

УДК 612.11:616.12-007.2-089

**Я.В. Ткаченко, В.А. Жовнір, С.О. Кузьменко, А.О. Саламаніна, Л.М. Біла***Державна установа «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України», Київ*

# Порівняльна характеристика показників гемокомпонентів донорської, цільної пуповинної та крові новонароджених

## АНОТАЦІЯ

Для трансфузіологічного забезпечення відкритих операцій на серці із штучним кровообігом (ШК) застосовують компоненти донорської крові. В ДУ «НПМЦДКК МОЗ України» запропоновано використовувати під час таких операцій у новонароджених аутологічну пуповинну кров.

Мета дослідження: порівняти показники компонентів донорської крові – свіжозамороженої плазми, тромбоцитів, відновлених із дози крові, цільної пуповинної та крові новонароджених.

Матеріали та методи дослідження. На аналізаторі «Vitalab Flexor XL» досліджено біохімічні показники 10 зразків свіжозамороженої плазми, тромбодаси, пуповинної крові та крові новонароджених. Морфологію тромбоцитів вивчали у світловому мікроскопі «Carl Zeiss Axio Lab.A1».

Результати дослідження. Встановлено, що біохімічні та гематологічні показники пуповинної крові практично відповідають таким у новонароджених та відрізняються від гемокомпонентів донорської крові.

Висновок. Завдяки використанню аутологічної пуповинної крові для забезпечення операцій на серці із ШК зберігається гомеостаз організму пацієнтів, що попереджає розвиток післяопераційних ускладнень.

## Ключові слова:

*пуповинна кров, гемотрансфузія, вроджені вади серця, свіжозаморожена плазма, тромбоцити, відновлені із дози крові.*

У лікувальній практиці для трансфузій використовують головним чином два види плазми – нативну (виділену з дози консервованої крові або отриману методом плазмаферезу) і частіше – свіжозаморожену плазму (СЗП). СЗП містить у своєму складі весь комплекс лабільних і стабільних компонентів системи згортання, фібринолізу і системи комплементу, а також білки різної активності, жири, вуглеводи і солі. На 90% вона складається з води.

Серед основних неорганічних електролітів плазми (неорганічні іони – натрій, калій, хлор і бікарбонат) значно переважають іони натрію і хлору, забезпечуючи нормальну осмолярність плазми, яка становить близько 300 мосм/л.

Згідно з наказом № 211 «Про затвердження Порядку контролю за дотриманням показників безпеки та якості донорської крові та її компонентів» від 09.03.2009 р. встановлено норми для заготівлі гемокомпонентів крові: загальний білок в плазмі має становити не менше 50 г/л,

рівень калію – менше 5 ммоль/л тощо. На даний час ідентифіковано більше 100 різних білків плазми, кожен з яких виконує специфічну функцію. Значна кількість плазмових білків бере участь у процесі згортання крові або в імунних (захисних) реакціях організму. Білки не можуть легко долати стінку капілярів і зазвичай їхня концентрація в плазмі істотно вища, ніж в інтерстиціальній рідині. Білки плазми відіграють важливу осмотичну роль у транскапілярному обміні рідини. В плазмі міститься безліч дрібних органічних молекул, таких як глюкоза, амінокислоти, сечовина, креатинін і сечова кислота, визначення концентрації яких має велике значення для клінічної діагностики [3].

В кардіохірургії під час штучного кровообігу (ШК) використовують компоненти крові. У численних дослідженнях [2, 7] описано недоліки трансфузії компонентів донорської крові: у консервованій крові накопичуються агрегати тромбоцитів і лейкоцитів, нитки фібрину і білкові преципітати, які разом із біологічно активними

речовинами і вільними радикалами призводять до розвитку симптомокомплексу, відомого як «шокова легеня». Масивне переливання крові зумовлює значні і тривалі зміни функціонального стану нирок та печінки. У відповідь на надходження в кровотік речовин з тромбoplastичною активністю і зруйнованих формених елементів крові розвивається синдром ДВЗ. Зміна рН плазми крові при зберіганні є однією з причин її нестабільності при розморожуванні і появи візуальних ознак цього. Цитратна інтоксикація розвивається у разі швидкого введення і переливання великих доз консервованої крові, а також трансфузії холодної крові через уповільнення в ній метаболізму цитрату. В основі патогенезу лежить пряма токсична дія консерванту – натрію цитрату, а також зміна вмісту іонів калію і кальцію.

