

Содержание свободного гепарина в плазме крови, заготовленной методом мануального плазмафереза

А.В. Корж

Национальная медицинская академия последилового образования имени П.Л. Шупика, г. Киев

Исследованы образцы плазмы 34 первичных доноров (22 мужчины и 12 женщин), которые впервые сдавали плазму методом автоматического плазмафереза (контрольная группа наблюдения) и 54 активных донора плазмы крови (40 мужчин и 14 женщин), которые являлись кадровыми донорами с интервалом между донациями не менее 14 суток. Количество донаций плазмы у активных доноров-мужчин составляло в среднем $18,63 \pm 1,71$ при индивидуальных колебаниях показателя от 2 до 78, у женщин – $14,09 \pm 1,95$ при индивидуальных колебаниях показателя от 2 до 45. Методом получения плазмы был мануальный плазмаферез. Группы обследованных были однородными по возрасту и полу. Гематологические и биохимические показатели определяли у всех обследованных, которые по заключению специалистов все были допущены к донации плазмы. Содержание свободного гепарина определяли методом Михайличенко Б.В., Выдыборца С. В. (2000). Анализ полученных результатов показал, что в образцах донорской плазмы полученной методом мануального плазмафереза достоверно выше уровень фракции свободного гепарина.

Ключевые слова: плазмаферез, методы, доноры плазмы, свободный гепарин.

Известно, что во всем мире наблюдается отрицательная динамика участия населения в донорстве крови [3, 5, 6]. Анализ статистических данных МЗ Украины за последние годы показал, что количество доноров крови в нашей стране также сокращается. Так, с 2014 по 2015 гг. общее количество доноров сократилось на 67 534 (13,4%) человек. В 2015 году в Украине было заготовлено 164 990,3 л плазмы крови. В 2015 году уменьшилось количество донаций плазмы на 11 432 и составило 2,11 случая донаций плазмы на 1000 жителей [4].

Методами мануального и автоматического плазмафереза получено 49 066,2 л плазмы, или 29,7% от всей заготовленной. Методом мануального плазмафереза получено 7887,6 л или 4,8%, а методом автоматического плазмафереза – 41 178,6 л или 25,0%. Средние дозы плазмы крови при проведении однократного мануального плазмафереза составили 278,3 мл, а автоматического – 649,9 мл донаций плазмы. Нехватка плазмы крови составила 5,1% от всей заготовленной в 2015 году, что в общем составило 8363,9 л. Среди причин нехватки плазмы были наличие антител к гепатиту С – 14,6% или 1220,9 л; поверхностного антигена гепатита В – 12,8% или 1072,2 л, антител к возбудителю сифилиса – 10,7% (891,7 л), антител к ВИЧ 6,5% (550,7 л). Средние дозы плазмы крови при проведении однократного мануального плазмафереза составили 278,3 мл, а автоматического – 649,9 мл донаций плазмы.

Наибольшее количество плазмы методом мануального ПФ заготовлено в Запорожской (1994,5 л), Донецкой

(1875,4 л), Днепропетровской (1290,3 л) областях. Не заготавливали в 2015 году плазму методом мануального ПФ в Ивано-Франковской, Киевской, Кировоградской, Николаевской, Ровненской, Харьковской, Херсонской, Черновицкой областях и г. Киеве. Среди ведомственных учреждений методом мануального ПФ службой крови «Укрзалізниці» заготовлено 199,2 л плазмы [4].

Метод ручного ПФ был разработан в США в 1950 году. Сразу были продемонстрированы преимущества нового метода перед существующим методом получения плазмы из цельной крови – донор плазмы в сравнении с донором цельной крови оказался почти в 50 раз продуктивнее.

Внедрение в 60-е годы XX века метода автоматического ПФ в практику получения плазмы крови открыло новые возможности для службы крови. Новая ступень в развитии данного метода была обусловлена: большим объемом заготовленной от донора плазмы, сокращением продолжительности процедуры, комфортными условиями для донора, уменьшением соотношения антикоагулянт/кровь, отсутствием риска ошибки при возвращении эритроцитов донору, уменьшением вероятности реакций вследствие гипокальциемии и т.д.

