Міністерство освіти і науки України
Вінницький національний технічний університет

Конспект лекцій
з дисципліни
«Біофізика»
для здобувачів вищої освіти за спеціальністю
163 – Біомедична інженерія

Модуль «Біоматеріали: взаємодія з кров'ю та очищення крові»

Co-funded by the Erasmus+ Programme of the European Union

Розроблено в рамках проекту "Erasmus+ (CBHE) BioArt "Інноваційна мультидисциплінарна освітня програма зі штучних імплантів для біоінженерії для бакалаврів та магістрів"

Developed in the frame of project "Erasmus+ (CBHE) BioArt "Innovative Multidisciplinary Curriculum in Artificial Implants for Bio-Engineering BSc / MSc Degrees" (586114-EPP- 1-2017- 1-ES- EPPKA2-CBHE- JP).

Вінниця
ВНТУ
2020

Рекомендовано – кафедрою біомедичної інженерії Вінницького національного технічного університету Міністерства освіти і науки України (протокол засідання кафедри БМІ № 2 від 10.09.2019 р., оновлено, розглянуто зі змінами на засіданні кафедри БМІ № 2 від 09.09.2020 р)

Конспект лекцій з дисципліни «Біофізика» для здобувачів освітнього рівня «бакалавр» спеціальності 163 – Біомедична інженерія, освітня програма «Біомедична інженерія» / уклад. Д. Х. Штофель. Вінниця : ВНТУ, 2020.

Конспект лекцій призначений для здобувачів вищої освіти, які навчаються за рівнем бакалавра зі спеціальності 163 - Біомедична інженерія, освітня програма «Біомедична інженерія».

Тема 1

Взаємодія біоматеріалів з кров'ю

Біоматеріал – це будь-яка речовина, розроблена для взаємодії з біологічними системами з медичною, терапевтичною (лікує, відновлює, збільшує або замінює тканинну функцію організму) або діагностичною метою (вимірює життєві параметри, біоактивні речовини або клітини).

Вивчення біоматеріалів називається наукою про біоматеріали або інженерією біоматеріалів.

Наука про біоматеріали охоплює елементи медицини, біології, хімії, тканинної інженерії та матеріалознавства.

Біоматеріали можуть бути отримані з природи або синтезовані в лабораторії з використанням різноманітних хімічних підходів, що використовують металеві компоненти, полімери, кераміку або композиційні матеріали.

Біоматеріали використовуються для:

Протезів суглобів;

Кісткових пластин;

Внутрішньоочних лінз;

Кісткового цементу;

Штучних зв'язок та сухожиль;

Зубних імплантатів;

Протезів кровоносних судин;

Клапанів серця;

Пристосувань для відновлення шкіри (штучна тканина);

Кохлеарних протезів;

Контактних лінз;

Грудних імплантатів;

Механізмів доставки ліків;

Опорних матеріалів;

Судинних трансплантатів;

Стентів;

Нервових каналів;

Хірургічних швів, затискачів та скоб для закриття рани;

Шпильок та гвинтів для стабілізації переломів;

Хірургічних сіток.

Біоматеріали повинні бути сумісними з організмом. Існують численні проблеми біосумісності, які мають бути вирішеними перед тим, як продукт може бути випущений на ринок.

Широке використання для діагностики та лікування приладів, що контактують з кров'ю вимагає розуміння механізмів взаємодії крові та біоматеріалів. Глибокі знання таких механізмів зможуть допомогти у вдосконаленні існуючих пристроїв та розробці нових конструкцій.

В той час, як деякі пристрої контактують з кров'ю одноразово і нетривалий час (наприклад, катетери), інші взаємодіють тривало (наприклад, прилади для очищення крові, оксигенатори), а деякі підлягають впливу крові роками або, навіть, пожиттєво (серцеві клапани, судинні трансплантати). Всі імплантати та пристрої що контактують з кров'ю, розпізнаються нею як чужорідні. Внаслідок цього виникають небажані процеси (деструкція біоматеріалів, тромбоз тощо). Деякі реакції починаються миттєво (відкладення білків і тромбоцитів плазми), тоді як інші реакції наступають пізніше (відкладення лейкоцитів і моноцитів, міграція ендотеліальних клітин і гладком'язових клітин). Кожен із цих елементів може активуватися і вивільняти біоактивні речовини, які надалі впливають на поведінку інших елементів у складному та динамічному мікросередовищі. Ці тканинні реакції регулюють тромбогенність та розвиток псевдоінтимальної гіперплазії.

Дослідження сучасної біомедичної інженерії спрямовані на попередження таких негативних наслідків.

Розуміння механізмів взаємодії крові та матеріалу приладів, що контактують з нею, має певні теоретичні та практичні обмеження.

Хоча на основі досліджень in vitro та випробувань на тваринах тисячі матеріалів показали себе біосумісними або нетромбогенними, залишається невизначеним, чи можливо результати цих досліджень переносити для розробки пристроїв, що будуть контактувати з людською кров'ю.

Реакції пристрою in vivo залежать від фактичної конфігурації пристрою, гемодинаміки людської серцево-судинної системи та результуючої геометрії потоку крові, а також від властивостей матеріалу як такого.

У багатьох сферах застосування при виборі матеріалів можуть домінувати вимоги до механічних та фізичних властивостей. Наприклад, мембрани, що використовуються в приладах для діалізу та оксигенаторах, повинні бути проникними як для розчинених речовин, так і для газів; постійні судинні трансплантати та клапани серця повинні бути механічно міцними та хімічно стабільними протягом багатьох років; апарати, прилади типу штучного серця потребують гнучких насосних камер. Таким чином, використання досліджень in vitro або in vivo, як у багатьох моделях на тваринах, не виявилося достатнім для прогнозування реальних характеристик пристроїв у пацієнтів. Окрім того, організми помітно відрізняються один від одного як за хімічним складом крові, так і за реакцією крові на чужорідні матеріали. Тому доступні лише обмежені порівняльні дані для людей і порівняно небагато матеріалів пройшли клінічну оцінку. Дослідження постійних імплантатів, вилучених при розтині, не цілком можуть дозволити встановити зв’язок із прижиттєвими динамічними особливостями серцево-судинної системи.

