



Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

1942/2017

75

Фармацевтический колледж

Трансфузиология

курс лекций для обучающихся
по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика
(базовой, углубленной подготовки)

Красноярск
2016

УДК 615.38(042.4)

ББК 53.535.2

Т 65

Трансфузиология : курс лекций для обучающихся по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика (базовой, углубленной подготовки) / сост. Е. Н. Букатова ; Фармацевтический колледж. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2016. – 84 с.

Составитель: Букатова Е.Н.

Курс лекций предназначен для обучающихся с целью организации самостоятельной работы по овладению теоретическим материалом. Курс лекций составлен в соответствии с ФГОС СПО (2014 г.) по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика, рабочей программой дисциплины (2015 г.) и СТО СМК 4.2.01-11. Выпуск 3.

Рекомендован к изданию по решению методического совета Фармацевтического колледжа (протокол № 4 от «12» декабря 2016г.)

© ФГБОУ ВО КрасГМУ
им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого
Минздрава России, Фармацев-
тический колледж, 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ЛЕКЦИЯ №1 ВВЕДЕНИЕ В ТРАНСФУЗИОЛОГИЮ.....	4
ЛЕКЦИЯ №3 ЗАГОТОВКА КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ	21
ЛЕКЦИЯ №4 ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ.	28
ЛЕКЦИЯ № 5 КОНСЕРВИРОВАНИЕ КРОВИ, ЕЁ КОМПОНЕНТОВ И КОСТНОГО МОЗГА	36
ЛЕКЦИЯ № 6 АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ. ГРУППЫ КРОВИ СИСТЕМЫ АВ0.	44
ЛЕКЦИЯ № 7 АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ СИСТЕМЫ РЕЗУС.	50
ЛЕКЦИЯ № 8 АЛЛОАНТИТЕЛА К ЭРИТРОЦИТАРНЫМ АНТИГЕНАМ. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ АНТИГЕНЫ	56
ЛЕКЦИЯ № 9 ПЕРЕЛИВАНИЕ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ.	62
ЛЕКЦИЯ № 10 АУТОГЕМОТРАНСФУЗИИ. ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА И СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ	70
ЛЕКЦИЯ № 11 ПОСТТРАНСФУЗИОННЫЕ РЕАКЦИИ И ОСЛОЖНЕНИЯ	75
ЛИТЕРАТУРА.....	84

ЛЕКЦИЯ №1 ВВЕДЕНИЕ В ТРАНСФУЗИОЛОГИЮ.

План лекции:

1. ВВЕДЕНИЕ В ДИСЦИПЛИНУ
2. ЧАСТИ ТРАНСФУЗИОННОЙ МЕДИЦИНЫ
3. ИСТОРИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ
4. ОРГАНИЗАЦИЯ СЛУЖБЫ КРОВИ
5. ДОНОРСТВО КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ
6. ПРАВА И ОБЯЗАННОСТИ ДОНОРА
7. КАТЕГОРИИ ДОНОРОВ
8. ПРИЕМ И УЧЕТ ДОНОРОВ
9. СОСТОЯНИЕ ДОНОРСТВА В РОССИИ

1. ВВЕДЕНИЕ В ТРАНСФУЗИОЛОГИЮ

Трансфузиология (трансфузионная медицина) – раздел клинической медицины, изучающий процессы, возникающие при целенаправленном изменении состава крови в результате *парентерального введения трансфузионных средств*.

Практической основой трансфузионной медицины являются служба крови с профильными НИИ и лечебные учреждения, в которых применяются трансфузионные средства.

2. ЧАСТИ ТРАНСФУЗИОННОЙ МЕДИЦИНЫ

1. общая трансфузиология;
2. производственная трансфузиология;
3. клиническая трансфузиология.

Общая трансфузионная медицина включает в себя основополагающие знания о крови, её компонентах и препаратах, развитии и функционировании службы крови, Государственном контроле качества трансфузионных средств.

Производственная трансфузионная медицина рассматривает вопросы:

- донорства крови и её компонентов;
- организации заготовки крови;
- влияние *эксфузии* крови на организм донора;
- консервирование крови и её компонентов;
- донорство костного мозга;
- производство препаратов крови.

Клиническая трансфузионная медицина из всех разделов обладает самым большим объемом информации, использует трансфузионные методы и средства для лечения и профилактики различных заболеваний. Большое внимание при этом уделяется безопасности трансфузиологических операций, предупреждению реакций и осложнений после переливания крови и её компонентов. К клинической трансфузионной медицине относятся также *трансплантация* костного мозга и стволовых клеток периферической крови.

Трансфузионная медицина является интегральной отраслью медицинской науки. Для своих целей она использует знания и методы многих смежных дисциплин: нормальной и патологической физиологии, биологии, иммунологии, микробиологии, токсикологии, хирургии, гематологии, а также достижения химии, физики, математики, информатики и других областей знаний.

3. ИСТОРИЯ ТРАНСФУЗИОЛОГИИ

При рассмотрении более чем двухтысячелетней истории трансфузионной медицины, полной драматических событий, можно выделить три основных периода её развития:

I - дотрансфузионный (от античных времен до 1628 года, то есть до открытия Гарвеем закона кровообращения);

II – трансфузионно-эмпирический (с 1628 по 1901 гг., то есть до открытия Карлом Ладштейнером групп крови);

III – трансфузионно-иммунологический период (с 1901 года по настоящее время).

В течение первого (дотрансфузионного) периода врачами осознавалось особое значение крови для жизни человека, но методы её использования были неэффективными. Чаще всего в то время кровь применяли для омоложения и восстановления сил. В древнем Риме патриции пили кровь раненых гладиаторов. Знаменитый древнегреческий врач Гиппократ (3-4 век до н.э.) советовал больным при тяжелом течении заболевания принимать внутрь кровь здоровых людей. Для продления жизни римский папа Иннокентий VIII принимал ванну с кровью молодых добровольцев. В античные и средние века часто применяли кровопускание с целью удаления «дурной» крови из организма больного.

С открытием в 1628 году Гарвеем закона кровообращения появилось обоснование для внутривенного введения крови – начался второй (трансфузионно-эмпирический) период развития трансфузиологии. Именно этот период, длившийся почти три века, изобилует трагедиями и

сопровождается периодическими запретами переливания крови, так как это часто заканчивается смертью больного. В этот период разрабатывалась и совершенствовалась процедура переливания крови, создавались необходимые инструменты и приборы. Вначале переливали кровь от животного животному, затем – от животного – человеку и, наконец, от человека человеку.

