

КЛАТРАТНАЯ КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

V. I. Telpoukhov, P. V. Schcherbakov

CLATHRATE CRYOPRESERVATION

ГБОУ ВПО Первый московский государственный медицинский университет
им. И. М. Сеченова Минздравсоцразвития РФ, г. Москва
© Тельпухов В. И., Щербаков П. В.

Рассматривается воздействие повышенного давления и низкой температуры на животные ткани и органы как эффективный метод их долгосрочного хранения. Надежность и продолжительность оригинальной криоконсервации теоретически объясняется появлением микрокристаллогидратов атмосферных газов по всему объему биологического объекта. Неизвестное ранее проявление жизнеспособности получило в авторской интерпретации собственное имя «Клатратный анабиоз».

Ключевые слова: клатратный стазис, гибридная кристаллизация, клатратная криоконсервация, масштабная кристаллизация, клатратный анабиоз.

The impact of high pressure and low temperatures on animal tissues and organs is considered as one of the most efficient methods of long-term living matter storage. Reliability and duration of the original cryopreservation can be theoretically explained by the appearance of micro-atmospheric gases clathrate compound throughout entire volume of biological object. The previously unknown manifestation of vitality was named by the authors as «Clathrate anabiosis».

Key words: clathrate stasis, crystallization of the hybrid, clathrate cryopreservation, large-scale crystallization, clathrate anabiosis.

УДК 615.832.96

Известно, что единственно надежным методом лечения терминальной стадии хронической недостаточности жизненно важных органов является срочная пересадка [17]. Именно необходимость ее скорейшего внедрения в медицинскую практику инициировала разработку такого способа долгосрочного хранения, каким вначале представлялась низкотемпературная консервация (пребывание жизнеспособных объектов в замороженном состоянии) [8]. Параллельно с этими исследованиями предполагалось создание обширного банка донорского материала [17], причем, по замыслам разработчиков, органная криоконсервация должна была быть аналогичной той, что уже зарекомендовала себя при работе с суспензиями клеток [2]. К сожалению, криоконсервация органов так и осталась проблемой, не разрешенной ни в теоретическом, ни в практическом отношении [18]. Вместе с тем, поиск эффективных методик по сохранению жизнеспособности не только органов, но и любого другого объемного биоматериала предусматривает иные подходы, даже такие,

которые не укладываются в существующие концепции [2]. Так, анализ литературных данных показывает, что, кроме традиционного направления в криобиологии, имеется целый ряд неординарных технических приемов, позволяющих сохранять достаточно крупные биологические объекты вообще без использования обычных криопротекторов (глицерин, диметилсульфоксид, этиленгликоль, пропиленгликоль и др.) [8]. Рассмотрим в общем виде сам принцип одного из таких нетипичных проектов, относящегося к перспективным. Возможно, это внесет свою лепту в разрешение другой актуальной проблемы «Трансплантация тканей и органов».

Итак. Ряд газов и жидкостей образует гидраты [10], в том числе большинство — компонент воздуха атмосферы [12]. Газовые гидраты принадлежат к типу клатратов, или соединений включения, и представляют собой рыхлые кристаллические структуры [10]. Они состоят из объемного матричного каркаса, образованного сцепившимися молекулами одного вида, например, воды («хозяин»), и из внедренных в эту

ажурную сетчатую конструкцию посторонних молекул другого вида, например, каких-либо рабочих газов («гость») [6, 14, 16]. Причем синтезируются соединения включения при жестком условии, что возникающее каркасное вещество обладает пустотами, а сам адденд помещается в образующиеся соизмеримые с ним пространственные полости [10]. К примеру, такие молекулярные соединения могут появляться после воздействия сжатых инертных газов (относятся к постоянным составным частям воздуха) на кристаллизующуюся переохлажденную воду [6]. К тому же, геометрические параметры данных межмолекулярных емкостей соответствуют внешним размерам всех других *постоянных* и *непостоянных* (случайные примеси) составных частей воздуха земной атмосферы, что позволяет молекулам азота, кислорода, аргона, криптона, ксенона, углекислого газа, угарного газа, сернистого газа, метана, сероводорода, окислов азота и др. легко вписываться во внутренние отделы ажурной матрицы. Считается, что на фоне соответствующих низких температур (величины от 0 °С и ниже, вплоть до -196 °С) [2], даже при нормальном атмосферном давлении, многие газовые гидраты стабильны [10]. Но можно получить гидраты в устойчивом состоянии и при околонулевых положительных температурах, если приложить давление, большее, чем атмосферное. Так, например, клатраты ксенона стабильны уже при 275 К и 0,15 Мпа [3].