Незважаючи на ці обмеження, інженер-конструктор може керуватися попереднім успішним застосуванням матеріалів у різноманітних пристрях, а також узагальненнями, які були результатом цих досліджень.

Ще одним обмеженням є те, що взаємодії крові та матеріалу, що має клінічні наслідки, передує складна взаємодія між поверхнею біоматеріалу та білками циркулюючої крові. Плазма містить більше 100 ідентифікованих білків зі специфічними функціями та різними біологічними властивостями. Ці білки взаємодіють із поверхнями у складний, взаємозалежний та залежний від часу спосіб, який залишається недостатньо зрозумілим. Ці реакції можуть різнитися в залежності від стану коагуляції, використання антитромботичних чи інших лікарських засобів або введення контрастних речовин для флюороскопічного зображення.

Існують три ключові компоненти, взаємодія яких у різний спосіб і міру спричиняє процес тромбозу та емболізації на чужорідних пристроях крові. Це біоматеріал, особливості кровотоку (або гемодинаміки) та біологічне середовище.

Фактори, що впливають на взаємодію крові із біоматеріалами

Біоматеріал

• Склад поверхні

- полярні та неполярні групи;
- кислотні та основні групи;
- групи, зв’язані водневим зв’язком;
- інтактні біомолекули;
- ефект подвійного шару;
- наявність домішок, частинок.

• Сорбція води

• Поверхнева кристалічна / аморфна структура

• Гладкість, шорсткість та пористість поверхні

• Механічна відповідність поверхні

• Регулярний або нерегулярний розподіл поверхневих "доменів"

• Продукти, що утворюються внаслідок деградації біоматеріалу

Вплив кровотоку (гемодинаміка)

• Швидкість зсуву

• Імпульсний або нерегулярний потік

• Розділення потоків, турбулентність та стазис

• Дифузія компонентів крові

• Рух стінки біоматеріалу

Біологічне середовище

• Властивості крові, плазми, сироватки, білків та клітин;

• Антикоагулянти, препарати

• Радіомарковані речовини

• Повітряне середовище, розчинений газ

Ще одним негативним ефектом може бути те, що певні пристрої, особливо ті, що мають велику площу поверхні і тривало взаємодіють з кров'ю, можуть активувати ферментні системи (наприклад, систему комплементу). Це призводить до запальних або імунологічних реакцій в організмі.

Звичайні (традиційні) полімери

Звичайні полімери, такі як поліетилен (Intramedic™), полівінілхлорид (Tygon™), політетрафторетилен (Teflon™) та полідиметилсилоксан (Silastic™), а також деякі поліуретани десятиліттями використовуються для короткотермінових втручань (катетери, канюлі, артеріовенозні шунти для гемодіалізу).

При використанні протягом кількох годин, і найчастіше у пацієнтів, які отримують системні антикоагулянти, застосування таких матеріалів є клінічно прийнятним. Наприклад, хоча явища тромбування на ангіографічних катетерах спостерігаються приблизно у половині всіх випадків, значні ускладнення виникають лише під час 1% втручань. Навіть повна закупорка малих периферичних вен короткочасними катетерами, що використовуються для забору крові або введення ліків, зазвичай не має значення. Однак катетери різного полімерного складу та конфігурацій, призначені для довготермінового використання мають значний ризик тромбозу. Часто такі катетери застосовують для немовлят та дітей (часте введення медичних голок викликає травматизацію судин, психологічний дискомфорт). Зрештою, тромбоз може призвести до пошкодження органів або кінцівок і навіть смерті.

Поліуретани, завдяки своїй еластичності та пружності, є полімером вибору для шлуночкових допоміжних пристроїв та штучного серця. Вони викликали значний інтерес як матеріали, що контактують з кров'ю. У приматів такі поліуретани, як Pellethane™, які демонструють найбільш гідрофобні властивості поверхні, спричиняють найменше споживання тромбоцитів. Однак, під час дослідів на собаках ранні взаємодії тромбоцитів з поліуретанами значно варіюють. Отже, хоча поліуретани є універсальними та мають багато позитивних механічних властивостей, загалом неможливо передбачити біологічні реакції з ними у людей.

Гідрофільні полімери

Ці матеріали, які переважно адсорбують або поглинають воду (гідрогелі), спочатку презентували як сумісні з кров'ю, сприаючись на те, що багато природніх фосфоліпідів, що містять клітинні мембрани тканин, які контактують

з кров'ю, також є гідрофільними. Внаслідок цього, вода, як біоматеріал, теоретично взаємодіє з кров'ю мінімально.

Цікаво, що в дослідженнях на тваринах виявлено, що високогідрофільні полімери на основі акрилових та метакрилових полімерів та кополімерів, а також полівінілового спирту досить сильно споживають тромбоцити, хоча на них рідко утворюються тромби. Такі матеріали мають різну тромбогенність, але погано здатні утримувати тромб, тобто вони зруйновані тромбоцити стають мікроемболи в кровотоці.

На сьогодні поверхнево зв'язані гідрогелі (які не використовуються самостійно через те, що вони механічно слабкі, лише як покриття для інших матеріалів) не отримали широкого застосування для поліпшення сумісності з кров'ю.

Іншим гідрофільним полімером, який привертає значну увагу вчених і розробників, є поліетиленоксид. У деяких дослідженнях in vitro та на моделях тварин виявлено, що поверхня поліетиленоксиду відносно мало взаємодіє з білками та клітинами крові. Але придатність таких полімерів для реального використання як матеріалу пристроїв та довгострокових імплантатів не встановлена.

Метали

Метали, як правило, є тромбогенними і найчастіше застосовуються в у пристроях, від яких вимагається:

- механічна міцність (деталі механічних клапанів серця і ендоваскулярних стентів);
- електропровідність (електроди штучних водіїв ритму).

Стенти – це металеві сітчасті пристрої, розміщені всередині судин для збереження їх прохідності після процедури розширення діаметра просвіту (наприклад, після балонної ангіопластики). Найчастіше використовуються метали – нержавіюча сталь і тантал; однак обидва є тромбогенними. Тромбогенність дроту направляючого катетера, хоч і задокументована, є меншою клінічною проблемою через нетривале застосування.