В 1666г. во Франции профессором медицины Дени выполнено первое успешное переливание крови от ягненка человеку, погибавшему от лечебных кровопусканий. Переливание крови стало применяться в Англии, Франции, Италии, Германии. Нередким показанием к этому виду лечения служили психические заболевания. Кровь переливали от животных, обычно от ягнят. Переливания часто сопровождались тяжелыми, иногда смертельными осложнениями. Отношение к переливанию крови в медицинских кругах стало негативным. Неслучайно возникла версия, что для переливания крови необходимы три «барана»: один настоящий ягненок, второй – человек, который соглашается на переливание крови от животного, и третий – врач, который вопреки накопленным медиками фактам производит такую процедуру.

Переливание профессором Дени крови одному пациенту имело историческое значение. 34-летний Антуан Моро ушел из дома и проводил время в увеселительных заведениях Парижа. По просьбе его супруги, дабы укротить нрав мужа, Дени перелил ему кровь ягненка. После повторной трансфузии у пациента появились боли в пояснице, давящее ощущение в груди, носовое кровотечение, моча приобрела темно-красный цвет. Это было первое документированное описание посттрансфузионного осложнения. Тем не менее пациент не только выжил, но и 2 месяца спустя возвратился к разгульному образу жизни. Последовавшая вскоре смерть Моро (отравленного супругой мышьяком) послужила основанием для запрета на трансфузии в крупнейших столицах Европы. Доктор Дени был привлечен к суду. Перерыв в широких клинических исследованиях по проблеме переливания крови составил около 150 лет.

Только в 1819 году в Лондоне профессор акушерства и физиологии Джеймс Бланделл произвел первое переливание крови человеку от человека с помощью прибора – медного шприца собственной конструкции. Бланделл выступал против переливания крови животных человеку, однако такая практика сохранялась и во второй половине XIX века. Переливание крови здорового человека больному как лечебный метод начинает входить

в медицинскую практику в разных странах. В XIX веке в мире было осуществлено около 600 переливаний крови, в том числе 145 – в России. Однако эмпирический подбор доноров до начала XX века делал переливание крови весьма рискованной процедурой: около половины переливаний заканчивались смертью больного.

Базисом развития современной науки о переливании крови послужило объяснение австрийским бактериологом Карлом Ландштейнером причин агглютинации эритроцитов одного человека сывороткой другого. Ранее этот феномен расценивали как проявление заболевания. В 1901 году, исследуя взаимодействие эритроцитов и сыворотки крови разных людей, Ландштейнер сделал заключение о существовании трёх групп крови: 0, А и В. Впоследствии за это открытие он был удостоен Нобелевской премии. Вскоре в 1902 году коллеги Ландштейнера по Венскому университету описали группу крови АВ. Таким образом, начался трансфузионно-иммунологический период в развитии науки о переливании крови, предусматривающий учет групп крови при гемотрансфузиях. Это открытие сделало переливание крови более безопасным и дало мощный стимул для эффективного использования переливания крови больным и раненым, нуждавшимся в восполнении кровопотери.

Первую в мире гемотрансфузию с учетом групп крови произвел американский хирург Джорж Крайль в 1907 году. В России такую процедуру впервые выполнил в 1919 году Владимир Николаевич Шамов в Военно-медицинской академии в Петербурге.

Существенный вклад в развитие переливания крови внесли отечественные врачи В.А.Юревич и Н.К.Розенберг, предложившие в 1910 году для стабилизации донорской крови применять цитрат натрия, связывающий ионы кальция и тем самым препятствующий свертыванию крови. Таким образом была разрешена весьма сложная для трансфузиологии проблема. Ранее для поддержания донорской крови в жидком состоянии использовали недостаточно эффективные методы (дефибринирование, покрытие трубок и контейнеров для крови парафином) или токсичные антикоагулянты (сульфат и оксалат аммония, гирудин и др.).

После открытия групп крови по системе АВ0 и способа консервирования крови гемотрансфузии стали активно применять во многих странах. Создаются донорские центры, появляются первые организованные группы доноров в США, Англии, Италии, Франции.

В 1926г. в Москве открывается первый в мире Институт переливания крови. Его директором стал видный ученый, врач и философ А.А.Богданов. Начинаются целенаправленные исследования по трансфузионной медицине. Изучается влияние кроводачи на организм донора. Разрабатываются показания и противопоказания к донорству крови. Уровень знаний и представлений о переливании крови в те годы можно проиллюстрировать следующим примером. Богданов считал, что политический социализм можно дополнить взаимным обменом крови, тем самым создав из человечества братство, соединенное не только общей идеей, но и общей кровью. Работая в Институте, он интересовался эффектом взаимных переливаний крови по 500-1000мл. В марте 1928г. у студента МГУ Л.И. Колдамасова обнаружили туберкулез. Богданов предложил ему взаимный обмен крови на основании того, что он, как врач с многолетним стажем, имеет сопротивляемость к этому заболеванию. Трансфузия могла бы передать Колдамасову эту сопротивляемость, избавив его от болезни. У обоих была одинаковая группа крови – 0(I). 28 марта было проведено взаимное переливание, каждому около литра. Вскоре у обоих развились тяжелые осложнения, от которых Богданов через 2 недели скончался. Причиной смерти, по-видимому, была острая почечная недостаточность, развившаяся в результате переливания несовместимой крови. Учитывая, что фатальное переливание было для Богданова уже двенадцатым, скорее всего имело место посттрансфузионное гемолитическое осложнение по системе Резус.

В 1927г. отечественный врач-гематолог М.И. Арикин для получения костного мозга предложил пункционно-аспирационный метод, который используется и в настоящее время.

В 1928 году гигиенической комиссией Лиги наций была утверждена и рекомендована для всех стран буквенная номенклатура групп крови по системе АВ0 с одновременным указанием в скобках номера группы римской цифрой. Двойное обозначение групп крови оказалось настолько надежным и удобным, что применяется до настоящего времени.

В 1935г. в Риме состоялся первый конгресс специалистов по переливанию крови, а через 2 года организовано Международное общество переливания крови, которое после второй мировой войны стало регулярно проводить международные конгрессы.

В тридцатые годы были выработаны организационные принципы службы крови, выдержавшие испытание временем и принятые в дальнейшем ВОЗ.

В 1932г. в Ленинграде создаётся центр по переливанию крови (ныне – Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии). Сотрудники института А.Н. Филатов и Н.Г. Карташевский впервые в мире провели разделение крови на компоненты (эритроциты и плазму) и перелили плазму, показав её кровоостанавливающий эффект. Тем самым было положено начало гемокомпонентной терапии, ведь до этого переливали только цельную кровь.