Известно, что при мануальном ПФ кровь изымают в полимерные контейнеры, затем подвергают центрифугированию, отделяют плазму при помощи специальных плазмоекстракторов, а оставшиеся клеточные элементы крови реинфузируют донору. Процедура мануального ПФ предполагает использование полимерных контейнеров для ПФ по двойной методике (процедуру однократного ПФ считают морально устаревшей и экономически не оправданной) [3, 5]. К полимерным контейнерам для заготовки плазмы существуют определенные требования. Используют в основном полимерные контейнеры для ПФ типа 2×500/2×300, 2×500/4×300 и другие [7]. Использование двойного ПФ дает возможность за одну процедуру получать в два раза больший объем плазмы, чем с дозы консервированной крови или по сравнению с процедурой однократного мануального ПФ. С развитием технических возможностей и укреплением материальной базы учреждений службы крови процедуру мануального ПФ возможно будут рассматривать в историческом аспекте.

Одним из биологически активных веществ, которое имеет существенное влияние на многие патологические процессы, является высокосульфатированный мукополисахарид (гликозаминогликан) – гепарин (ГПН). Участие ГПН в регуляции различных функций органов и систем, влияние на обменные процессы определяет необходимость более пристального изучения его роли в патогенезе посттрансфузионных реакций и осложнений. В тканях ГПН существует в виде макромолекул протеогликана с различной молекулярной массой и обнаруживается у всех млекопитающих [1, 2].

Показатели периферической крови и некоторые биохимические параметры у доноров плазмы, М±m

Показатель		Контрольная группа, n=34	Основная группа, n=54	Достоверность различий (p)
Концентрация гемоглобина, г/л	До процедуры	143,59±0,24	142,68±0,51	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
	После процедуры	143,67±0,53	143,21±0,38	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
Количество эритроцитов, ×10 ¹² /л	До процедуры	4,37±0,03	4,41±0,06	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
	После процедуры	4,41±0,07	4,42±0,05	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
Количество лейкоцитов, ×10 ⁹ /л	До процедуры	5,89±0,03	5,93±0,03	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
	После процедуры	6,08±0,06	6,12±0,04	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
Количество тромбоцитов, ×10 ⁹ /л	До процедуры	245,18±3,09	240,98±4,11	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
	После процедуры	223,16±5,01	215,13±4,15	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
Общий белок, г/л	До процедуры	65,12±0,09	66,16±0,11	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05
	После процедуры	65,21±0,15	65,15±0,16	p ₁ >0,05; p ₂ >0,05; p ₃ >0,05

Примечание: p₁ – достоверность различий между контрольной и основной группами обследованных; p₂ – достоверность различий до и после процедуры плазмафереза в контрольной группе обследованных; p₃ – достоверность различий до и после процедуры плазмафереза в основной группе обследованных.

Факторами, которые могут нарушать содержание ГПН в тканях является усиленное его высвобождение из клеток-гранулоцитов или нарушение процессов его связывания и инактивации. При изучении научной литературы не было выявлено данных о содержании ГПН в донорской плазме крови методом мануального ПФ, что и побудило нас провести данное исследование.

Цель исследования: проведение биохимического исследования по определению содержания свободной фракции ГПН в плазме крови, полученной от доноров методом мануального плазмафереза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 34 первичных доноров (22 мужчины и 12 женщин), которые сдавали плазму крови впервые методом автоматического плазмафереза (контрольная группа наблюдения) и 54 активных донора плазмы крови (40 мужчин и 14 женщин), которые являлись кадровыми донорами с интервалом между донациями не менее 14 сут. Количество плазмотах у активных доноров-мужчин составляло в среднем 18,63±1,71 при индивидуальных колебаниях показателя от 2 до 78, у женщин – 14,09±1,95 при индивидуальных колебаниях показателя от 2 до 45. Получали плазму от доноров методом мануального плазмафереза.

Группы обследованных были сопоставимы по возрасту и полу. Показатели гематокрита у всех обследованных бы-

ли в пределах нормальных значений, все они были допущены к донации плазмы.