Тромбогенність металевих імплантатів пов'язана з потенціалом спокою металу, який утворюється при контакті з кров'ю. Метали з негативними потенціалами, як правило, антитромбогенні, тоді як нержавіюча сталь має тенденцію до нейтрального потенціалу. Мідь, срібло та платина мають позитивний потенціал та надзвичайно тромбогенними.

Теоретично, зниження тромбогенності металевих стентів та компонентів клапанів серця можна досягнути за допомогою тонкошарового полімерного покриття, хоча клінічна ефективність цієї стратегії не доведена.Тому у пацієнтів із протезами клапанів серця (з металевими компонентами) та стентами зазвичай застосовується постійна системна антикоагулянтна терапія.

Вуглецеві матеріали

Клапани серця з компонентами, виготовленими з низькотемпературних ізотропних вуглецевих матеріалів (піролітичного вуглецю), успішно застосовуються у клінічні практиці. Ці матеріали використовуються для виготовлення механічних клапанів, які вимагають тривалої хімічної інертності, гладкості та зносостійкості. Причини поліпшення показників (зменшення частоти тромбозів та тромбоемболічних інсультів) цих матеріалів багатофакторні та пов'язані з конструкцією клапанів і природою поверхні вуглецевих матеріалів.

Було запропоновано застосування вуглецевого покриття для судинних трансплантатів з інших матеріалів, хоча такі пристрої ще не використовувались клінічно.

Ультратонкі плівкові покриття

Тонкі полімерні плівки різного хімічного складу можуть наноситись на полімери, метали та інші поверхні за допомогою методу плазмової полімеризації (полімеризація за допомогою тліючого розряду). Цей метод є вигідним, оскільки тонкі плівки (наприклад, 100 нм) можуть вибірково модифікувати хімічні властивості поверхні пристроїв, але не їх загальні механічні властивості або текстуру поверхні.

Полімери утворюють сильно з’єднані, ковалентні, інертні бар'єрні шари, які можуть протистояти адсорбції білків, ліпідів та інших елементів крові. Покриття на основі вуглеводневих мономерів, таких як метан, можуть утворювати міцні алмазоподібні покриття. Плазмові полімерні покриття були запропоновані для судинних трансплантатів та стентів на основі перспективних досліджень на тваринах, але в даний час клінічно не використовуються.

Мембрани

Мембрани, що контактують з кров’ю, використовуються для газообміну (наприклад, оксигенаторів крові) або обміну розчинених речовин (наприклад, діалізаторів). Велика площа поверхні мембрани, яка може перевищувати 2 $м^2$ та складність серцево-легеневих обхідних шляхів можуть спричинити споживання та порушення функції циркулюючих елементів крові, таких як тромбоцити, що

призводить до підвищеного ризику кровотеч або тромбоемболії. Активація запальних та імунних шляхів відповіді (система комплементу) через діалізні та оксигенаторні мембрани також може викликати значні ускладнення. Активація комплементу мембранами для діалізу частково пов'язана з наявністю поверхневих гідроксильних груп, особливо на целюлозних мембранах. Активація комплементу може бути значно послаблена використанням інших мембранних матеріалів, таких як полісульфон та полікарбонат.

Біологічні поверхні

Використання біологічних та біоактивних молекул як поверхневих покриттів пристрою може надати йому тромборезистентності. Такі матеріали включають фосфоліпіди та гепарин. Фосфоліпіди, такі як фосфорилхолін, компонент клітинних мембран, можуть орієнтувати полярні групи голівок у напрямку до водної фази та локально організовувати молекули води, подібно до поверхонь гідрогелю. Ці поверхні можуть мінімізувати взаємодію з білком та комплементом. У попередніх дослідженнях на тваринах стенти, покриті фосфорилхоліном, провідні дроти та судинні трансплантати показали покращену тромборезистентність.

Гепарин, природний антикоагулянтний глікозаміноглікан, вважається поверхневим покриттям, що здатний запускати інактивацію ферментів прокоагулянтів і, таким чином, пригнічувати розвиток тромбу. На тваринах було продемонстровано знижену тромбогенність та поліпшену біосумісність гепаризованих металевих стентів. У цих дослідженнях гепарин ковалентно прикріплювався до полімерного поверхневого покриття. Цей метод також застосовувався клінічно для гепаринового покриття катетерів та інших пристроїв, хоча залишається незрозумілим, чи покращена біосумісність є функцією антикоагулянтної активності гепарину, неспецифічних фізико-хімічних властивостей чи обох.

Хоча використання біологічних та біоактивних молекул як поверхневих покриттів пристрою є дуже перспективним, постає питання щодо можливих шкідливих наслідків процедур стерилізації, необхідних перед імплантацією.

Текстура поверхні

Гладкість поверхні – загально бажана особливість поверхонь, що контактують з кров'ю. У цьому контексті гладкою є поверхня з нерівностями, розміри яких менші, ніж у клітин (<1 мкм). Однак, іноді необхідне поглинання (обростання) імплантату тканиною або текстурування полімерів може збільшити механічну еластичність та довговічність. Таким чином, швейне кільце

механічних клапанів серця, зазвичай виготовляється з текстурованого поліетилентерефталату (Dacron ™), щоб забезпечити ріст і загоєння тканин, що пов'язано зі зменшенням тромбоемболічних подій. Судинні трансплантати, що використовуються для заміщення хворих судин, найчастіше виготовляються Dacron™ або текстурованого (розширеного) політетрафторетилену (ePTFE) (Goretex™). У трубчастій формі ці текстуровані полімери залишаються еластичними та стабільними протягом багатьох років після імплантації. Гладкостінні судинні трансплантати не вважаються придатними для тривалого застосування, оскільки гладкі поверхні можуть заважати вростанню тканин і загоєнню судинних стінок. Поверхні текстурованих імплантатів спочатку тромбогенні при контакті з кров'ю, хоча ePTFE показує меншу тромбогенність та тромбоемболічність, ніж протези Dacron ™. Ці трансплантати працюють прийнятно, коли діаметр трансплантата перевищує приблизно 6 мм, оскільки шар тромбу, який утворюється, не суттєво обмежує кровотік.