В это же время организуются филиалы Центрального института переливания крови и «опорные пункты», которые в 1937г. преобразованы соответственно в станции и отделения переливания крови. К 1940г. в Советском Союзе была создана стройная система службы крови, которая в годы Великой отечественной войны полностью справилась с возложенными на неё обязанностями. Возник новый вид донорского движения - безвозмездное донорство крови. Добровольно донорами стали более 5,5 млн. человек.

В 1940г. Ландштейнер совместно с американским иммунологом Винером открыли в крови резус-фактор, учет которого имеет важное значение в иммуногематологии. Однако широкое практическое использование этого открытия началось лишь после второй мировой войны.

Крупнейшим событием после установления групп крови по эритроцитарным антигенам явилось открытие в 1954-1958г.г. французским иммунологом Ж. Доссе системы человеческих лейкоцитарных антигенов - HLA, которая расширила и укрепила иммунологическую основу трансфузионной медицины и трансплантологии. Некоторые разделы этой системы и в настоящее время полностью не изучены и являются предметом научных исследований.

Во второй половине XX века практическая трансфузиология впитывает достижения науки, используя их для разработки технологии консервирования крови и её компонентов, криоконсервирования, аппаратного фракционирования крови, производства препаратов крови и т.д. Ключевым элементом современной гемокомпонентной терапии

является разработанный в 1950г. Карлом Уолтером (США) пластиковый контейнер для крови.

Все более значимой в современной трансфузионной медицине становится проблема безопасности. В 1962г. был создан первый фильтр для удаления лейкоцитов из крови с целью профилактики аллоиммунизации. В течение последних 20 лет, особенно с открытием вирусов ВИЧ и гепатита С, радикально изменилась система обследования доноров на гемотрансмиссивные инфекции, перечень тестируемых маркеров увеличился.

Чрезвычайно важным событием для службы крови РФ явилось официальное признание самостоятельной медицинской дисциплиной «Трансфузиологии» и специальности «Врач-трансфузиолог» (Приказ МЗ РФ от 1997г.).

Как показывают последние Международные конгрессы и Всероссийские съезды по переливанию крови, развитие ряда смежных наук (молекулярной биологии, иммуногенетики, иммуногематологии и др.), трансфузиология стоит на пороге ускоренного прогресса и крупных открытий, которые, как ожидается, дадут принципиально новые возможности для трансфузионной терапии и, надо полагать, ознаменуют начало следующего периода развития трансфузионной медицины.

4. ОРГАНИЗАЦИЯ СЛУЖБЫ КРОВИ

Служба крови представлена сетью специальных учреждений, главной задачей которых является обеспечение ЛПУ *компонентами и препаратами* из донорской крови. *Учреждения службы крови (УСК)* планируют, комплектуют и учитывают донорские кадры, осуществляют их медицинское обследование, ведут заготовку консервированной крови и переработку её на компоненты и препараты.

В структуре службы крови выделяют три основных звена:

К первому звену УСК относятся: Минздрав России и научно-исследовательские институты (НИИ): Российский НИИ гематологии и трансфузиологии (г. Санкт-Петербург), НИИ переливания крови (г. Киров), Гематологический научный центр РАМН (г. Москва), Центр производственной трансфузиологии (г. Москва). Научные учреждения разрабатывают фундаментальные проблемы трансфузиологии, готовят методические материалы для службы крови, внедряют в практическую

работу УСК достижения науки, являются организационными и методическими центрами службы крови.

Второе звено учреждений службы крови составляют краевые, областные и городские *станции переливания крови* (СПК). В зависимости от производственной мощности по заготовке крови, её переработки на компоненты и препараты СПК делятся на 4 категории. К первой категории относятся СПК с объемом заготовки и переработки 8000-10000л крови в год; ко второй категории – 6000-8000л крови; к третьей категории – 4000-6000л крови и к четвертой категории – до 4000л крови год. К внекатегорийным относятся СПК, заготавливаемые свыше 10000л крови в год. Девять крупных областных СПК являются базовыми в РФ, территория которой по службе крови разделена на зоны. Каждая из зон курируется своей базовой СПК.

Красноярская краевая СПК в организационно-методическом отношении относится к Новосибирской ОСПК. Всего в России 197 СПК. Пять СПК имеют корпуса фракционирования плазмы, 28 СПК - производственные мощности по переработке плазмы для получения препаратов крови (альбумин, иммуноглобулины).

Кроме основного направления деятельности – заготовки и переработки крови, на СПК возложены функции региональных методических центров, пропаганды донорства, подготовки кадров врачей и медицинских сестер по производственной трансфузиологии. В своей работе СПК руководствуются документами, регламентирующими деятельность службы крови: Законом РФ о донорстве крови и её компонентов, Приказами и информационными письмами МЗ РФ, инструкциями.

Третье звено службы крови представлено отделениями переливания крови, действующими в составе ЛПУ. *Отделения переливания крови* (ОПК) организуются в лечебных учреждениях, если их потребность в компонентах донорской крови составляет более 300л в год в пересчете на кровь. В задачи отделений переливания крови входит заготовка и переработка донорской крови на компоненты для данной больницы, организация трансфузионной терапии, пропаганда современных принципов клинической трансфузиологии.

К третьему звену УСК относятся также кабинеты переливания крови (КПК) в составе ЛПУ, главной функцией которых является организация трансфузиологической помощи. В кабинетах переливания крови может осуществляться внеплановая заготовка и переработка крови.

5. ДОНОРСТВО КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ

Донорство означает высокий акт гуманизма, когда человек сознательно и добровольно даёт часть своей крови, или костного мозга, или один из парных органов больному, нуждающемуся в такой помощи. Донорство почетно. Оно поощряется обществом и государством. Донорское движение прошло путь от отдельных доноров-родственников и друзей до массового безвозмездного донорства крови и её компонентов.

5.1. Принципы донорства

В нашей стране в основу донорского движения положен принцип, сформулированный ещё в 1939г. директором Центрального института переливания крови А.А. Багдасаровым: «Никакого вреда донору – максимум пользы больному». К основным принципам донорства относятся также «Один донор – один больной», «Донорство безвредно».

6. ПРАВА И ОБЯЗАННОСТИ ДОНОРОВ

«Закон РФ о донорстве крови и её компонентов», принятый в 1993г., обеспечил комплекс социальных, экономических, правовых, медицинских мер по организации донорства и защиту прав доноров. Государство гарантирует донору защиту его прав и охрану здоровья, а также предоставляет ему льготы:

- в день дачи крови донор освобождается от работы на предприятии (независимо от формы собственности) с сохранением за ним среднего заработка. В случае если работник вышел на работу, ему предоставляется по его желанию другой день отдыха с сохранением среднего заработка;
- после каждого дня дачи крови донору предоставляется дополнительный день отдыха с сохранением среднего заработка. Указанный день отдыха по желанию донора может быть присоединен к очередному отпуску или использован в другое время в течение года;
- в день дачи крови донор обеспечивается бесплатным питанием за счет средств соответствующего бюджета;
- не допускается взятие крови у донора больше физиологической дозы.