На основе использования тяжелых инертных газов аргона, криптона, ксенона [15] было показано, что в процесс гидратообразования при пониженных температурах (положительные околонулевые температуры [2]) может быть задействована организменная вода [11]. В данном случае при построении гидратных структур захватывается некоторое количество свободной (биологически активной) воды [7], в результате чего она частично иммобилизуется и выводится из биохимических взаимодействий [4]. Т.о., образующиеся по всему объему клетки — уже при слабopоложительных температурах твердые микрочастицы, состоящие из микрокристаллогидратов [13] этих благородных газов [15], — забирают на себя некоторое количество активной воды, что и способствует незначительному снижению клеточного метаболизма [23]. На этом эффекте основана экспериментальная консервация тканей и органов в условиях пониженных температур и гипербарии инертными газами [19]. Но даже по завершении процесса полного гидратообразования назвать «анабиозом» [7]

данное проявление никак нельзя, т.к. из-за остаточного содержания в клетке все еще незадействованной активной свободной воды (жидкой и в значительных количествах) время такой клатратной консервации ограничено [19]. Все же наиболее эффективным для гидратообразования считается диапазон отрицательных температур [10], к тому же при этих значениях оставшаяся незадействованной свободная вода иммобилизуется путем образования обычного льда [12]. К сожалению, подобные работы на отрицательном температурном участке не проводились, по всей видимости, из-за опасения столкнуться с т.н. «низкотемпературным повреждением» [8].

Поэтому прямым продолжением нетрадиционного направления и явилась аналогичная разработка, отличающаяся от предыдущих исследований только тем, что в качестве рабочих применены уже низкие температуры: «Способ криоконсервации органов и тканей *in situ*» [20]. Патентообладатель — Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова. Изобретение удостоено золотой медали на VII Московском международном салоне инноваций и инвестиций [22], может быть применено в медицине, биотехнологии, ветеринарии, животноводстве, хранении продуктов питания, научных исследованиях, сфере ритуальных услуг.

Каковы же теоретические предпосылки, что легли в основу новейшей (альтернативной) криоконсервации? В 1980-е гг. в академической группе академика АМН СССР В.В. Кованова при ВНИЦХ (Всесоюзный научный центр хирургии) АМН СССР, изучающей проблемы анабиоза [9], была сформулирована концепция клатратного стазиса. Подразумевалось, что в случае переноса вышеуказанного охлаждения при повышенном давлении [19] в область отрицательных температур микрокристаллогидраты составляющих воздуха, будучи по своей сути инициаторами кристаллизации [3] (т.н. «кристаллические зародыши» [2]), спровоцируют во всем объеме биологического объекта активную кристаллизацию оставшейся свободной воды. В свою очередь, такая гибридная кристаллизация должна была позволить, по замыслу исследователей, еще при умеренно-низких температурах вывести из биохимических взаимодействий всю активную клеточную воду. Известно, что кристаллизация, развивающаяся без самого «фронта кристаллизации» [8, 17], а сразу по всему объему замораживаемого объекта, не вызывает повреждений клеточных структур [18].

Авторы клатратной криоконсервации экспериментально обнаружили и теоретически обосновали неизвестную ранее закономерность. Суть ее в следующем. Биологические объекты, насыщенные способными к гидратообразованию *постоянными* и *непостоянными* составными частями воздуха земной атмосферы [6, 12], в условиях низких температур и повышенного давления остаются в жизнеспособном состоянии, т. е. переходят к анабиозу [7]. При этом в качестве «дирижеров» масштабной кристаллизации оставшейся в клетке свободной воды выступают клатраты перечисленных газов. Отсюда открывается реальная перспектива добиться абсолютно управляемой и безопасной кристаллизации (варьируя лишь величины рабочих температур и давлений), о чем мечтало не одно поколение ученых-медиков [17, 18].