Процедура проведения мануального плазмафереза предполагает эксфузию крови у доноров, разделение ее на плазму и клеточные компоненты с последующей реинфузией последних обратно донору с соблюдением правил асептики. Согласно общепринятым правилам, для доноров каждой группы крови по системе АВ(0) с целью исключения ошибок был выделен отдельный день недели. Центрифуги были размещены в комнате, прилегающей к плазмаферезному помещению. Одновременно в плазмаферезной брали кровь у количества доноров соответственно количеству гнезд в центрифуге для центрифугирования. Перед началом центрифугирования роторную камеру с центрифужными стаканами охлаждали до необходимой температуры. Контейнеры с полиэтиленовыми стаканами помещали в центрифужные стаканы, уравнивали на весах, размещали в гнездах ротора центрифуги, закрывали крышку роторной камеры и включали холодильную установку центрифуги. В перерывах между центрифугированием крышку роторной камеры закрывали для поддержания заданной рабочей температуры, поскольку несоблюдение температурного режима центрифугирования может сопровождаться значительным увеличением остаточных клеток крови в плазме и ухудшением ее качества.

Взятую донорскую кровь центрифугировали в режиме:

Содержание свободной фракции ГПН в образцах плазмы крови доноров плазмафереза ($M \pm m$), мкг/г

Показатель		Контрольная группа, n=34	Основная группа, n=54	Достоверность различий (p)
Свободный гепарин, мкг/г	До процедуры	23,11±0,14	24,03±0,11	$p_1 > 0,05$; $p_2 > 0,05$; $p_3 > 0,05$
	После процедуры	24,13±0,19	29,29±0,09	$p_1 > 0,05$; $p_2 > 0,05$; $p_3 < 0,05$

Примечание: p_1 – достоверность различий между контрольной и основной группами обследованных; p_2 – достоверность различий до и после процедуры плазмафереза в контрольной группе обследованных; p_3 – достоверность различий до и после процедуры плазмафереза в основной группе обследованных.

децентричное ускорение 650–700 g, температура роторной камеры +20°C, время центрифугирования – 20 мин. После центрифугирования контейнеры с кровью осторожно вынимали из центрифуги и размещали в плазмоекстракторах. Контейнеры для плазмы паспорттизировали соответствующими наклейками. При герметизации контейнеров узлами накладывали по две свободные петли на соединительную трубку между контейнерами и затягивали. Освобождали пружину плазмоексатора и отламывали клиптин на трубке контейнера для крови. Плазму полностью переводили в контейнер для плазмы. При этом следили, чтобы клетки крови не попали в контейнер с плазмой. На трубку, которая соединяла контейнеры между собой, накладывали зажим.

После переведения плазмы в плазмоконтейнер полностью удаляли воздух из контейнера для плазмы в контейнер с клетками крови. После удаления воздуха заполняли плазмой трубку, соединяющую контейнер для крови с контейнером для плазмы, накладывали на трубку зажим. Запаивали трубку на расстоянии 10–15 см от контейнеров для крови и плазмы, затягивали петли в тугие узлы, герметизируя контейнеры. Образцы плазмы для лабораторных исследований получали путем заполнения плазмой сегмента трубки длиной не менее 10–15 см и герметизировали ее запаиванием.

Контейнеры с клетками крови доноров передавали в плазмаферезный зал для реинфузии донорам. Взвешивали контейнер с плазмой на весах, перечисляли весовые единицы измерения в объемные. Объем плазмы в миллилитрах указывали на этикетке контейнера с плазмой. Трубку с образцом плазмы для лабораторных исследований от контейнера с плазмой не отделяли до окончания паспорттизации образца. На образец плазмы для тестирования наклеивали номерную марку донора, для определения параметров качества – этикетку идентичную к этикетке контейнера с плазмой, из которого был отобран образец, и передавали для лабораторного тестирования и определения параметров качества.

Содержание свободного ГПН в плазме крови определяли методом Михайличенко Б.В., Выдыборца С.В. (2000) [2]. Исследование проводили в лаборатории анализа биологически активных соединений кафедры судебной медицины Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца (г. Киев).