Дозу дачи крови определяет врач-трансфузиолог индивидуально после окончания медицинского обследования доноров в зависимости от их веса. Стандартная *физиологическая доза дачи крови* в РФ составляет 450мл ± 10% без учета крови, взятой для анализов (до 40мл).

Обязанности донора также прописаны в законе: донор обязан сообщить известные ему сведения о перенесённых им и имеющихся у него заболеваниях, а также об употреблении наркотических средств. Донор, умышленно скрывший или исказивший сведения о состоянии своего здоровья, несёт ответственность, установленную законодательством РФ, если такие действия повлекли или могли повлечь существенное расстройство здоровья реципиентов.

Донорами крови и её компонентов могут быть дееспособные здоровые люди в возрасте 18-60 лет, прошедшие медицинское обследование. Лица, имеющие массу тела менее 50кг и рост меньше 150см, допускаются к донорству в индивидуальном порядке по усмотрению врача. Объем кроводачи у них не должен превышать 12% объема циркулирующей крови, составляющей в норме 6,5-7% массы тела или 4-6 мл/кг.

7. КАТЕГОРИИ ДОНОРОВ. ВИДЫ ДОНОРСТВА.

Различают следующие основные *категории доноров*:

- активные (безвозмездные и платные);
- резервные доноры (безвозмездные);
- доноры-родственники (как правило, безвозмездные);
- контрактные доноры (как правило, платные).

К активным донорам относят людей, 3 раза и более в течение года дающих кровь, плазму или клетки крови. Они могут давать их безвозмездно или получать денежную компенсацию в соответствии с нормативными документами. Из активных доноров выделяют группу доноров-контрактников. Они заключают договор (контракт) с ЛПУ. В контракте оговариваются обязательства сторон. Контрактное донорство имеет целью создание условий для осуществления принципа «один больной – один донор», запасов компонентов крови от одного донора и для профилактики гемотрансфузионных осложнений.

Резервные доноры – люди, дающие кровь не регулярно (не более двух раз в год) или давшие кровь однократно.

В группу доноров-родственников включают людей, дающих кровь и её компоненты для лечения родственников, друзей, близких знакомых.

В службе крови имеются следующие *виды донорства*:

- донорство крови;
- донорство плазмы;
- донорство иммунной плазмы;
- донорство клеток крови: тромбоцитов, лейкоцитов, эритроцитов;

- доноры редких групп крови;
- доноры, дающие кровь малыми дозами для приготовления стандартных эритроцитов и лейкоцитов;
- доноры костного мозга;
- доноры стволовых клеток периферической крови и др.

8. ПРИЕМ И УЧЕТ ДОНОРОВ.

Прием доноров в УСК проводится на основании удостоверений личности: паспорта или военного билета для военнослужащих.

Учет доноров осуществляется по первичным медицинским документам, утвержденным приказами МЗ РФ:

- учетная карточка донора (форма 405/у);
- медицинская карта активного донора (форма 406/у);
- карта донора резерва (форма 407/у);
- дневник учета доноров (форма 410/у).

В «Учетные карточки донора» вносятся данные обо всех процедурах (кроводача, плазмаферез, цитаферез, дача костного мозга) с обязательным указанием даты и дозы.

9. СОСТОЯНИЕ ДОНОРСТВА В РФ.

Массовое донорство в нашей стране получило развитие с 1926г. Основной курс был взят на безвозмездное донорство, являющееся высшей формой гражданского гуманизма и патриотизма. И в настоящее время это направление остается основным в мировом донорском движении и активно поддерживается ВОЗ.

Однако в последнее десятилетие донорство в России переживает значительный спад, что в основном связано с практически полным прекращением пропаганды донорства в средствах массовой информации, невыполнением обязательств по льготам, предоставляемым донорам, крайне неудовлетворительным финансированием УСК.

Общее количество доноров в России за 15 лет (с 1985г. по 1999г.) уменьшилось более чем вдвое (с 5,6 млн. до 2,1 млн. человек). Изменилась и структура донорских кадров: более чем в 2 раза увеличилось количество платных доноров и уменьшилось число безвозмездных.

В России в 1999г. количество доноров составляло всего 15,1 на 1000 населения, в то время как, по данным Совета Европы, для обеспечения страны кровью и её компонентами необходимо иметь 40-60 доноров на

1000 населения. Наибольшее количество доноров в России было в 1988г. – 26 доноров на 1000 населения. Для 2-й зоны РФ, в состав которой входит Красноярский край, эта величина в 1999г. составила 16,8 на 1000 населения. В Европе это количество в среднем составляет 40,2. Теоретически донорами могут быть 10-15% населения, в России же ими являются пока только 1,6%.

Вопросы для самоподготовки:

1. Задачи общей трансфузиологии.
2. Структура службы крови.
3. Основные принципы донорства.
- 4 Категории доноров.

ЛЕКЦИЯ №2 МЕДИЦИНСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ДОНОРОВ. ДОНОРСТВО КОСТНОГО МОЗГА

План лекции:

1. ОБЩИЙ ПОРЯДОК МЕДИЦИНСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ДОНОРОВ.
2. ВЛИЯНИЕ ЭКСФУЗИИ КРОВИ НА ОРГАНИЗМ ДОНОРА .
3. ПОКАЗАНИЯ К ПЕРЕСАДКЕ КОСТНОГО МОЗГА .
4. ВИДЫ ДОНОРСТВА КОСТНОГО МОЗГА .
5. ПОЛУЧЕНИЕ КОСТНОГО МОЗГА .
6. МИЕЛОКАРИОЦИТАФЕРЕЗ.

МЕДИЦИНСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ДОНОРОВ

1. ОБЩИЙ ПОРЯДОК МЕДИЦИНСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ДОНОРОВ

Медицинскому обследованию доноров предшествует заполнение ими типовой анкеты донора, которая содержит вопросы о самочувствии, общем состоянии здоровья, обстоятельствах, которые могут быть причиной отвода от донорства.

После оформления необходимых документов в регистратуре (формы 405/у и др.) и заполнения анкеты донор направляется в клиническую лабораторию для определения концентрации гемоглобина и группы крови, а затем – к врачу-трансфузиологу. После осмотра врач делает заключение о пригодности к донорству, его вид и дозу дачи крови или её компонента.

