

Упровадженням зазначених заходів ми досягли значних успіхів у підвищенні рівня інфекційної безпеки компонентів донорської крові і за останні 10 років не маємо ускладнень і тяжких реакцій у клінічній гемотрансфузіології.

Для підвищення рівня кваліфікаційних знань лікарів і середнього медперсоналу лікувальних закладів ми не менше одного разу на два роки в кожній лікарні проводимо одноденні семінари з трансфузіології, де розглядаються такі питання:

- анатомія і фізіологія серцево-судинної системи;
- особливості гемотрансфузіології при різних патологіях;
- фармакодинаміка компонентів донорської крові та її залежність від патогенезу захворювань;
- залежність обмінних процесів від якісного і кількісного стану крові;
- функції крові та механізм обмінних процесів;
- групи крові та їх підбір;
- техніка переливання і необхідна документація;
- юридичні аспекти гемотрансфузіології та необхідна документація.

ВПЛИВ МЕТОДІВ ЗАГОТІВЛІ ТА УМОВ ЗБЕРІГАННЯ НА ЯКІСТЬ СВІЖОЗАМОРОЖЕНОЇ ПЛАЗМИ

*О.І. Малигон, лікар-трансфузіолог,
В.В. Яворський, головний лікар,
О.А. Богданчикова, інженер-технолог*

*КЗОЗ «Харківський обласний центр служби крові»
м. Харків, Україна*

Актуальність. Становлення компонентної трансфузійної терапії, стандартизація принципів призначення, застосування компонентів крові та її препаратів вимагають уніфікації технологічних етапів виготовлення середовищ, цільового призначення окремих продуктів, різноманіття яких зумовлене виробничими можливостями закладів служби крові [1]. Нині в арсеналі ЗСК доступним є автоматизоване устаткування, що дозволяє відповідати вимогам сучасної трансфузіології, — плазмаферез (ПФ), цитаферез, системи лейкоцитарних фільтрів, які різняться не тільки стадією їх виробничого використання, але й походженням матеріалу мембрани фільтра, механізмами, покладеними в основу їх дії. Не сприяє стандартизації виробничих технологій у ЗСК великий вибір гемокоосервантів, запропонованих фірмами-виробниками.

Визначення ключових показників якості СЗП з урахуванням відмінностей технологічних етапів її заготування: спосіб отримання плазми, проведення лейкофільтрації, вид гемокоосерванту, охолодження й зберігання при різних низькотемпературних режимах та їх порівняння надасть розуміння походження розбіжностей між дозами СЗП та сприятиме оптимізації виробничих етапів її заготування.

Мета дослідження. Оптимізація етапів заготівлі та режимів зберігання СЗП для забезпечення стабільного рівня збереження її коагуляційних властивостей за показниками активності факторів VIII та IX.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведені на базі КЗОЗ «Харківський обласний центр служби крові». Матеріалом дослідження була донорська плазма від 140 донорів, яку отримували методом плазмаферезу (Autopheresis-C, Baxter Inc., США) та первинного фракціонування одиниць крові, яке здійснювали за двома режимами: I — при 1250 g протягом 20 хв, температура (4–6) °C; II (з видаленням ГЛШ) — при 2150 g протягом 20 хв, температура (20–24) °C (MPW-400, Польща). У роботі були використані системи контейнерів

з гемококсервантами: «Глюгипир» (Ват «Синтез», Росія); CPDA-1 (Ravimed, Польща); CPD (Tegimo, Японія). Фільтрацію компонентів проводили у 2-годинний термін від моменту експузії з використанням систем «LeucoStar WB-Pall» (Pall Medical, Німеччина) для консервованої крові (ФКК) та «Лейкосеп ПЛ» (ЗАТ НПП «Інтер ОКО», Росія) — для плазми (ФПл).

На вагах (SW-2.SD, CAS Corp. Ltd, Корея) з урахуванням коефіцієнту перерахунку визначали об'єм вилученого компонента. У зразках плазми досліджували концентрацію загального білка уніфікованим методом (PV 1251C, Білюрусь), білкових фракцій методом електрофорезу [2], активність факторів VIII та IX коагулометричним методом [3] на АП4-02П (ЗАТ НПП «Техномедика», Росія), рН (рН-метр, Seven Easy, Mettler Toledo, Японія), концентрацію залишкових еритроцитів, тромбоцитів та лейкоцитів [4]. Інші експериментальні зразки (2 мл) розмішували у камерах «Дніпро МТО» (Україна) для зберігання, які у подальшому вивчали для визначення факторів VIII та IX. Загальний термін спостереження становив 24 місяці, досліджені температури зберігання СЗП — -20°C , -40°C та -70°C . Аналіз даних проводили з використанням методів описової статистики [5] за допомогою програмного пакета Statistica 10.