У ДУ «НПМЦДКК МОЗ України» під час операцій із ШК новонароджених з критичною вродженою вадою серця (ВВС) використовують аутологічну пуповинну кров замість компонентів донорської крові.

Мета роботи – проаналізувати такі гемокомпоненти, як СЗП (після плазмаферезу, знята з карантину) та тромбоцити, відновлені з дози крові (тромбомаса), що використовують для трансфузії новонародженим з ВВС під час операцій, і порівняти їх з показниками крові новонароджених, яким під час операції на серці із ШК переливають цю кров, а також дослідити тромбоцити пуповинної крові. Раніше ми досліджували донорську еритроцитарну масу, яку використовують для заповнення контуру ШК під час кардіохірургічної операції у новонароджених [5].

### Матеріали і методи дослідження

Досліджували СЗП (10 зразків), тромбомасу (10 зразків), кров новонароджених з критичною ВВС (транспозиція магістральних судин – ТМС) у першу добу народження (10 зразків), пуповинну кров новонароджених із ТМС (10 зразків). Біохімічні показники крові визначали на аналізаторі «Vitalab Flexor XL» виробництва «Vital Scientific Netherlands» за допомогою діагностичних наборів фірми «ELITech Clinical Systems» (Франція) та на газовому аналізаторі фірми «RADIOMETER ABL 700 SERIES» (Данія). Гематологічні показники визначали на аналізаторі «Swelab Alfa 3-diff» виробництва компанії «Boule Medical» (Швеція). Морфологічні параметри тромбоцитів вивчали з використанням світлового мікроскопа в мазках крові, забарвлених за Романовським – Гімза. Мікроскопічне дослідження проводили під масляною імерсією (окуляр  $\times 10$ , об'єктив  $\times 100$ ) у світловому мікроскопі «Carl Zeiss Axio Lab.A1» із фотографічною реєстрацією морфологічної картини крові (еритроцитів) відеокамерою «AxioCam ERc 5s».

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали за допомогою пакета програм «Stat Soft STATISTICA 8.0.550 Portable (Eng)» 2008 р. Результати представлено у вигляді середніх значень ( $m$ ) із зазначенням стандартної девіації (Standard Dev). Для порівняння середніх значень досліджуваних груп використовували U-критерій Манна – Уїтні (Mann – Whitney U-test).

### Результати дослідження та їх обговорення

Новонародженим з ТМС необхідно виконувати невідкладну операцію з використанням донорської крові під час ШК, яка відрізняється не тільки за антигенним, а й біохімічним складом від крові новонароджених. Досліджено 10 зразків СЗП і тромбомаси порівняно з кров'ю пацієнтів (табл. 1).

Таблиця 1  
Біохімічні показники СЗП та тромбоцитів, відновлених з дози крові, які використовують для гемотрансфузій ( $M \pm StDev$ )

Показник	Тромбоцити, відновлені з дози крові	СЗП	Кров новонароджених із ТМС
Калій, ммоль/л	3,06 $\pm$ 0,2*	3,08 $\pm$ 0,16*	3,9 $\pm$ 1,1
Натрій, ммоль/л	157,7 $\pm$ 1,25*	161,9 $\pm$ 9,38*	140,0 $\pm$ 7,6
Хлор, ммоль/л	83,6 $\pm$ 10,2*	81,1 $\pm$ 5,6*	101,0 $\pm$ 6,2
Глюкоза, ммоль/л	25,5 $\pm$ 1,8*	27,9 $\pm$ 1,85*	2,7 $\pm$ 0,9
Лактат, ммоль/л	4,35 $\pm$ 0,88*	1,8 $\pm$ 0,38*	2,8 $\pm$ 0,8
рН	7,33 $\pm$ 0,1	7,41 $\pm$ 0,08	7,4 $\pm$ 0,5
Загальний білок, г/л	64,79 $\pm$ 3,52	69,7 $\pm$ 5,2	63,0 $\pm$ 6,1
Сечовина, ммоль/л	3,85 $\pm$ 0,99	3,69 $\pm$ 1,09	3,8 $\pm$ 0,78
Креатинін, мкмоль/л	83,64 $\pm$ 8,4*	80,9 $\pm$ 8,9*	28,2 $\pm$ 7,8
Тригліцериди, ммоль/л	0,9 $\pm$ 0,5*	0,84 $\pm$ 0,34*	1,1 $\pm$ 0,32
Холестерин загальний, ммоль/л	3,01 $\pm$ 0,54	3,03 $\pm$ 0,45	3,4 $\pm$ 0,9