Врачебное обследование донора включает в себя сбор *анамнеза*, определение роста и веса, измерение температуры тела, осмотр кожных покровов, слизистых оболочек, склер, *пальпацию* органов брюшной

полости и лимфатических узлов, *аускультацию* органов грудной клетки, определение частоты пульса и АД.

При медицинском освидетельствовании кандидатов в доноры и доноров могут выявиться *противопоказания к донорству*, которые разделяются на абсолютные и относительные. К абсолютным противопоказаниям относятся те, на основании которых навсегда запрещается давать кровь и её компоненты: *гемотрансмиссивные инфекции* (то есть инфекции, передающиеся через кровь) и некоторые заболевания (злокачественные опухоли, психические заболевания и т.д.). К относительным противопоказаниям относятся такие, которые являются запретом для дачи крови только на определенный период времени (контакт с больным вирусным гепатитом, беременность и т.д.).

Этот общий для всех доноров порядок медицинского обследования, в зависимости от вида донорства, может дополняться и другими требованиями.

1.2. ОБСЛЕДОВАНИЕ АКТИВНЫХ ДОНОРОВ

Активные доноры представляют также:

1. справку из поликлиники по месту жительства или работы с указанием перенесенных заболеваний (1 раз/ 6 месяцев);
2. справку от эпидемиолога из центра Госсанэпиднадзора по месту жительства об отсутствии заболевания и контакта с больными вирусными гепатитами А (1 раз/3 месяца), гепатитами В и С (1 раз/6 месяцев) и другими инфекционными заболеваниями (при каждой даче крови);
3. 1 раз в год: данные рентгеноскопии (флюорографии) органов грудной клетки, общий анализ мочи, электрокардиограмму;
4. для доноров-женщин (1 раз/год) - заключение гинеколога.

1.3. ОБСЛЕДОВАНИЕ ДОНОРОВ ПЛАЗМЫ И КЛЕТОК КРОВИ

При первичном освидетельствовании доноров плазмы дополнительно к определению гемоглобина и группы крови до плазмодачи проводят общий анализ крови, определяют количество тромбоцитов, ретикулоцитов, общего белка и белковых фракций сыворотки крови. Кроме того, до плазмафереза кровь доноров исследуется на маркеры гемотрансмиссивных инфекций. При повторных плазмаферезах определяют: СОЭ, количество гемоглобина (гематокрит), лейкоцитов, общего белка в сыворотке крови, общий анализ крови с подсчетом тромбоцитов и ретикулоцитов (1 раз/год), белковых фракций (после каждых 5-ти плазмаферезов).

В разных странах инструкции допускают различный объем заготавливаемой плазмы от одного активного донора в течение года. Так, в

Германии разрешено получение 25л плазмы в год, в США – до 60л. В РФ допускается заготовка не более 12л плазмы в год от одного донора.

Медицинское освидетельствование доноров клеток крови проводят по программе, предусмотренной для доноров плазмы, с дополнительным определением времени свертывания крови или длительности кровотечения по Дукке.

1.4. ВЛИЯНИЕ ЭКСФУЗИИ КРОВИ НА ОРГАНИЗМ ДОНОРА

Реакция донора на *эксфузию крови* индивидуальна. У подавляющего большинства активных доноров картина крови, костномозговое кроветворение, белковый состав и система свертывания крови не отличаются от параметров у здоровых лиц, никогда не дававших кровь.

В настоящее время общепринятым условием безопасного донорства считается взятие крови в физиологической дозе 450 мл с интервалом в 2 месяца, но не более 5 раз в год у мужчин и 4 раз в год у женщин. Однако извлечение из кровеносного русла крови, даже в физиологической дозе, вызывает комплекс изменений в организме донора, и требуется время для их нормализации.

После дачи крови у донора наблюдаются следующие изменения *гематологических показателей*: снижается количество гемоглобина, эритроцитов и альбумина, а количество ретикулоцитов и свертываемость крови повышаются. К 30 дню после кроводачи происходит постепенное восстановление этих показателей.

При извлечении крови на короткое время (30-60 минут) изменяются и *гемодинамические показатели*: АД несколько снижается, а пульс учащается.

Реакция ЦНС на дачу крови и костного мозга проявляется легким возбуждением коры головного мозга, особенно выраженным у доноров, дающих кровь в первый раз. У них отмечается приподнятое настроение, двигательная активность, легкость в принятии решений, не всегда точных. Поэтому летчикам, водителям транспорта, операторам и представителям других профессий, требующих быстрых и точных решений, не рекомендуется приступать к работе в день дачи крови.

Установлено, что дача крови в дозах 200-500 мл не более 5 раз в год с интервалом 2 месяца безвредна для донора. В УСК наблюдаются доноры, дававшие кровь или её компоненты 100 и более раз и имеющие при этом хорошее здоровье и высокую работоспособность. В связи с этим некоторые специалисты обоснованно считают, что принцип «Донорство

безвредно» в настоящее время можно заменить принципом «Донорство полезно».

Влияние плазмадачи на организм донора выражено меньше, чем дача крови, так как отделенные от плазмы эритроциты возвращаются обратно донору с сохранением их биологической полноценности. У половины доноров после плазмафереза наблюдается кратковременное снижение количества альбуминов в крови, связанное с перераспределением плазменных и тканевых белков, но не с нарушением скорости их синтеза в печени. Через 16-18 часов при достаточном содержании белков в пище белковая формула крови нормализуется. Это делает возможным регламентировать короткие интервалы (7-14 дней) между процедурами плазмафереза у доноров плазмы.

2. ДОНОРСТВО КОСТНОГО МОЗГА

2.1. ПОКАЗАНИЯ К ПЕРЕСАДКЕ КОСТНОГО МОЗГА

Пересадка костного мозга (*миелотрансплантация*) является эффективным средством восстановления функции костного мозга при глубокой депрессии (аплазии) кроветворения. В настоящее время пересадка костного мозга широко используется при заболеваниях кроветворных органов (острых и хронических лейкозах, апластической анемии, талассемии и др.). Миелотрансплантация показана также при злокачественных новообразованиях внекостномозговой локализации (рак яичника, молочной железы, легкого, лимфогранулематоз, меланома и др.) для восстановления функции костного мозга, утраченной в результате высокодозной цитостатической терапии. Восстановление – *реанимацию гемопоэза* обеспечивают ядродержащие клетки пересаженного костного мозга (*миелокариоциты*), среди которых главную роль играют стволовые клетки-предшественники. После приживления стволовые клетки развиваются до зрелых клеток, восстанавливая все три ростка кроветворения и нормализуя клеточный состав периферической крови.