Модифікація поверхні біоматеріалів білками

Модифікація поверхні включає основи фізико-хімічних взаємодій між біоматеріалом та фізіологічним середовищем на молекулярному, клітинному та тканинному рівнях (зменшує адгезію бактерій, сприяє адгезії клітин).

В даний час існують різні методи характеристики та модифікації поверхні біоматеріалів та застосування фундаментальних понять у ряді біомедичних рішень.

Функція модифікації поверхні полягає у зміні фізичних та хімічних властивостей поверхонь для поліпшення функціональності вихідного матеріалу.

Модифікація поверхні різних типів біоматеріалів (кераміка, полімери, метали, композити) виконується для остаточного збільшення біосумісності.

У різних біомедичних програмах розробки імплантованих медичних приладів (таких як кардіостимулятори та стенти) слід оцінювати властивості поверхні / взаємодію білків із певним матеріалом.

Наприклад, може бути змінена поверхнева гідрофобність або гідрофільність матеріалу.

Модифікація поверхні може бути здійснена різними методами, які можна класифікувати за трьома основними групами: фізичними, хімічними та радіаційними.

Біоінтеграція є кінцевою метою, наприклад, в ортопедичних імплантатах (повне злиття між штучним імплантованим матеріалом та кістковими тканинами при хороших умовах біосумісності).

Модифікація поверхні матеріалу може поліпшити його біосумісність, і це може бути зроблено без зміни його об’ємних властивостей.

Властивості найвищих молекулярних шарів є критично важливими для біоматеріалів, оскільки поверхневі шари перебувають у фізико-хімічному контакті з біологічним середовищем.

Проблеми, які потрібно вирішити:

Хоча деякі біоматеріали мають хорошу біосумісність, вони можуть мати погані механічні або фізичні властивості, такі як зносостійкість, антикорозійність, змочуваність або змащення.

Фактори, що впливають на реакцію крові на серцево-судинні пристрої, досить численні і складні. Вибір матеріалу, як правило, обмежується вимогами щодо механічних властивостей та змінними вимогами до міцності та хімічної стійкості матеріалу. Тому інженерія серцево-судинних приладів має керуватися попереднім досвідом успішного клінічного застосування.

Тема 2

Клітинна реакція крові на чужорідний матеріал

Біоматеріали, які контактують з кров'ю можуть призвести до серйозних клінічних ускладнень:

1. тромбоз;
2. тромбоемболія;
3. руйнування або активація циркулюючих гемостатичних елементів крові;
4. активація запальних та імунологічних шляхів.

Важливою ланкою, що призводить до таких негативних клінічних наслідків, є клітинна реакція крові на чужорідний матеріал, яким є біоматеріал.

Імунна реакція організму на чужорідний матеріал може призводити до гострої і хронічної імунної відповіді.

Гостра реакція

Відразу після встановлення імплантат (і пошкодження тканин в результаті операції) призведе до гострого запалення.

Класичними ознаками гострого запалення є почервоніння, набряк, підвищення температури, біль та втрата функції.

Крововилив від пошкодження тканин призводить до активації системи згортання крові.

Тучні клітини вивільняють хемокіни, які активують ендотелій кровоносних судин. Кровоносні судини розширюються і стають проникними, що спричиняє почервоніння та набряк, пов'язані з гострим запаленням.

Активований ендотелій спричиняє екстравазацію плазми крові та білих кров'яних тілець, включаючи макрофаги, які трансмігрують до імплантату та розпізнають його як чужорідний матеріал.

Макрофаги виділяють оксиданти для боротьби з чужорідним тілом. Якщо антиоксидантам не вдається знищити чужорідне тіло, починається хронічне запалення.

Хронічна відповідь

Імплантація матеріалів, які не розкладаються, зрештою призводить до хронічного запалення та формування фіброзної капсули.

Високий рівень оксидантів активує фібробласти, які виділяють колаген, утворюючи фіброзну капсулу навколо імплантату.

Імунна система по-різному реагуватиме, якщо імплантат покритий білками позаклітинного матриксу.

Білки, що оточують імплантат, служать для "приховування" імплантату від вродженої імунної системи. Покритий білками позаклітинного матриксу імплантат, вже не розпізнається макрофагами як чужорідний.

В подальшому імплантат здатний продовжувати взаємодію з організмом, впливаючи на навколишні тканини. Наприклад, імплантат може покращити загоєння, виділяючи ангіогенні препарати.

Важливим фактором є механічний вплив біоматеріалів на тканини. Механізми впливу механічних сил на поведінку клітин та гомеостаз тканин вивчає механобіологія.

Спосіб координації клітинами своєї поведінки під час різних біологічних процесів, включаючи морфогенез, прогресування раку та ремоделювання тканин, значною мірою залежить від механічних властивостей зовнішнього середовища. На відміну від одиничних клітин, поведінка колективних клітин залежить від взаємодії не тільки з навколишнім позаклітинним матриксом, але і з сусідніми клітинами.

Клітини координують свої рухи, активно взаємодіючи між собою. Ці механізми регулюються механочутливими комплексами адгезії на межі поділу клітина-субстрат та з'єднання клітина-клітина, які реагують на фізичні сигнали, а також надалі передають їх. Механочутливість та механотрансдукція в адгезійних комплексах важливі для регулювання когезійності тканин і, отже, важливі для поведінки колективних клітин. Недавні дослідження показали, що фізичні властивості клітинного середовища, які включають в себе твердість матриці, топографію, геометрію та застосування зовнішніх сил, можуть змінити поведінку колективних клітин, організацію тканин та зумовлені клітиною сили. На основі цих висновків ми можемо почати формувати наше розуміння механобіології.

Клітини реагують на механічні сигнали, але субклітинні механізми недостатньо вивчені. Нещодавно з’ясувалось, що ядро – важлива механосенсорна органела в клітині, оскільки воно тісно пов’язане з цитоскелетом. Механічні сили, що діють на клітини, передаються через цитоскелет на поверхню ядра.

На ендотеліальні клітини судин in vivo впливають дві гемодинамічні сили: циклічна деформація через розтягнення стінки судини через трансмуральний

тиск та напруга зсуву – сила тертя, що генерується потоком крові. Напружений зсув діє на поверхню верхівкової клітини, деформуючи клітини у напрямку потоку крові; розтягування стінки має тенденцію деформувати клітини у всіх напрямках. Підвищена адгезія після постійної напруги зсуву була використана для розробки судинних протезів з безперервними моношарами ендотеліальних клітин.