Научное значение прорывного исследования заключается в том, что неизвестная ранее способность биологических объектов переходить к анабиозу позволяет пересмотреть все ныне существующие методики низкотемпературного хранения клеточного и тканевого материалов. По всей видимости, данный клатратный анабиоз широко распространен в природе. Так, по мнению разработчиков, бактериям, попавшим в антарктический лед [1] и погребенным в почвы зон вечной мерзлоты

[5] миллионы лет назад, помогли остаться в живых именно газы атмосферы Земли, образовавшие в клетках клатраты [21]. Но из всех воздушных составляющих наиболее значимая роль, по собственным наблюдениям авторов, принадлежит метану.

Научный факт обнаружения клатратного анабиоза позволяет сделать и другое обоснованное предположение: для целей щадящей криоконсервации возможно использование не только отдельных газов и смесей, относящихся к компонентам атмосферного воздуха, но и иных гидратообразующих веществ. Вполне логично их применение в сочетании с обычными жидкими криопротекторами [8], а это все переводит возможности криобиологии и криомедицины на совершенно новый уровень. Дальнейшая доработка уникального метода позволит реанимировать историческую идею создания всемирного банка донорских тканей и органов [17], о чем упоминалось в начале данной статьи.

Представленная работа выполнялась в 1980-е годы на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии 1-го Московского медицинского института им. И. М. Сеченова в академической группе академика АМН СССР В. В. Кованова при ВНИЦХ (Всесоюзный научный центр хирургии) АМН СССР, Москва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абызов С. С., Бобин Н. Е., Кудряшов Б. Б. О возможности длительного пребывания жизнеспособных микроорганизмов в толще антарктического ледника // Экспериментальный анабиоз: Тез. докл. II Всес. конф. по анабиозу. — Рига, 1984. — С. 5–6.
2. Белоус А. М., Гордиенко Е. А., Розанов Л. Ф. Замораживание и криопротекция. — М.: Высш. шк., 1987. — 80 с.
3. Бык С. Ш., Макагон Ю. Ф., Фомина В. И. Газовые гидраты. — М.: Химия, 1980. — 296 с.
4. Волков В. Я., Родин В. В., Исангалин Ф. Ш. Образование клатратов ксенона как метод иммобилизации молекул воды в клеточных суспензиях // Экспериментальный анабиоз: Тез. докл. II Всес. конф. по анабиозу. — Рига, 1984. — С. 51–52.
5. Воробьева Е. А., Хлебникова Г. М. Погребенные почвы зоны вечной мерзлоты — пул микроорганизмов, находящихся в состоянии анабиоза // Экспериментальный анабиоз: Тез. докл. II Всес. конф. по анабиозу. — Рига, 1984. — С. 54–55.
6. Глинка Н. Л. Общая химия. — Л.: Химия, 1971. — 712 с.
7. Голдовский А. М. Анабиоз и его практическое значение. — Ленинград: Наука, 1986. — 169 с.
8. Кирпатовский В. И. Основные проблемы криоконсервации органов // Общие проблемы биологии: Итоги науки и техники / ВИНТИ. — М., 1987. — Т. 8. — С. 140–197.
9. Кованов В. В. Цель — химический анабиоз, или вторая жизнь формалина [Интервью] // Наука и жизнь. — 1985. — № 7. — С. 49–53.
10. Крамер Ф. Соединения включения. [Пер. с нем.] — М.: Иностранная литература, 1958. — 169 с.
11. Лазарев Н. В. Биологическое действие газов под давлением. — Л., 1941. — 935 с.
12. Маэно Н. Наука о льде. [Пер. с яп.] — М., Мир, 1988. — 231 с.
13. Никитин Б. А. Исследования в области молекулярных соединений благородных газов // Избранные труды. — М.: Изд-во АН СССР, 1956. — 344 с.
14. Соколовская Е. М., Вовченко Г. Д., Гузей Л. С. Общая химия. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1980. — 726 с.
15. Фастовский В. Г., Ровинский А. Е., Петровский Ю. В. Инертные газы. — М.: Атомиздат, 1964. — 303 с.
16. Финкельштейн Д. Н. Инертные газы. — М.: Наука, 1979. — 200 с.
17. Шумаков В. И., Онищенко Н. А., Кирпатовский В. И. Фармакологическая защита трансплантата. — М.: Медицина, 1983. — 232 с.