Результаты исследований обрабатывали методами вариационной статистики с вычислением t-критерия достоверности Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средние значения показателей периферической крови и биохимических показателей у доноров плазмы до и после процедуры плазмафереза приведены в табл. 1.

Согласно полученным данным (см. табл. 1), у обследованных доноров не выявлено достоверных различий показателей периферической крови и содержания белка в плазме крови до и после процедуры плазмафереза. Данные о содержании свободной фракции ГПН в образцах плазмы крови до и после процедуры ПФ представлены в табл. 2.

По данным табл. 2, в образцах плазмы крови, заготовленной методом мануального плазмафереза, наблюдали достоверное увеличение содержания свободной фракции ГПН в плазме крови, по сравнению с его содержанием до процедуры, а также с содержанием после процедуры плазмафереза в контрольной группе ($p < 0,05$). Это можно объяснить усиленным высвобождением данного вещества из клеток периферической крови, прежде всего гранулоцитарного ряда, и тромбоцитов во время процедуры центрифугирования. Достоверных различий в содержании ГПН в образцах плазмы крови в зависимости от пола обследованных выявлено не было ($p < 0,1$).

В ответ на различные стимулы, в частности механическое воздействие, гипоксию – ГПН может высвобождаться из гранул-депо гранулоцитов. При этом одновременно высвобождаются эозинофильный хемотаксический фактор, гистамин, серотонин, дофамин, протеазы (триптаза и химаза) и многие другие физиологически активные вещества.

Можно предположить, что более высокое содержание свободного ГПН в плазме крови, полученной методом мануального ПФ, может быть обусловлено повышенным его высвобождением вследствие центрифугирования клетками, прежде всего гранулоцитарного ряда, с последующим выходом в плазму при процедуре ПФ. Участие ГПН в регуляции функций различных органов и систем, влияние на метаболические процессы в организме определяют необходимость более детального изучения роли этого вещества в патогенезе различных состояний, а может быть и в возникновении посттрансфузионных реакций и осложнений.

ВЫВОДЫ

Метод мануального плазмафереза позволяет получать плазму крови соответствующих нормативным требованиям характеристик.

В образцах плазмы крови, полученных методом мануального плазмафереза, выявляется достоверно повышенное содержание свободной фракции гепарина по сравнению с образцами от доноров, которым проводили автоматический плазмаферез.

Метод мануального плазмафереза позволяет получать плазму с повышенным содержанием свободной фракции гепарина, что диктует необходимость изучения последствий при трансфузии такой плазмы реципиенту.

Вміст вільного гепарину у плазмі крові, що заготовлена методом мануального плазмаферезу А.В. Корж

Досліджено зразки плазми крові 34 первинних донорів (22 чоловіків і 12 жінок), які вперше здавали плазму методом автоматичного плазмаферезу (контрольна група спостереження) і 54 активних донорів плазми крові (40 чоловіків і 14 жінок), які були кадровими донорами з інтервалом між донаціями не менше 14 діб. Кількість донацій плазми в активних донорів-чоловіків складала у середньому $18,63 \pm 1,71$ при індивідуальних коливаннях показника від 2 до 78, у жінок – $14,09 \pm 1,95$ при індивідуальних коливаннях показника від 2 до 45. Методом отримання плазми був мануальний плазмаферез. Групи обстежених були однорідними за віком і статтю. Гематологічні і біохімічні показники перевіряли у всіх обстежених і за висновками спеціалістів усі вони були допущені до донації плазми. Вміст вільного гепарину визначали за методикою Михайличенка Б.В., Видиборця С.В. (2000). Аналіз отриманих результатів свідчить, що у зразках донорської плазми, яка була отримана методом мануального плазмаферезу, спостерігали достовірно вищий рівень фракції вільного гепарину.

Ключові слова: плазмаферез, методи, донори плазми, вільний гепарин.