Механічне розтягнення забезпечує підтримку судин за допомогою проліферації, ангіогенезу, утворення активних форм кисню, контролю тонусу судин та ремоделювання судин. Однак надмірна механічна розтягнутість, яка виникає під час гіпертонії, виявилася шкідливою, оскільки порушує ці процеси та спричиняє неадекватну реакцію клітин, що може призвести до серцево-судинних порушень. Механічне розтягування моделювалось in vitro шляхом регулювання інтенсивності розтягування для імітації фізіологічних та патологічних величин розтягування. Розтягування з низькою величиною 5–10% класифікуються як фізіологічне розтягування, тоді як розтягування на 20% і вище вважаються патологічним розтягуванням (подібне відбувається під час гіпертонії).

Різниця в інтенсивності розтягування може активувати різні нижні сигнальні шляхи, що визначають функціональні, біологічні та фенотипові особливості клітин.

Твердість матриці (стійкість до деформації), одна з багатьох механічних сил, що діють на клітини, все частіше оцінюється як важливий посередник поведінки клітин.

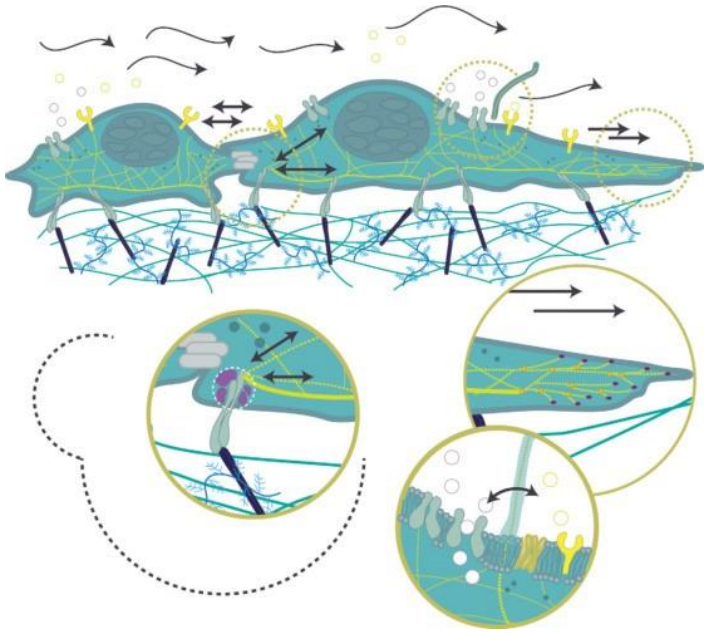


Рис. 2.1. Процес механотрансдукції

Механотрансдукція - механізми, за допомогою яких клітини перетворюють механічний стимул на електрохімічну активність. Ця форма сенсорної трансдукції відповідає за низку органів чуття та фізіологічні процеси в організмі, включаючи пропріоцепцію, дотик , рівновагу та слух. Основний механізм механотрансдукції передбачає перетворення механічних сигналів в електричні або хімічні сигнали.

Тромбоцити, найменші з наших клітин крові, у своїй неактивній формі нагадують пластинки. Активація чужорідними агентами спричиняє швидкий морфогенез тромбоцитів від дискоїдних клітин до амебоїдних клітин, які мають розширені псевдоподії, збільшуючи площу поверхні для сприяння взаємодії з патогенами або інфікованими тканинами. Активовані тромбоцити одночасно переносяться до місць зараження, де вони залучають патогени та вивільняють захисні пептиди. Тромбоцити відчувають подразники, що походять від пошкодженого або інфікованого ендотелію, та каталізують утворення тромбоцитарних згустків, необхідних для гемостазу. Таким чином, тромбоцити виконують чіткі функції на перетині протимікробної та гемостатичної захисних сил господаря.

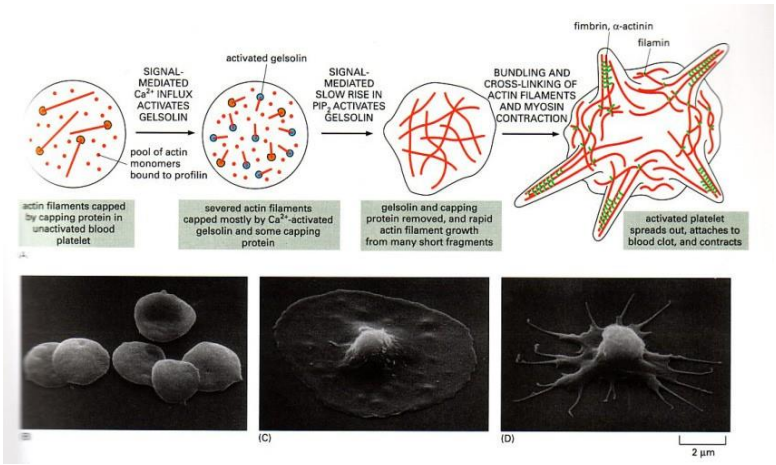


Рис. 2.2. Морфогенез тромбоцитів

Роль тромбоцитів у гемостазі та тромбозі залежить від складного балансу активаторних та гальмівних сигнальних шляхів. Інгібуючі сигнали, що виділяються із здорової судинної системи, пригнічують активацію тромбоцитів за відсутності агоністів рецепторів тромбоцитів.

Сигнали активації, присутні в місці пошкодження, ініціюють активацію тромбоцитів і утворення тромбу; згодом ендогенні регулятори негативної сигналізації гасять активаційні сигнали для контролю зростання тромбу.

Розуміння складної взаємодії між активаторною та інгібуючою сигнальними мережами є проблемою, яка виникає при вивченні біології тромбоцитів, і вимагає системного підходу.

Важливо вивчити ключові моменти регуляції та сигналізації тромбоцитів, які підтримують тромбоцити в стані спокою, опосередковують активацію, викликаючи утворення тромбу, або забезпечують негативний зворотний зв'язок.