**Примітка:** \* – достовірна різниця показників компонентів крові порівняно із кров'ю новонароджених із ТМС.

За результатами дослідження встановлено, що показники СЗП, заготовленої в ДУ «НПМЦДКК МОЗ України», відповідають державним стандартам щодо заготівлі гемокомпонентів крові. Однак деякі біохімічні показники мають достовірну відмінність від таких у новонароджених із ТМС, а саме значно вищий вміст глюкози та креатиніну і достовірно нижчий вміст тригліцеридів порівняно з показниками у дітей віком до 1 міс. Вміст електролітів К, Na і Cl мають достовірну відмінність від показників в обстежених новонароджених.

Отже, виходячи з отриманих даних, зроблено висновок, що гемокомпоненти, які використовують для трансфузії новонародженим, мають відмінності за біохімічним складом від крові пацієнтів з ТМС. У новонароджених існує певний діапазон показників крові, які прийняті за норму і частково відрізняються від таких у дорослих. Переливання компонентів дорослої донорської крові під час операції із ШК призводить до порушення гомеостазу в організмі новонародженого, що значно ускладнює процес відновлення після операції. Тому актуальним є питання фізіологічності забезпечення повноцінного кровообігу під

час операції та після неї. В ДУ «НПМЦДКК МОЗ України» запропоновано нову методику лікування новонароджених з критичними ВВС, яка полягає у використанні під час операції на серці із ШК аутологічної пуповинної крові [4]. Аутологічна пуповинна кров є власною і біохімічно не відрізняється від показників у новонародженого, а тому забезпечує фізіологічне і повноцінне функціонування системи організму із збереженням сталості свого внутрішнього стану за допомогою скоординованих реакцій, спрямованих на підтримку динамічної рівноваги.

Наступним етапом було дослідження тромбомаси, яку застосовують для гематрансфузій під час операції, і порівняти її із цільною пуповинною кров'ю.

Тромбоцити виконують дві основні функції:

1. Формування тромбоцитарного агрегату, первинної пробки, що закриває місце пошкодження судини.

2. Надання своїй поверхні для прискорення ключових реакцій плазмового згортання.

Недавно було встановлено, що тромбоцити грають найважливішу роль у загоєнні і регенерації пошкоджених тканин, звільняючи із себе в пошкоджені тканини фактори росту, які стимулюють поділ і ріст пошкоджених клітин [6].

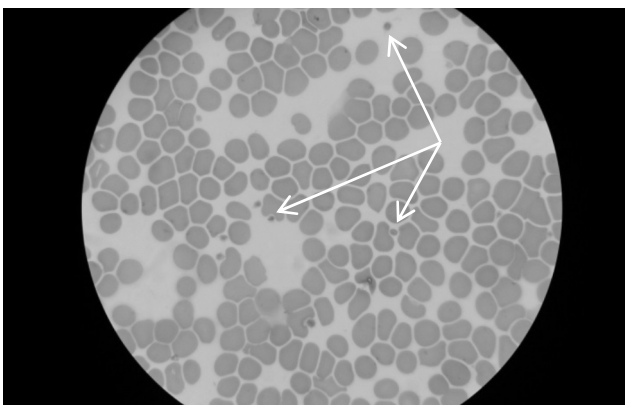
Проведено порівняльну оцінку гемокомпонентного складу і морфології тромбоцитів пуповинної крові та тромбомаси, які використовують для корекції судинно-тромбоцитарного гемостазу (рисунок, А, Б, В, Г).