18. Шумаков В. И. О путях повышения эффективности консервации органов методом глубокого замораживания // Актуальные вопросы консервации органов: Научный обзор. — Часть 3. — М., 1980. — С. 70–78.
19. Шумаков В. И., Штенгольд Е. Ш., Онищенко Н. А. Консервация органов. — М.: Медицина, 1975. — 252 с.
20. Щербаков П. В., Тельпухов В. И., Николаев А. В. Способ криоконсервации органов и тканей *insitu* // Патент на изобретение / (19) RU(11) 2 268 590 С1 (S1) МПК АО1Н 1/02 (2006.01).
21. Щербаков П. В., Тельпухов В. И. Бессмертие под газом // Химия и жизнь. — 2006. — № 8. — С. 34–39.
22. Инновационный прорыв ММА // Медицинская академия: Газета Московской мед. акад. им. И. М. Сеченова. — М., 2007. — № 7 (2352). — С. 8.
23. Pauling L. A molecular theory of general anesthesia // Science. — 1961. — Vol. 134. — № 3471. — P. 15–21.

Поступила в редакцию 15.05.2012
Утверждена к печати 20.06.2012

Авторы:

Тельпухов В. И. — д. м. н., проф. кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, г. Москва.

Щербаков П. В. — инженер-биофизик.

Контакты:

Тельпухов Владимир Иванович

119991, Российская Федерация, Москва, ГСП-1, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2,

ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова,

кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии

тел.: 8-916-149-36-53

e-mail: telpuhov@mail.ru

ЭТО ИНТЕРЕСНО



Министр здравоохранения РФ В. И. Скворцова рассказала о «бесстыдно низком» уровне подготовки врачей в вузах

Глава Министерства здравоохранения Вероника Скворцова в эфире радиостанции «Эхо Москвы» рассказала, что уровень подготовки врачей в вузах упал до «бесстыдно низкого».

В качестве основной причины снижения уровня подготовки молодых специалистов руководитель министерства назвала общее старение преподавательского состава. «Во-первых, состарились те преподаватели, которые в начале 80-х годов были яркими, молодыми, перспективными. Никто не следит за их статусом, повышением их уровня подготовки, поэтому часто они остались на том же уровне, а новые преподаватели, молодые, не пришли в отрасль и в профессорско-преподавательский состав. Мы сейчас начинаем борьбу против этого всего безобразия», — пояснила она.

В связи с этим ведомство планирует в ближайшие три-четыре месяца полностью обновить учебные планы всех медицинских вузов страны. Новые программы обучения будут разработаны на основе тех, что используются в немецком Хайдельберге, французской Сорбонне, британском Кембридже и американском Гарварде. Кроме того, планируется «полная переквалификация» всего преподавательского состава учебных заведений и, возможно, сокращение количества бюджетных мест в них, поскольку число выпускников медвузов «превышает потребности» страны во врачах.

Еще одной мерой борьбы за повышение качества медпомощи населению будет страхование пациентов от медицинских ошибок. Под это понятие подпадает не только ошибка врачебная, но и «системная», которая может выразиться, по словам министра, в недостатке необходимого оборудования в ЛПУ и несвоевременном перенаправлении пациента в другое медучреждение. Планируется, что такая страховка будет защищать россиян до введения системы аккредитации врачей, то есть до 2016 года.

<http://medportal.ru/mednovosti/news/2012/07/09/lowlevel>