Виділяють три шляхи утворення тромбів крові:

1. "внутрішня" система згортання крові, що включає "каскад" етапів ферментативної активації, який починається з поверхневої активації глікопротеїну, фактора XII (фактор Хагемана), і закінчується утворенням на поверхні фібрину;
2. "зовнішня" система згортання крові, ініційована вивільненням тканинного фактора (тромбопластину), який може викликати каскад ферментних реакцій (у послідовності, подібній до внутрішньої системи), що також призводить до відкладення фібрину;
3. адгезія та агрегація тромбоцитів, що призводить до утворення тромбоцитарного або «білого» тромбу.

Гемодинамічні особливості артеріальних судин сприяють утворенню тромбів, що складаються здебільшого з тромбоцитів ("білі тромби"). Низька швидкість кровотоку, характерна для венозних судин, сприяє розвитку тромбів, що складаються з еритроцитів і тромбоцитів, зафіксованих у фібриновій сітці («червоні тромби»).

Часто процеси утворення тромбів і тромболізу призводить до тривалого споживання тромбоцитів і використання факторів згортання крові. Це може призводити до тромбоцитопенії і дефіциту факторів згортання крові, і, як наслідок, порушення згортання крові.

Адсорбція білка починається майже миттєво після встановлення циркуляції через трансплантат. Спочатку найбільше взаємодіє з поверхнею альбумін. Різні білки мають різну спорідненість до поверхонь, може відбуватися десорбція білка з подальшою адсорбцією іншого білка. Ця динамічна взаємодія білок-поверхня називається ефектом Вромана, і, ймовірно, впливає на всі інші взаємодії крові та матеріалу, включаючи тромбогенність та загоєння судин.

Глікокалікс сприяє конкретній біовзаємодії для клітинних комунікацій та запобігає неспецифічній адсорбції білка та клітинній адгезії завдяки підтримці гідрофільного стеричного бар'єру поблизу поверхні ендотелію.

Адгезія тромбоцитів до поверхні починається швидко і на неї впливає концентрація фібриногену, адсорбованого на поверхні.

Адгезія тромбоцитів часто супроводжується реорганізацією цитоскелета та активованою дегрануляцією тромбоцитів. Виділяються біоактивні речовини, що призводять до ще більшої реакції тромбоцитів.

Продукти вивільнення тромбоцитів включають тромбоксан А2, що звужує судини, спричиняє агрегації тромбоцитів та адгезії нейтрофілів. Тромбоцитарний фактор-4 збільшує агрегацію тромбоцитів та інгібує циркулюючі протеази. Фактор росту, що виділяється під час дегрануляції тромбоцитів (PDGF), є хемотаксичним та мітогенним для фібробластів та клітин гладких м'язів і може брати участь у псевдоінтімальной гіперплазії.

Біоматеріали можуть активувати як класичні, так і альтернативні шляхи комплементу, що призводить до генерації С5а. Ступінь активації комплементу залежить від використовуваного матеріалу; наприклад, Dacron викликає більшу активацію, ніж ePTFE. Генерований С5а є сильно хемотаксичним для моноцитів, які, ймовірно, відіграють важливу роль у регуляції інших тканинних реакцій.

Циркулюючі поліморфноядерні лейкоцити осідають на поверхні матеріалу у відповідь на хемоаттрактанти, включаючи С5а та лейкотрієн В4 (LTB4). Продукти поліморфнодерних лейкоцитів, включаючи продукти метаболізму кисню, можуть погіршити реендотелізацію.

Нейтрофіли також прилипають до ендотеліальних клітин, що ростуть по анастомозу. На додаток до продуктів метаболізму кисню, активовані нейтрофіли виробляють протеази (колагеназу та еластазу), які перешкоджають загоєнню.

Циркулюючі моноцити прилипають до поверхні та інфільтруються у внутрішню капсулу, диференціюючись в активовані макрофаги. Ці макрофаги здатні синтезувати багато біоактивних речовин, які можуть відігравати центральну роль у регулюванні загоєння судинних трансплантатів.

Як тільки тромбоцити, клітини крові та мезенхімальні тканини осідають на поверхні, вони можуть активізуватися та виділяти біоактивні речовини, які регулюють загоєння. Тромбоцити, макрофаги, ендотеліальні клітини та клітини гладких м'язів здатні виробляти фактори росту.

Тема 3

Зовнішнє очищення крові

Екстракорпоральне очищення крові головним чином використовується в інтенсивній терапії як метод очищення крові від токсинів, у разі порушення функціонування нирок.

Методи екстракорпорального очищення крові

Діаліз	**Аферез**
Гемодіаліз	*Терапевтичний аферез*
Гемофільтрація	Адсорбція
Гемодіафільтрація	Цитаферез
Перитонеальний діаліз	Обмін плазмою
	Каскадна фільтрація
	Діагностичний аферез

Аферез – це екстракорпоральне видалення компонентів крові.

• Гемаферез: видалення з крові

• Плазмаферез: видалення з плазми

Діаліз – це в основному дифузне видалення через напівпроникну мембрану

• Гемофільтрація: конвективне виведення рідини + токсинів

• Гемодіафільтрація: поєднання гемодіалізу та гемофільтрації

Гемодіаліз - екстракорпоральний метод замісної ниркової терапії, при якому очищення крові пацієнта здійснюється в зовнішньому пристрої. Очищення крові відбувається за рахунок переносу метаболітів через напівпроникну мембрану з крові пацієнта в діалізуючий розчин. Основною перевагою даного методу є висока ефективність очищення крові і висока швидкість переносу метаболітів і ультрафільтрації. Основним недоліком гемодіалізу є великий обсяг використання діалізуючого розчину, що відображається на розмірах апарату. На даний час процедуру гемодіалізу можна проводити як в діалізних центрах, так і в домашніх умовах.

Для забезпечення проведення програмного гемодіалізу застосовується комплекс апаратури, що включає системи очищення води, апарати для приготування

концентрату діалізуючого розчину і апарати "штучна нирка". Системи очищення води складаються з двох головних блоків - блок попереднього очищення і блок зворотного осмосу для остаточної обробки води. Апарати приготування концентрату діалізуючого розчину є ємності різного об'єму, в яких відбувається змішування хімічно чистої води і солей в заданих пропорції і обсязі. Апарат "штучна нирка" є складним інженерним пристроєм, що складається з блоку управління і контролю, гідравлічної системи, що здійснює приготування і циркуляцію діалізуючого розчину і спеціальних модулів, таких як насоси крові, гепариновий насос, блок пастки повітря і ін.