На рисунку А та Б зображено тромбоцити крупної форми (юні), периферична зона яких світліша (гіаломер), ніж внутрішня (грануломер), що обумовлено наявністю в центральній зоні тромбопластинок базофільних (фіолетових) гранул. В обстеженій пуповинній крові новонароджених з ТМС 60% усіх форм тромбоцитів припадає саме на юні, а 40% – на зрілі. В процесі дозрівання та старіння розмір тромбоцитів зменшується. Гіаломер тромбоцита містить декілька видів гранул, які, вивільняючись, беруть участь у згортанні крові.

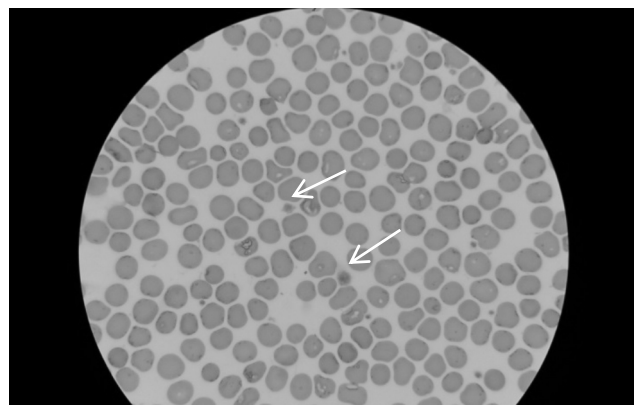
На рисунку В та Г показано тромбоцити із донорської тромбомаси на 5-ту добу зберігання, представлені здебільшого зрілими та старими – маленького розміру (60%) і деформованими формами (20%). Ці клітини вичерпали свій функціональний потенціал.

Також можна відзначити невеликі скупчення тромбоцитів – конгломерати. Інші автори [1] встановили, що у практично здорових осіб молодого віку 63% тромбоцитів представлено клітинами покою (округлі клітини з гладкою або складчастою поверхнею), 21% – клітинами з низьким рівнем активації, 12% – високоактивованими клітинами з довгими відростками, 4% – дегенеративно зміненими клітинами.

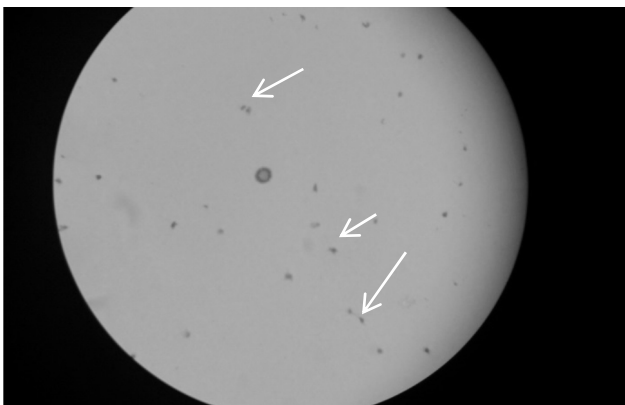
За даними проведеного дослідження можна зробити висновок, що більшість тромбоцитів пуповинної крові є морфологічно крупними формами із великою кількістю



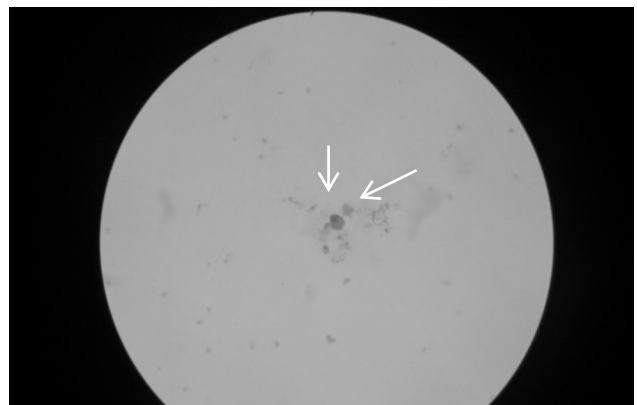
А



Б



В



Г

**Рисунок.** Мікрофотографія мазка крові. Показано морфологічні особливості тромбоцитів пуповинної крові (А, Б) та тромбоцитів, відновлених із дози крові (В, Г). Фарбування за Романовським – Гімза.  $\times 1000$

Таблиця 2  
Гематологічні та морфометричні показники тромбоцитів пуповинної крові та тромбоцитів, відновлених із дози крові