Первая попытка произвести пересадку костного мозга была предпринята ещё в 1938г. М.И. Аринкиным. Затем многие исследователи и клиницисты пытались применить этот метод для реанимации кроветворения, однако сталкивались с отторжением пересаженной ткани. Положительные результаты стали появляться лишь после открытия в

1954г. Ж. Доссе системы человеческих лейкоцитарных антигенов HLA, ответственных за реакции иммунитета при трансплантации.

2.2. ВИДЫ ДОНОРСТВА КОСТНОГО МОЗГА

В зависимости от генетической связи донора с реципиентом различают:

- *аллогенный* костный мозг, когда донор не является родственником больного;
- *сингенный* костный мозг, когда донор – однояйцовый близнец реципиента. Такого донора называют *сиблингом* в отличие от *донора-сибса*, хотя и родственного индивидуума по крови, но не имеющего общего фенотипа с реципиентом;
- *аутологичный* костный мозг, который заготавливают от самого больного – аутодонора, если у него до лечения не имелось отклонений в системе кроветворения.

Доноры-сиблинги встречаются крайне редко. Чаще всего имеются доноры-сибсы и неродственные доноры, от которых в основном и заготавливают аллогенный костный мозг.

После получения согласия донора на дачу костного мозга ему подробно объясняют все её этапы: клиническое обследование, поступление в клинику, суть операции *миелоэкспфузии*, выписка из стационара, оформление документов и выплата донорского вознаграждения для усиленного питания.

При заготовке костного мозга неукоснительно соблюдается основное правило современного донорства: «Один больной – один донор». Этот донор должен быть совместим с реципиентом по антигенам лейкоцитов системы HLA, особенно локуса DR.

Донором костного мозга может быть здоровый человек в возрасте 18-45 лет. Исключение составляют доноры-родственники. Их допуск к экспфузии костного мозга решается индивидуально, особенно, если речь идет о сиблингах или сибсах. Лица, решившие дать костный мозг, должны пройти специальное медицинское обследование, которое, кроме обычных для доноров крови анализов, включает в себя целый комплекс исследований с обязательным определением лейкоцитарного фенотипа по системе HLA. К даче костного мозга имеется перечень абсолютных и относительных противопоказаний.

2.3. ПОЛУЧЕНИЕ КОСТНОГО МОЗГА

Получение костного мозга у доноров осуществляется пункционно-аспирационным методом, предложенным отечественным гематологом

М.И Аринкиным (1927г.). Для пункции используют прочные иглы специальной конструкции: короткие - длиной 25-30мм для пункции грудины и длинные - длиной 80-100мм для пункции подвздошных костей. Внутри иглы имеется *мандрен* для предотвращения её закупоривания тканями при прокалывании, а на колющем конце иглы - скос под углом 45-55°. Щиток на игле позволяет регулировать глубину прокола.

Операция *миелоэксфузии* производится в стационаре, в строго стерильных условиях операционной, как правило, под общим обезболиванием. Операция занимает обычно 1,5-2 часа, при работе бригадным методом (синхронно двумя врачами) её время сокращается в 2-2,5 раза, что позволяет применить внутривенный наркоз.

Перед операцией делается предварительный расчет количества ядродержащих клеток, требующихся для восстановления гемопоэза у больного. При расчете исходят из того, что для аллогенной трансплантации костного мозга необходимо заготовить $2-5 \cdot 10^8$ миелокариоцитов на 1кг массы тела реципиента, а для аутологичной – $1-2 \cdot 10^8$ / 1 кг массы реципиента.

После прокола кожи и компактной пластинки грудины или подвздошной кости конец иглы попадает в губчатое вещество. Производят *аспирацию* (насосывание) костного мозга с помощью шприца с разных уровней, продвигая иглу вглубь костномозговой полости и поворачивая её на 360° вокруг продольной оси. Таким образом обеспечивается взятие *миеловзвеси* из всего пространства губчатого вещества, прилегающего к пункционной игле. Из одного прокола при 3-4 аспирациях с продвижением иглы получают 1-3 мл костномозговой ткани.

Во время операции подсчитывают число ядерных клеток в 1мкл миеловзвеси (*клеточность костного мозга*), на основании чего определяют необходимый для извлечения объем костного мозга. В среднем для взрослого реципиента требуется 1000-1300мл миеловзвеси. Число костномозговых пункций зависит от необходимого количества миелокариоцитов и клеточности костного мозга и колеблется от 32 до 240 (в среднем около 100).

Миеловзвесь, полученную от донора, стабилизируют антикоагулянтом, фильтруют и немедленно передают для трансплантации в клинику.

2.4. МИЕЛОКАРИОЦИТАФЕРЕЗ

Если костный мозг заготавливают от самого больного-аутодонора, то на время, необходимое для лечения основного заболевания и подготовки к аутомиелотрансплантации, миеловзвесь подвергают криоконсервированию (замораживают). В связи с тем, что находящиеся в костном мозге ядерные клетки (миелокариоциты) и безъядерные эритроциты требуют разных программ охлаждения, перед замораживанием их разделяют (центрифугированием или добавлением раствора желатина). Осевшие эритроциты удаляют и *реинфузируют* аутодонору, а фракцию миелокариоцитов после добавления криоконсерванта замораживают в жидком азоте с помощью аппарата программного замораживания. Выделение миелокариоцитов (*миелокариоцитаферез*) обеспечивает лучшее сохранение их функциональной полноценности в процессе хранения, а реинфузия эритроцитов способствует более быстрой нормализации костномозгового кроветворения у аутодонора.

Вопросы для самоподготовки:

1. Типовая анкета доноров.
2. Порядок медицинского обследования доноров.
3. Абсолютные и относительные противопоказания для донорства.
4. Миелокариоцитоферез.

ЛЕКЦИЯ №3 ЗАГОТОВКА КРОВИ И ЕЕ КОМПОНЕНТОВ

План лекции:

1. СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ.
2. ЗАГОТОВКА ГЕМОКОМПОНЕНТОВ ПУТЕМ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ.
3. ЗАГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ КРОВИ МЕТОДОМ ПЛАЗМОЦИТАФЕРЕЗА.
4. СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ

В настоящее время в соответствии с одним из основных *принципов современной трансфузионной терапии* — компонентностью — для переливания используется не цельная кровь, а её компоненты, которые могут быть получены двумя способами:

1. *фракционированием консервированной крови;*
2. *аферезом (плазмоцитаферезом).*

В РФ наиболее распространен первый способ - получение гемокомпонентов путем фракционирования дозы цельной консервированной крови, взятой у донора.

