

Ключевые слова: препараты плазмы крови, электрофорез, агароза, альбумин, иммуноглобулины направленного действия, полибиолин.

USING THE METHODS OF ELECTROPHORESIS FOR THE DRUGS FROM DONOR BLOOD PLASMA QUALITY CONTROL

M. I. Voronyak¹, N.F. Mosinh¹, H.O. Potyomkina², I.M. Parobetska²

¹SI «Institute of Blood Pathology and Transfusion Medicine of NAMS of Ukraine»,

²Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Summary. *We describe the use of electrophoresis agarose gels to verify the quality of drugs in blood plasma.*

Key words: *drug plasma electrophoresis, agarose, albumin, immunoglobulins directed action, polibiolin.*

На сьогоднішній день основним джерелом одержання алогенних компонентів і препаратів є донорська кров. Хоча біотехнологія дозволила створити деякі рекомбінантні препарати (альбуміну та факторів згортання), проте альтернативи донорським компонентам та більшості препаратів крові на даний час немає. Згідно сучасних вимог технологічний процес перероблення плазми передбачає ряд операцій (зокрема вірусну інактивацію, ультрафільтрацію і хроматографію), які можуть суттєво впливати на якість кінцевого продукту. Тому необхідна перевірка якості готових препаратів [1–4]. Одним з таких методів є електрофорез, основний принцип якого полягає в тому, що молекули білка, які знаходяться в розчині і володіють електричним зарядом, під дією сил електричного поля зміщуються у бік протилежно зарядженого електрода. Швидкість міграції таких молекул в середовищі з однією і тією ж силою електричного поля залежить від їхнього розміру і величини електричного заряду. Щодо білкових молекул завдяки їх амфотерним властивостям напрямок і швидкість переміщення залежать від рН середовища, в якому відбувається міграція. Заряд різних білків в розчинах з однаковими рН залежить від амінокислотного складу, так як дисоціація білкових ланцюгів приводить до утворення груп, що мають позитивний або негативний заряд. Під впливом сил електричного поля компоненти системи розподіляються згідно їх заряду, здобуваючи відповідну швидкість руху, тобто відбувається електрофоретичне розділення [1]. Знак і величина електричного заряду молекул білків сироватки крові, а значить, напрям і швидкість їх руху при електрофоретичному поділі, залежать від значення рН та іонної сили середовища. Крім того, швидкість руху білкових молекул визначається їх молекулярною масою, іонним оточенням (складом і концентрацією буфера), прикладною напругою та іншими факторами. У зв'язку з цим для отримання співставимих даних електрофорез повинен здійснюватися при строго певних

значеннях зазначених параметрів. У буферному розчині з рН = 8,6 або 8,9 і іонною силою 0,08-0,15 моль/л всі білки сироватки крові набувають негативного заряду і рухаються від катоду до аноду, причому найдалі йдуть альбуміни, що мають меншу молекулярну масу, за ними розташовуються α_1 - α_2 -, β -і γ -глобуліни. Іноді кожна з цих основних фракцій може розділитися на декілька підфракцій. Варто зазначити, що результати електрофорезу дуже залежать від підготовки зразків та майстерності лабораторного персоналу (строге дотримання процедури проведення досліджень, постійний контроль рН буфера). Для одержання більш достовірних результатів варто користуватись готовими наборами реагентів та пластин. Ми використовуємо метод електрфорезу на агарозних гелях. Користуємось апаратурою фірми Hellabio (Греція) (реєстраційний номер 9656/2010 від 12.08.2010) та наборами реактивів цієї ж фірми PE10, куди входять: готові гелі, концентрати буферу та фарби. Це дозволяє максимально стандартизувати процес. Для зчитування фореграм використовуємо програмне забезпечення HellabioScan Gel ANALYZER. Наша лабораторія контролює якість препаратів донорської плазми, що виробляються 14 закладами служби крові України, які ми куруємо. Це препарати – розчин альбуміну донорського, що випускається в формі 5, 10 та 20% розчинів, препарати імуноглобулінів (ІГ): ІГ нормальний людини рідкий, ІГ антистафілококовий людини рідкий, ІГ антирезусний людини рідкий та ін., а також препарат полібіолін. При перевірці якості препаратів альбуміну відповідно до чинних настанов з якості, затверджених МОЗ України від 02.06.2005 р. за № 247, в якості еталону використовуємо ФЗС ДФУ розчин альбуміну людини 10% [2]. При перевірці якості препаратів імуноглобулінів спрямованої дії відповідно до чинних настанов з якості, затверджених МОЗ України від 02.06.2005 р. за № 247 в якості еталону використовуємо ФЗС ДФУ імуноглобулін людини 10% [2].

За час застосування даного методу всі серії перевірених препаратів, які виготовляються на курованих нами ЗСК, за вмістом білкового складу відповідають чинним вимогам АНД на дані препарати.

Література

1. Державна фармакопея України. Перше видання, 2004. Доп. 1 П.2.2.31.
2. Керівництво зі складання аналітично-нормативної документації на плазму людини для фракціонування. Настанова з якості 42-3002-001-2005. Затверджено МОЗ України від 02.06.2005 р. № 247 // Збірник нормативно-директивних документів з охорони здоров'я. – 2005. – № 7(54) –С. 31–33.
3. Международные регулирующие документы и стандарты службы крови и производства препаратов плазмы / С.А. Оприщенко, В.В. Захаров, В.М. Русанов. – М. : Медпрактика, 2008. – 464 с.
4. Контроль якості донорської крові та її компонентів. – Житомир, 2011 р. – 368 с.