Показник	Пуповинна кров	Тромбоцити, відновлені із дози крові (тромбомаса)	Кров новонароджених із ТМС
Гемоглобін, г/л	144,6±14,6**	0,05±0,02*	159,1±18,8
Еритроцити, ·10 <sup>12</sup>	3,82±0,44**	0,01*	4,28±0,57
Лейкоцити, ·10 <sup>9</sup>	10,6±3,06**	0	15,5±4,2
Тромбоцити, тис.	233,8±62,5	134,1±89,3***	260,4±93,4
MPV, фл	7,65±0,47	6,57±0,25***	7,6±0,28
PDW, фл	10,9±0,2	9,36±0,42***	10,4±0,31
LPCR, %	13,8±2,0	9,05±1,96***	13,3±1,5
PCT, %	0,17±0,05	0,08±0,05***	0,19±0,08

**Примітка:** \* – достовірна різниця між показниками пуповинної крові та тромбоцитами, відновленими з дози крові ( $p < 0,05$ ); \*\* – достовірна різниця між показниками пуповинної крові та крові новонароджених з ТМС.

гранул всередині. При трансфузії в циркуляторному руслі аутопацієнта, за потреби організму, при сукупності багатоступеневих реакцій, відбувається їхня активація, яка призводить до зміни їхньої форми, розмірів і внутрішньої структури.

На гематологічному аналізаторі «Swelab Alfa 3-diff» (Швеція) також проводили морфометричний контроль тромбоцитів тих самих зразків: визначали середню кількість тромбоцитів (PLT), середній об'єм (MPV), ступінь анізоцитозу (PDW) і тромбокрит (PCT) – об'єм фракції тромбоцитів, концентрацію великих тромбоцитів (LPRC) (табл. 2).

За даними табл. 2 спостерігається достовірна різниця між досліджуваними показниками пуповинної крові та донорської тромбомаси.

Вміст тромбоцитів у пуповинній крові відповідає показникам у новонароджених з ТМС на відміну від кількості тромбоцитів у тромбомасі, в якій за період зберігання відбулося поступове руйнування консервованих клітин. Стосовно морфометричних показників: MPV був достовірно вищий за тромбому (див. рисунок), але не відрізнявся від такого у новонароджених з ТМС; PDW був вищий у пуповинній крові, ніж у тромбомасі, що також відповідає показнику в обстежених; LPCR у пуповинній крові значно перевищував розмір тромбоцитів у крові донорів, що ми спостерігали мікроскопічно у фарбованому мазку (див. рисунок), але відповідав показнику у новонароджених з ТМС; PCT – тромбокрит у пуповинній крові достовірно був більшим, ніж у донорській тромбомасі, що співпадає з кількістю клітин в 1 мкл, за

тромбокрит у тромбомасі та достовірно не відрізнявся від такого у пацієнтів з ТМС. Тобто пуповинна кров за клітинним складом та морфометрією клітин практично відповідає крові новонароджених. Її переливання не порушує функцій цих клітин, насамперед тромбоцитів як основних компонентів системи згортання крові.

### Висновки

1. СЗП та тромбомаса за біохімічними показниками відрізняються від крові новонароджених.

2. Тромбоцити пуповинної крові морфологічно не відрізняються від крові новонароджених на відміну від таких консервованої тромбомаси.

3. Завдяки використанню аутологічної пуповинної крові для забезпечення операцій на серці із ШК зберігається не тільки гомеостаз організму, але й підтримується фізіологічна системність його функціонування, що попереджає виникнення післяопераційних ускладнень з боку коагуляційної ланки.