Гемодіалізатор – масообмінний пристрій, в якому відбувається безпосередній процес очищення крові від токсинів і корекція водно-електролітного балансу, кислотно-лужного стану (буферні системи). Основою діалізотерапії є фізико-хімічні процеси – дифузія і конвекція (ультрафільтрація), швидкість і ступінь яких залежать від виду напівпроникної діалізної мембрани, її поверхні, швидкості кровотоку і величини трансмембранного тиску. Сьогодні частіше застосовуються капілярні діалізатори, які складаються з пучка порожнистих волокон, всередині яких протікає кров хворого, а навколо циркулює діалізуючий розчин. Через стінки цих капілярів і здійснюється дифузія з ультрафільтрацією, що нгадує функцію природної базальної мембрани клубочка. Звичайні сеанси гемодіалізу проводяться на напівпроникних мембранах з відносно низьким коефіцієнтом масопереносу – на так званих низькопроникних (low- flux) мембранах. При розвитку ряду ускладнень, пов'язаних з накопиченням в організмі класу середньомолекулярних токсинів, що погано проходять через звичайні напівпроникні мембрани, використовують діалізатори з високопроникними (high-flux) мембранами.

Діалізуючий розчин - один з найважливіших компонентів програмного гемодіалізу, за допомогою якого відбувається очищення крові від уремічних токсинів через напівпроникну мембрану діалізаторів. До його складу входять натрію хлорид, калію хлорид, кальцію хлорид, магнію хлорид і буферна основа. Приготування і циркуляція даного розчину в діалізаторі здійснюється і контролюється автоматично сучасними апаратами "штучна нирка".

При **гемофільтрації** діалізуючий розчин не використовується. У гемофільтрів під дією трансмембранного тиску, відбувається утворення і видалення фільтрату крові з токсинами і надлишком електролітів, що містяться в ньому. Замісний розчин (субститут) вводиться зі спеціальних пластикових ємностей або безпосередньо з блоків апарату в артеріальну магістраль кровопровідного контуру (предилюція), або в венозну (постдилюція) магістраль. Різниця між

обсягом фільтрату і обсягом заміщення визначається на основі наявності надлишкової рідини у пацієнта. Даним методом добре видаляються середньомолекулярні токсини, але низькомолекулярні гірше, ніж при звичайному гемодіалізі.

Було запропоновано метод **гемодіафільтрації**, при якому до вищеописаного методу додається циркуляція діалізуючого розчину, що забезпечує процес дифузії. Пристрій є технічно більш складним, але ефективність лікування значно підвищується. В обох випадках потрібна велика кількість стерильного замісного розчину, що робить процедуру дорожчою. Тому деякі моделі апаратів "штучна нирка" мають додаткові блоки, призначені для приготування замісного розчину зі звичайних концентратів солей і хімічно чистої води. Перед надходженням їх в систему кровообігу проводиться очищення шляхом проходження субституту через мембранні фільтри. Цей метод отримав назву "заміщення on line".

Перитонеальний діаліз - метод інтракорпоральной замісної ниркової терапії, при якому очищення крові пацієнта здійснюється в черевній порожнині пацієнта, що виконує роль обмінного пристрою (рис. 3.1). На відміну від гемодіалізу перитонеальний діаліз не впливає на кровоносну систему пацієнта. Однак перитонеальний діаліз поступається ефективністю очищення крові і ультрафільтрації гемодіалізу. Також ефективність перитонеального діалізу може з часом зменшуватися внаслідок зміни властивостей очеревини. Одним з найголовніших недоліків перитонеального діалізу є необхідність частої заміни розчину для перитонеального діалізу (від 4 до 6 разів на добу), що збільшує ймовірність зараження очеревини пацієнта.

Гемосорбція - метод детоксикації, заснований на виведенні з крові хворого токсичних субстанцій шляхом перфузії через адсорбенти в екстракорпоральному контурі.

Технічно метод гемосорбції набагато простіший порівняно з гемодіалізом або гемодіафільтрацією і для свого здійснення вимагає лише роликовий насос, стерильну разову систему для гемосорбції і той чи інший гемосорбент і антикоагулянт (гепарин або низькомолекулярний гепарин (фраксипарин, Клексан).

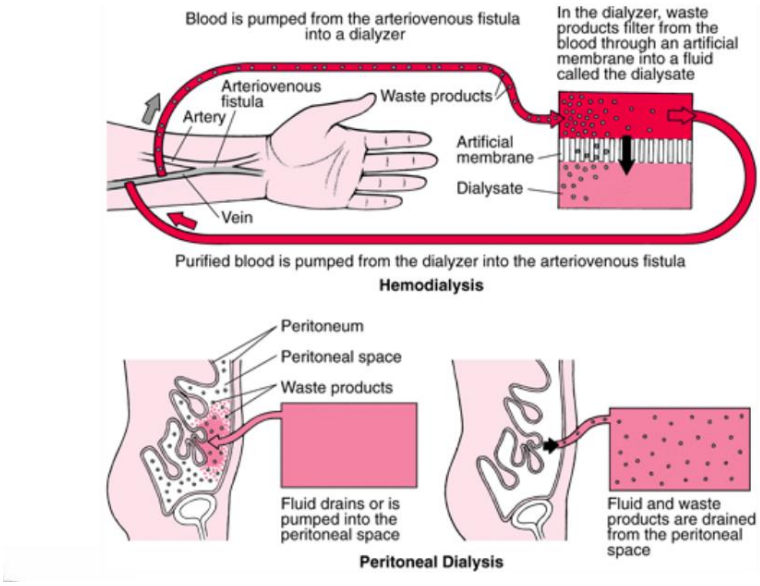


Рис. 3.1. Перитонеальний діаліз

Плазмаферез – метод екстракорпоральної детоксикації, що базується на видаленні крові хворого, з подальшим відділенням плазми шляхом центрифугування або розділенням крові на мембранних сепараторах і заміщенням плазми хворого донорською плазмою, альбуміном та іншими плазмозаміщуючими розчинами.