При аферетических методах заготовка компонентов крови производится непосредственно от донора. После извлечения из сосудистого русла кровь вне организма разделяют на составные части, затем требуемый компонент (плазму, тромбоциты, лейкоциты, СКПК и др.) выделяют, а остальные возвращают донору.

Оба способа получения гемокомпонентов чаще всего основаны на разной относительной плотности плазмы и форменных элементов крови и проводятся с помощью центрифугирования.

1.2. ЗАГОТОВКА ГЕМОКОМПОНЕНТОВ ПУТЕМ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ

Получение компонентов из консервированной донорской крови предусматривает последовательное или параллельно-последовательное выполнение следующих этапов:

- заготовка крови от донора;
- фракционирование крови;
- апробация крови;
- паспортизация крови и её компонентов.

1.2.1. Заготовка крови

Заготовка донорской крови проводится в два этапа.

1 этап - приготовление стерильной тары с гемоконсервантом. В настоящее время этот этап выполняется на заводах, выпускающих пластиковые контейнеры из поливинилхлорида с консервантом и системой для взятия крови, которые стерилизуются радиационным методом и подвергаются последующему бактериологическому контролю. Одноразовые полимерные контейнеры исключают перенос гемоинфекций, не бьются, позволяют проводить фракционирование крови закрытым способом, удобны при транспортировке.

В РФ служба крови использует пластиковые контейнеры «Гемакон 500, 500/300, 500/300/300», «Компопласт 300, 300/300» и контейнеры зарубежных фирм, разрешенные к использованию в нашей стране. В контейнерах отечественного производства содержится по 100 мл гемоконсерванта «Глюгизир».

2 этап заготовки крови – эксфузия крови донора. Проводится в стационарных условиях (на станции переливания крови, в отделении переливания крови ЛПУ) или в выездных условиях на предприятиях, в населенных пунктах, воинских частях, где организуется «День донора».

После медицинского обследования донор получает легкий завтрак – чай с сахаром и хлебом, а спустя 30 минут его приглашают на кроводачу. Взятие крови на СПК и в ОПК ЛПУ производится в операционной комнате, а в выездных условиях - в специально оборудованном приспособленном помещении. Забор крови осуществляют врачи-эксфузионисты (медсестры) при участии жгутистов (помощников врача) и операционной медсестры.

Заготовленную кровь до апробации и окончательной паспортизации хранят в холодильных камерах при температуре $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ на специально отведенных полках с надписью «НЕОБСЛЕДОВАННАЯ КРОВЬ! ВЫДАЧЕ НЕ ПОДЛЕЖИТ!». Если заготовленная кровь предназначена для получения концентрата тромбоцитов, то её хранят при комнатной температуре ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) не более 8 часов.

1.2.2. Апробация заготовленной крови доноров

Все образцы донорской крови проходят обязательное лабораторное обследование (*апробацию, скрининг*), в которое входит 2 группы анализов:

- 1) иммуногематологические исследования, которые устанавливают антигенный состав клеток крови донора, служат для подбора совместимой пары донор-реципиент и включают в себя определение:
 - группы крови (перекрестным методом);
 - резус-принадлежности (антигенов DCcE, у резус-отриц. и D^u);
 - антигена К системы Келл;
 - иммунных аллоантител к антигенам эритроцитов.
- 2) исследования на *маркеры гемотрансмиссивных инфекций* - проводятся для профилактики передачи инфекционных агентов с кровью донора. К ним относятся реакции для выявления:
 - антител к возбудителю сифилиса (бледной трепонеме);
 - поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg);
 - антител к вирусу гепатита С;
 - антител к вирусам ВИЧ –1/2;
 - определение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ).

Для исследований используется кровь из флаконов-спутников, прикрепленных на специальное приспособление («лепесток») к пластиковому контейнеру с кровью.

1.2.3. Паспортизация крови

После полного апробирования крови сотрудник СПК проводит *паспортизацию* крови: сверяет результаты всех исследований и определяет пригодность крови для гемотрансфузии в каждом конкретном полимерном контейнере. Кровь выбраковывается, если в ней обнаруживают:

- положительные реакции на сифилис, гепатиты В и С, ВИЧ-1/2;
- повышенный уровень АлАТ;
- нарушение герметичности упаковки;
- визуально выраженный *гемолиз*;
- наличие сгустков, нитей фибрина;
- наличие в плазме мути, хлопьев, пленки и других признаков инфицирования;
- отсутствие марки или этикетки;
- несоответствие фактического объема, указанному на этикетке.

При обнаружении антигена «К» к переливанию не допускаются эритроциты, а при наличии иммунных антител – плазма крови.

Если кровь пригодна для переливания, на контейнер наклеивается этикетка установленного образца и номер-марка. Маркированные полимерные контейнеры с этикеткой передают в экспедиционный отдел СПК, где они хранятся в холодильниках при температуре $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ по групповой принадлежности. Для каждой группы крови и резус-принадлежности выделяется отдельный холодильник либо полка в холодильной камере с четкими указателями: «0 (I) резус - положительная», «0(I) резус - отрицательная» и т.д. Температурный режим в холодильниках обязательно фиксируется: либо автоматически самописцем на бумажной ленте, либо отмечается в специальном журнале ответственным лицом 2 раза в сутки. Максимальный срок хранения крови при температуре $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ на гемоконсерванте «Глюгицир» составляет 21 день после заготовки. Выдача донорской крови в ЛПУ производится экспедитором и фиксируется в специальном журнале.

Образцы донорской крови, в которых обнаружены антитела к ВИЧ, гепатитам, положительные реакции на сифилис, подлежат обеззараживанию и уничтожению по акту.

1.2.4. Первичное фракционирование консервированной крови

В зависимости от места взятия крови у донора (стационарные условия СПК и ОПК или выездные условия) различают два варианта фракционирования. Если взятие крови у доноров осуществляется на СПК (ОПК), первичное фракционирование необследованной крови выполняется

параллельно с её лабораторной апробацией. Это дает возможность готовить свежзамороженную плазму (СЗП) и иметь готовые компоненты через 10 часов после начала работы. При заготовке крови в выездных условиях её фракционирование обычно выполняется на второй день, после получения результатов лабораторных исследований и изъятия брака. В этом случае приготовление СЗП невозможно.

Первичное фракционирование, то есть разделение крови на плазму и клеточную (глобулярную) массу, проводится путем её центрифугирования и последующего разделения компонентов с помощью *плазмоэкстрактора*. В зависимости от режима центрифугирования («жесткого» или «мягкого») первичное фракционирование позволяет получать бесклеточную (или обогащенную тромбоцитами) плазму, эритроцитную массу (или эритроконцентрат) и лейкотромбомассу (лейкотромбоцитарный слой).