### Список літератури

1. Колосова Е.Н. Оценка морфофункционального состояния тромбоцитов у больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой методом витальной компьютерной морфометрии / Е.Н. Колосова, И.А. Василенко, Л.Г. Ковалева // Бюллетень Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук. – Новосибирск, 2011. – Т. 31, № 2. – С. 58–63.
2. Колосков А.В. Иммуные негемолитические реакции и осложнения гемотрансфузий / А.В. Колосков // Гематология и трансфузиология. – 2004. – Т. 49, № 3. – С. 35–42.
3. Морман Д. Физиология сердечно-сосудистой системы / Д. Морман, Л. Хеллер. – СПб: Питер, 2000. – 256 с.
4. Перший досвід застосування компонентів аутологічної пуповинної крові при хірургічному лікуванні новонароджених з транспозицією магістральних судин / К.С. Часовський, О.М. Федевич, Г.М. Воробйова [та ін.] // Серцево-судинна хірургія. Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинних хірургів України. – 2010. – Вип. 18. – С. 679–684.
5. Порівняльна характеристика консервованої цільної пуповинної крові та донорської крові / Часовський К.С., Воробйова Г.М., Жовнір В.А., Ємець І.М. – Щорічник наукових праць Асоціації серцево-судинної хірургії України. – 2013. – Вип. 21. – С. 542–552.
6. Hom-Lay Wang and Gustavo Avila. Platelet Rich Plasma: Myth or Reality? // Eur. J. Dent. – 2007. – Vol. 1, № 4. – P. 192–194.
7. The effect of a single whole – blood transfusion on cytokine secretion / Y. Kalechman, U. Gafer, D. Sobelman, B. Sredni // Journal of Clinical Immunology. – 1990. – Vol. 10, № 2. – P. 99–105.

**Сравнительная характеристика показателей гемокомпонентов донорской, цельной пуповинной и крови новорожденных**

Я.В. Ткаченко, В.А. Жовнир, С.А. Кузьменко, А.А. Саламанина, Л.Н. Белая

**РЕЗЮМЕ.** Для трансфузиологического обеспечения открытых операций на сердце с искусственным кровообращением (ИК) применяют компоненты донорской крови. В ГУ «НПМЦДКК МЗ Украины» предложено использовать при таких операциях у новорожденных аутологическую пуповинную кровь.

**Цель исследования:** сравнить показатели компонентов донорской крови – свежзамороженной плазмы, тромбоцитов, восстановленных из дозы крови, а также цельной пуповинной и крови новорожденных.

**Материалы и методы исследования.** На анализаторе «Vitalab Flexor XL» проведено исследование биохимических показателей 10 образцов свежзамороженной плазмы, тромбомассы, пуповинной крови и крови новорожденных. Морфологию тромбоцитов изучали в световом микроскопе «Carl Zeiss Axio Lab.A1».

**Результаты исследования.** Установлено, что биохимические и гематологические показатели пуповинной крови практически соответствуют таковым у новорожденных и достоверно отличаются от гемокомпонентов донорской крови.

**Вывод.** Благодаря использованию аутологической пуповинной крови для обеспечения операций на сердце с ИК сохраняется физиологичность гомеостаза организма пациентов, что предупреждает возникновение послеоперационных осложнений.

**Ключевые слова:** пуповинная кровь, гемотрансфузия, врожденные пороки сердца, свежзамороженная плазма, тромбоциты, восстановленные из дозы крови.

**Comparative characteristics of donor blood components, whole umbilical cord blood and newborn blood**

Y.V. Tkachenko, V.A. Zhovnir, S.O. Kuzmenko, A.O. Salamanyina, L.M. Belaya

**SUMMARY.** It was first in Ukraine that «The Medical Center for Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery» has proposed using autologous umbilical cord blood for treatment of children with critical congenital heart disease.

**Aim.** To compare the donor blood components – fresh-frozen blood plasma, platelets recovered from whole blood dosage, and the whole umbilical cord and new-born blood components.

**Patients and methods.** We examined 10 samples of donor blood components, umbilical cord blood, newborn's blood. The biochemical indices of 10 fresh-frozen blood plasma, platelet mass, umbilical cord and new-born blood samples were examined on the analyzer «Vitalab Flexor XL». Platelet morphology was done using light microscope «Carl Zeiss Axio Lab.A1».

**Results.** The biochemical and hematological indices of the blood umbilical cord were to be practically correspondent to those of the newborns and statistically different from the donor blood hemocomponents.

**Conclusions.** Using the autologous umbilical cord blood during open heart surgery with cardiopulmonary bypass we save physiologic homeostasis and hemostasis patients, thereby preventing postoperative complications.

**Key words:** umbilical cord blood, donor blood components, critical congenital heart disease, transfusion.

**Адреса для листування:**

Яніна Вікторівна Ткаченко

Державна установа «Науково-практичний медичний центр дитячої кардіології та кардіохірургії МОЗ України»

м. Київ, вул. В. Чорновола, 28/1