Результати та їх обговорення. Метод ПФ дозволяє отримувати дози плазми об'ємом 800,0 (799,5; 800,5) мл, що у 3–3,5 рази вище від об'єму компонента, заготовленого методом фракціонування окремих одиниць крові. Уміст кількості залишкових клітин у досліджених зразках також свідчить про перевагу використання технології ПФ, що передбачає сепарацію плазми через мембранний фільтр та фракціонування за режимом II, наслідком чого є концентрування лейкоцитів та тромбоцитів у ТЛЦ та його відокремлення. Аналіз показників білка та білкових фракцій свідчить, що плазма, отримана методом фракціонування, характеризується більшим вмістом загального білка і альбуміну ($p < 0,05$), тоді як для методу ПФ характерний вищий вміст β - та γ -глобулінів у плазмі. Найвищий рівень активності факторів VIII та IX, визначений у плазмі, заготовленій ПФ ($p < 0,05$), що пов'язане, головним чином, з меншим розведенням плазми гемококсервантом. При порівнянні методів центрифугування встановлена перевага режиму II, що обумовлено високими значеннями g та температури — за таких умов відбувається більше концентрування білкових комплексів в одиниці об'єму плазми та менша активація коагуляційних ланок *ex vivo*. Необхідно відзначити, що застосування четверної системи контейнерів у технології з видаленням ТЛЦ виключає можливість зовнішньої контамінації компонентів, що є додатковою його перевагою.

Показники якості плазми, отриманої центрифугуванням крові (режим I), заготовленої на CPD, «Глюгипир» та CPDA-1, не залежали від

виду використаного гемококсерванту. Разом із цим, визначена зворотна достовірність кореляція між рівнем фактора VIII і рН ($p = 0,04$). Відмічається збільшення активності фактора I, II (1,05; 1,2) МО/мл, I, II (1,02; 1,24) МО/мл та I, II (1,1; 1,28) МО/мл при менших значеннях рН 7,3 (7,3; 7,4) для CPD і CPDA-1 та 6,9 (6,8; 6,9) для системи «Глюгипир». Після використання лейкоцитарних фільтрів суттєво знижується концентрація залишкових еритроцитів та лейкоцитів ($p < 0,05$), паралельно відмічено незначні втрати об'єму ФКК плазми (3–4)%, для ФПл втрати об'єму не визначені. Спостерігали перерозподіл білків у фільтрованої плазми: зниження концентрації загального білка, альбуміну та γ -глобулінів на фоні збільшення фракції β -глобулінів, але вміст факторів VIII та IX достовірно не змінювався.

Таким чином, при виготовленні донорської плазми на показники якості найбільшою мірою впливають метод її заготування та застосування лейкофільтрації, вплив гемококсерванту не виражений.

При дослідженні температурних режимів зберігання СЗП було встановлено, що вже після 24 годин при -20°C , знижується вміст фактора VIII незалежно від методу заготування СЗП, а після 6 місяців обов'язкового терміну карантинізації втрати фактора VIII сягають 32% від значень до заморожування. Показники факторів VIII та IX у зразках СЗП, що заморожувалась та зберігалась при -40°C та -70°C , свідчать про високий рівень їх збереження. Найбільш інтенсивні зміни отримані у зразках СЗП, заготовленої фракціонуванням за режимом I. Встановлено, що СЗП, заготовлена методом ПФ та фракціонуванням за режимом II, придатна для зберігання при -20°C протягом 6 місяців, активність фактора VIII в ній була вищою за 0,7 МО/мл, а СЗП, отримана за режимом I, може бути сировиною для виробництва препаратів стабільного фактора IX і не є придатною як джерело фактора VIII.

Не встановлений вплив гемококсервантів CPD, CPDA-1 та «Глюгипир» на результат збереження факторів VIII та IX при зберіганні зразків СЗП. Аналіз показників факторів VIII та IX у фільтрованої СЗП вказує на менш інтенсивні зміни коагуляційних властивостей порівняно з нефільтрованими зразками.

Загалом, заморожування при режимі -20°C спричиняє інтенсивне падіння фактора VIII незалежно від методу заготування СЗП та виду лейкоцитарного фільтра. Температурні режими заморожування та зберігання -40°C та -70°C у подальшому з технологією заготування плазми методом ПФ та фракціонуванням за режимом II створюють умови, що забезпечують високий рівень збереження коагуляційних властивостей СЗП.

