результаты данных исследований были таковы: консервирование не только клеток PDL, но и других ценных клеток становится более вероятно.

Другое исследование преследовало цель в том, чтобы оценить эффекты долговременной криоконсервации на изолированные клетки PDL и ткани пульпы[[5]](#footnote-5). В первой части исследования было подобрано 10 зубов, извлеченных недавно, которые были разделены на две группы. В группе, подвергнутой криоконсервировации, зубы замораживали в течение 5 лет, используя запрограммированный морозильник, объединенный с магнитным полем, известным как Cells Alive System (CAS). В качестве контрольной группы использовались свежеизвлеченные зубы. В каждой группе были культивированы выделенные ткани PDL; обе группы сравнивали относительно следующих критериев: экспрессия генов, концентрация белка коллагена I типа, щелочная фосфатаза (ALP) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Во второй части исследования были получены ткани пульпы 10 зрелых и незрелых моляров, извлеченных недавно или криоконсервированных в течение трех месяцев. Были исследованы экспрессия мРНК VEGF и фактора роста нервов (NGF) и концентрация белка в надосадочной жидкости. Результаты показали, что длительная криоконсервация с использованием морозильника CAS не может влиять на скорость роста и характеристики клеток PDL. Существенных различий в экспрессии VEGF, VEGF и концентрации белка NGF в клетках пульпы, полученных из криоконсервированных незрелых зубов, и в клетках со сформированным зрелым корнем контрольной группы не было. Следовательно, клинически подтверждена правильная регенерация PDL и соответствующий апексогенез после трансплантации магнитно-криоконсервированного незрелого зуба.

Результаты вышеупомянутых исследований показывают, что хранение зубов с использованием программируемого морозильника с магнитным полем могут быть доступны для будущей аутотрансплантации в качестве метода лечения для замены отсутствующих зубов. Не менее актуальной в этом аспекте остаётся проблема криоконсервации других клеток, в том числе эритроцитов[[6]](#footnote-6).

1. Регистр лекарственных средств России РЛС Пациент 2003. Москва: Регистр Лекарственных Средств России, 2002. [↑](#footnote-ref-1)
2. Галкин В.В., Аграненко В.А., Волков Н.Н., Городецкий В.М., Горкова Н.Н., Крючков М.И., Петренко Л.И., Рогова Э.М. Инструкция по переливанию крови и её компонентов, Утв. Минздравом СССР 03.12.1986. [↑](#footnote-ref-2)
3. Гематокрит – отношение красных **клеток крови к ее общему объему.**

   Более детально описано в 2.2. Измерение Ht эритроцитарной массы. [↑](#footnote-ref-3)
4. Toshitsugu Kawata, Masato Kaku, Tadashi Fujita, Junji Ohtani, Msahide Motokawa, Kazuo Tanne. Water molecule movement by a magnetic field in freezing for tooth banking. Hiroshima: Biomedical Research, 2010. [↑](#footnote-ref-4)
5. S. Abedini, M. Kaku, T. Kawata, H. Koseki, S. Kojima, H. Sumi, M. Motokawa, T. Fujita, J. Ohtani, N. Ohwada, K. Tanne. Effects of cryopreservation with a newly-developed magnetic ﬁeld programmed freezer on periodontal ligament cells and pulp tissues. Hiroshima: Cryobiology, 2011. https://www.elsevier.com/ [↑](#footnote-ref-5)
6. Предшествующие пункты, в том числе и ВВЕДЕНИЕ. [↑](#footnote-ref-6)