Його дія спрямована на:

1. швидке видалення токсичних речовин;

2. швидке зменшення патологічних факторів або клітин як первинна терапія основного захворювання;

3. видалення залишкових факторів у випадках, коли захворювання контролюється або прогресування його зупинено, але залишається ризик розвитку ускладнень через циркулюючі в крові патологічних субстанції.

На сьогоднішній день крім традиційного плазмаферезу використовується і **цитаферез** - метод екстракорпоральної гемокоррекції, заснований на виведенні певних клітинних компонентів крові хворого і заміні їх компонентами, препаратами крові та (або) кровозамінників. Розрізняють такі варіанти цитафереза: еритроцитаферез, тромбоцитаферез, лімфоцитаферез,

гранулоцитаферез, стемаферез (виведення стовбурових клітин крові). Як правило цитаферез доповнює специфічні ефекти дії плазмаферезу.

Екстракорпоральна підтримка печінки

Однією з найновіших методик екстракорпорального очищення крові стала методика екстракорпоральної підтримки печінки (ЕПП), яка, власне, поєднує кілька способів ЕОК - плазмаадсорбцію і гемодіаліз. Використовують такі її різновиди: систему MARS (Teraclin-Gambro, Німеччина) і Prometheus (Fresenius, Німеччина).

Перший метод був названий описовим терміном «Система поворотної молекулярної адсорбції», або скорочено в англійській абревіатурі MARS. Новий метод комбінованого використання пролонгованої гемодіафільтрації і адсорбції різко розширює можливості консервативної допомоги пацієнтам з печінковою недостатністю. В ході процедури вдається досягти виведення токсинів, зв'язаних альбуміном, паралельно з видаленням водорозчинних токсинів. Ключовим моментом технології MARS є перенесення через високопроникну діалізну мембрану токсинів, що мають спорідненість з альбуміном з крові. Акцептором виступає донорський людський альбумін, що циркулює в замкнутому контурі. На відміну від гемодіалізу, який має тільки два контури - крові пацієнта і діалізної рідини, і який виводить тільки водорозчинні речовини, при процедурі за технологією MARS є 3 контури: крові пацієнта, діалізної рідини, білковий контур.

Принциповою відмінністю методики Prometheus (рис. 3.3) є відсутність в контурі циркуляції донорського альбуміну, а наявність спеціальних фільтрів, які очищають власний альбумін пацієнта від токсинів. Внаслідок цього «очищений» альбумін хворого знову йде в контур циркуляції для вилучення патологічних токсинів з крові.

Фактори адсорбції

• Водневий зв'язок (сили між полярними групами)

• сили Ван дер Ваальса (сили між індукованими диполями)

• Іонні взаємодії

• Гідрофобні взаємодії



Рис. 3.2. Система Prometheus

Адсорбенти

Специфічні адсорбенти	**Неспецифічні адсорбенти**
Антитіла, іммобілізовані на інертному матриксі	(Co) Полімери: PS, PS-DVB тощо; • Внутрішні пори • Велика поверхня для адсорбції
	Зазвичай нейтральні смоли (гідрофобні взаємодії) або іонообмінники (іонні взаємодії)

Матеріали, що використовуються для екстракорпорального очищення крові:

• Полівінілхлорид (ПВХ)

• Полікарбонат

• Поліуретан

• Полісульфон

• Силікон

• Полістирол

Для підвищення біосумісності між кров'ю і біоматеріалами використовують антикоагулянтну терапію (гепарин та цитрат).

Література

1. Презентації BIOART
2. HOFFMAN, A. S. (1982). Blood—Biomaterial Interactions: An Overview. Biomaterials: Interfacial Phenomena and Applications, 3–8. doi:10.1021/ba-1982-0199.ch001
3. Hanson, S. R. (2016). Chapter 6 Blood–material Interactions. Handbook of Biomaterial Properties, 621–630. doi:10.1007/978-1-4939-3305-1_33
4. Salzman, E.W., Merrill, E.W. and Kent K.C. (1994) Interaction of blood with artificial surfaces, in Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice, 3rd edn, R.W. Colman, J. Hirsch, V.J. Marder, and Salzman, E.W. (eds), J.B. Lippincott, Philadelphia, pp. 1469–85.
5. Greisler, H. P. (1990). Interactions at the Blood/Material Interface. Annals of Vascular Surgery, 4(1), 98–103. doi:10.1007/bf02042699
6. Спас, Владимир Владимирович. Курс лекций по реаниматологии и интенсивной терапии [Текст] : пособие для студ. леч. педиатр., мед.-психол. фак-тов, врачей-стажеров и клин. ординаторов / В. В. Спас, Р. Э. Якубцевич ; М-во здравоохр. Респ. Беларусь, УО "Гродн. гос. мед. ун-т", Каф. анестезиологии и реаниматологии с курсом клин. биохимии. - Гродно : ГрГМУ, 2009. - 307 с.

This project has been funded with support from the European Commission. This publication / communication reflects the views only of the author, and the Commission cannot be held responsibility for any use which may be made of the information contained therein.

Додаток

Завдання для самостійної роботи

Підготовка презентацій на теми:

1. Моделювання поверхневих ефектів звичайних (традиційних) полімерів під час взаємодії з кров'ю.
2. Моделювання поверхневих ефектів гідрофільних полімерів під час взаємодії з кров'ю.
3. Моделювання поверхневих ефектів металів під час взаємодії з кров'ю.
4. Моделювання поверхневих ефектів вуглецевих матеріалів під час взаємодії з кров'ю.
5. Моделювання поверхневих ефектів біологічних поверхонь під час взаємодії з кров'ю.
6. Методи підвищення біосумісності біоматеріалів з кров'ю.
7. Гостра реакція імунної системи на чужорідний матеріал.
8. Хронічна реакція імунної системи на чужорідний матеріал.
9. Моделювання взаємодії білків крові із поверхнею біоматеріалу.
10. Роль тромбоцитів у гемостазі та тромбозі.
11. Роль зовнішньоклітинного матриксу у процесах тромбоутворення.
12. Роль глікокалікса у процесах тромбоутворення.
13. Розрахунок адекватності екстракорпорального очищення крові.
14. Розрахунок адсорбтивної ємності адсорбентів.