Висновки. Активність факторів згорання VIII та IX у плазмі, заготовленій методом автоматизованого ПФ, була найбільшою, але технологія фракціонування консервованої донорської крові за

режимом II також забезпечує високу концентрацію факторів VIII, IX та низький вміст залишкових клітин крові у плазмі без залучення додаткового устаткування (лейкоцитарних фільтрів), що має першочергове використання для забезпечення закладів охорони здоров'я, дозволяє виготовляти компоненти для педіатричної практики порівняно з плазмодо, отриманою методом фракціонування за режимом I. Не заресстровано впливу гемококсерванту на концентрацію загального білка, розподіл глобулінів, як на етапі вилучення плазми з однієї крові, так і при її зберіганні у замороженому стані при температурах -20°C , -40°C та $+70^{\circ}\text{C}$. Установлено, що проведення лейкофільтрації у двогодинний термін від моменту екфузії не змінює показників активності факторів VIII та IX на фоні суттєвого зниження залишкових клітин, сприяє стабільному збереженню факторів згортання у СЗП при її тривалому низькотемпературному зберіганні у порівнянні з нефільтрованою плазмою.

Список використаних джерел

1. Воробьев А.И. Компонентное донорство / А.И. Воробьев // Новое в трансфузиологии. — 2013. — Вып. 34. — С. 5–11.
2. Goff A. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradient / A. Goff, C. Obermaier S., G. Boguth [et al.] // Electrophoresis. — 2000. — Vol. 21, N 3. — P. 1037–1053.
3. Козлов А.А. Лабораторная диагностика системы гемостаза / А.А. Козлов, Л.В. Натрус, П.А. Черновол, А.Л. Мелкумян. — М.: Литтера, 2011. — 136 с.
4. Перфильева Е.А. Совершенствование подсчета клеток в компонентах крови / Е.А. Перфильева, Л.Г. Плесская, Т.В. Фокина // Гематология и трансфузиология. — 2003. — Т. 41, № 2. — С. 12–16.
5. Ланг Т.А. Как описывать статистику в медицине: анот. рук. для авторов, редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сесик; пер. с англ. под ред. В.П. Леонова. — М.: Практ. медицина, 2011. — 480 с.

РАЗРАБОТКА КРИОЗАЩИТНЫХ СРЕД ДЛЯ ЗАМОРАЖИВАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

А.В. Николенко, к. биол. н., ст. науч. сотр.,
О.В. Вязовская, к. биол. н., мл. науч. сотр.,
В.В. Чеканова, к. биол. н., ст. науч. сотр.

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины
г. Харьков, Украина

Трансфузия эритроцитарной массы является одним из немногих эффективных методов лечения патологических состояний, при которых наблюдается недостаточная оксигенация тканей. Несмотря на то, что ежегодно в мире заготавливается более 75 миллионов единиц разцов крови [4], часто возникают ситуации острого дефицита эритроцитов. Поэтому усилили многих исследователей направлены как на разработку кровезамещающих растворов — переносчиков кислорода (модифицированный гемоглобин, перфторуглеродные соединения и др.), так и на создание запасов функционально полноценных эритроцитов путем их замораживания при низких (-196°C) и умеренных (-60°C и -80°C) температурах. В связи с этим актуальными остаются вопросы создания безотмывочных методов криоконсервирования эритроцитов на основе неуроникающих криопротекторов, что значительно упрощает процедуру замораживания-отогрева. Оксигенированные производные ряда полиолов (этиленгликоля, глицерина) заслуживают внимания как высокомолекулярные неуроникающие вещества, на основе которых возможна разработка эффективных многокомпонентных сред для низкотемпературного консервирования эритроцитов человека [3].

Цель работы. Исследование сохранности эритроцитов после замораживания-отогрева в зависимости от состава криозащитных сред на основе оксигенированного этиленгликоля.

Материалы и методы. Эритроциты получали из донорской крови человека, заготовленной на гемококсерванте «Глюцифир» и хранившейся не более 2-х суток в холодильнике ($+3^{\circ}\text{C}$). Исследовались криозащитные среды на основе оксигенированного этиленгликоля (ОЭМГ) — криопротектора экзоцеллюлярного механизма действия, полученного путем модификации этиленгликоля (метилового эфира этиленгликоля) включением в его молекулу этоксигруп ($\text{O}-\text{C}_2\text{H}_5-\text{C}_2\text{H}_4$).