Content of free heparin in the blood plasma, obtained by manual plasmapheresis A.V. Korzh

The plasma samples of 34 primary donors (22 men and 12 women) for the first time given the plasma by automated plasmapheresis (control surveillance), and 54 active donors of blood plasma (40 men and 14 women) being donors with non-less 14 days interval between donations, have been examined. The active male donors' plasma averaged at $18,63 \pm 1,71$ with individual index fluctuations from 2 to 78, female donors' – $14,09 \pm 1,95$ with individual index fluctuations from 2 to 45. The method of plasma obtaining – manual plasmapheresis method. The surveyed groups were homogeneous for age and sex. Hematologic and biochemical parameters of all those persons have been examined, basing on the conclusion of the professionals, everyone was admitted to the plasma donation. The content of free heparin in plasma were determined by method of Mikhailichenko B.V., Vidyborets S.V. (2000). Analysis of the results showed that in the donor plasma samples obtained by manual plasmapheresis level of free heparin is significantly higher.

Key words: plasmapheresis, methods, plasma donors, free heparin.

Сведения об авторе

Корж Андрей Владимирович – Кафедра гематологии и трансфузиологии Национальной медицинской академии последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9; тел.: (044) 483-16-61

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bublji Yu. Heparin: fiziologitchna rol' i klinitchne znatchennja porushen vmis-tu [Heparin: physiological role and clinical meaning of the contents]. Ukrainskij zurnal gematologii i transfuziologii. 2013, no. 6 (17), pp. 5–10.
2. Mykhailychenko B.V., Vidyborets S.V. Metod kil'kисnogo vyznatsennja geparynu v biosubstratach [Method of quantitative determination of heparin in biological specimens]. Laboratorna diagnostika, 2000, no. 4, pp. 53–56.
3. Novak V.L., Gryza P.V., Prymak S.V. Donors'ka plasma. Preparaty plasmy krovi ta ih klinitchne zastosuvannja: posibnyk dlja likariv. 2011, Dnipropetrovs'k: ART-PRES, 264 p.
4. Perehrestenko P.M., Nazarchuk L.V., Timchenko A.S. et al. Dijal'nist' zakladiv sluzby krovi Ukrainy u 2015 rozi. 2016, Kyiv, 72 p.
5. Rukovodstvo po prigotovleniju, ispol-zovaniju i obespecheniju kachestva komponentov krovi Rekomendazija № R (95) 15. 17 izdanije [Guide on preparation, use and quality assurance of blood components. Recommendation № R (95) 15. 17-th edition]. 2013, Moscow, 565 p.
6. Vidyborets S.V. Industrija preparatov plasmy krovi [Industry of blood plasma preparation]. Hematology. Transfusio-logy. Eastern Europe. 2016, vol. 2, no. 2, pp. 227–255.
7. Vidyborets S.V. Kontejnery polimernye dlja krovi i ee komponentov: standartizacija, klassifikacija i terminologija [Polymer container for blood and blood components: standartization, classification and terminology]. Hematology. Transfusiology. Eastern Europe. 2016, vol. 2, no. 2, pp. 256–269.

Статья поступила в редакцию 29.03.17

Н О В О С Т И М Е Д И Ц И Н Ы

ПРОСТУДА НАЗВАНА ОДНИМ ИЗ ФАКТОРОВ РИСКА СЕРДЕЧНОГО ПРИСТУПА

Респираторные инфекции делают сердце человека более уязвимым. Австралийские ученые выяснили, что в течение недели после болезни риск сердечного приступа возрастает в 17 раз.

В исследовании приняли участие 578 человек, перенесших сердечный приступ вследствие закупорки коронарной артерии.

Все участники эксперимента предоставили данные о перенесен-

ных ранее заболеваниях, в том числе о пневмонии, гриппе, бронхите, фарингите и рините.

Оказалось, что воспалительные заболевания органов дыхания могут стать причиной развития сердечного приступа: 17% респондентов перенесли сердечный приступ в течение недели после простуды. Повышенный риск сохранялся в течение месяца. При этом более "мягкие" формы болезни (напри-

мер, ринит и фарингит) были связаны с низкой вероятностью сердечного приступа, и все же она оставалась в 13 раз выше нормы.

По мнению ученых объяснение такой зависимости кроется в повышенной свертываемости крови и наличии в организме после простуды токсинов и воспалительных процессов, повреждающих кровеносные сосуды.

<http://www.vokrugsveta.ru>