При дальнейшей обработке этих компонентов могут быть получены эритроцитная взвесь, отмытые эритроциты, свежзамороженная плазма, криопреципитат, концентрат тромбоцитов и лейкоцитов и др.

1.3. ЗАГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ КРОВИ МЕТОДОМ ПЛАЗМОЦИТАФЕРЕЗА

1.3.1. Принципы плазмоцитафереза

Донорский плазмоцитаферез (*аферез*, гемаферез) – метод получения гемокомпонентов, при котором цельную кровь вне организма разделяют на фракции, затем требуемый компонент (плазму, тромбоциты, лейкоциты и др.) выделяют, а остальные возвращают (реинфузируют) донору. Получение компонентов крови методом афереза называется соответственно *плазмаферез*, *тромбоцитаферез*, *лейкоцитаферез* и т.д.

Методы плазмоцитафереза позволяют за одну процедуру получать бóльший объем плазмы и терапевтические дозы клеточных элементов (тромбоцитов, лейкоцитов, СКПК), что способствует реализации принципа «Один больной – один донор», увеличивает безопасность гемотрансфузий и уменьшает количество неиспользованных эритроцитных сред, списываемых и уничтожаемых по истечении срока хранения.

Плазмоцитаферез может осуществляться как вручную, так и в автоматическом режиме с помощью *сепараторов крови*. И ручные, и аппаратные методы гемафереза обычно основаны на различии относительной плотности компонентов крови и проводятся путем

центрифугирования. Лишь в некоторых моделях сепараторов крови для получения плазмы используется принцип фильтрации.

Для проведения плазмоцитафереза на СПК организуется специальная группа (отделение) с отдельной операционной комнатой. Заготовка компонентов крови методом афереза проводится в основном от активных доноров.

Методика ручного донорского плазмоцитафереза включает в себя следующие этапы:

- забор дозы донорской крови в двоянные (строенные) полимерные контейнеры с гемоконсервантом;
- центрифугирование консервированной крови;
- разделение крови на фракции с помощью плазмоекстрактора с выделением необходимого гемокомпонента;
- реинфузия остальных гемокомпонентов донору.

Удаление не цельной крови, а только её части в меньшей степени влияет на организм донора и позволяет без ущерба для его здоровья за одну процедуру извлекать бóльший объем гемокомпонента. Поэтому обычно цикл однократного донорского афереза повторяют несколько раз: проводят прерывистый двукратный плазмаферез, 4-х кратный тромбоцитаферез, двойной или тройной лейкоцитаферез.

Аппаратный плазмоцитаферез требует специального оборудования – сепараторов (фракционаторов) крови зарубежных фирм (Haemonetics, Baxter, Cobe и др.) или отечественного производства. Кровь донора подается во вращающийся сосуд (в форме чаши, колокола, кольца и т.д.), где под действием центробежной силы происходит её разделение на компоненты. Необходимая фракция отводится, а остальные элементы возвращаются донору прерывистым или непрерывным потоком. Современные сепараторы крови позволяют за сравнительно короткое время от одного донора получать терапевтические дозы клеточных гемокомпонентов высокого качества, то есть без нежелательных примесей, что не возможно при других методах фракционирования крови. Главным недостатком аппаратного плазмоцитафереза является высокая стоимость сепараторов крови и расходных систем к ним.

1.3.2. Плазмаферез

Заготовка плазмы занимает основное место в работе отделения плазмоцитафереза. Технология выполнения плазмафереза сопряжена с более высоким, чем при взятии крови, риском передачи гемотрансмиссивных инфекций от донора сотрудникам СПК. Поэтому в

отличие от гемоэксфузии плазмаферез выполняется только у лиц, предварительно обследованных на гепатиты В и С, ВИЧ-1/2, сифилис.

В зависимости от частоты плазмодачи различают плазмаферез первого и второго уровня интенсивности. Плазмаферез первого уровня интенсивности проводится обычно у резервных доноров и доноров-родственников и предполагает дачу плазмы один раз или несколько раз в год с таким же интервалом, как при даче крови. Плазмаферез второго уровня интенсивности проводится у активных доноров и предусматривает систематическую дачу плазмы, но суммарно не более 12л/год. Получение большего количества плазмы (до 60л/год) от одного донора, практикующееся в США и других странах, соответствует третьему уровню интенсивности плазмафереза и в РФ не разрешено.

Плазмаферез может осуществляться как ручным способом (прерывистый однократный или двукратный плазмаферез), так и с помощью автоматических сепараторов крови (аппаратный плазмаферез). За одну процедуру при однократном ручном плазмаферезе от донора получают 250 ± 50 мл плазмы, при двукратном ручном или автоматическом плазмаферезе - до 600 мл.

Минимальный интервал между процедурами плазмафереза составляет 7 дней при дозе плазмодачи 250-300 мл и 14 дней при дозе 500-600 мл.

Медицинское обследование доноров плазмы предусматривает больший набор лабораторных анализов, чем доноров цельной крови (см. раздел 4.3).

1.3.3. Цитаферез

Методы ручного и особенно аппаратного *цитафереза* позволяют за одну процедуру от одного донора получать лечебные дозы любого вида клеток крови: тромбоцитов, лейкоцитов, эритроцитов и СКПК. Однако чаще всего они используются для выделения концентрата тромбоцитов. Эритроциты обычно получают при фракционировании консервированной крови, а концентраты лейкоцитов и СКПК сравнительно редко используются в практической медицине.

Лечебные дозы КТ могут быть получены путем:

- прерывистого 4-х кратного тромбоцитафереза (ручной метод);
- аппаратного тромбоцитафереза.

Инструкция по заготовке тромбоцитов от одного донора предусматривает следующие этапы прерывистого тромбоцитафереза:

- заготовка дозы крови в контейнер «Гемакон» 500/300;

- центрифугирование заготовленной крови в «мягком» режиме с разделением на обогащенную тромбоцитами плазму и эритроциты;
- перевод обогащенной тромбоцитами плазмы с помощью плазмозкстрактора в спаренный контейнер на 300мл;
- ресуспендирование эритроцитов в 50мл изотонического раствора натрия хлорида и реинфузия полученной взвеси эритроцитов донору;
- центрифугирование обогащенной тромбоцитами плазмы в «жестком» режиме с образованием осадка тромбоцитов и верхнего слоя обедненной тромбоцитами плазмы;
- перевод обедненной тромбоцитами плазмы в контейнер «Компопласт 300» и реинфузия её донору.

За один такой цикл тромбоцитафереза заготавливают 1 единицу тромбоцитной массы, содержащей $50-55 \cdot 10^9$ тромбоцитов. Для получения терапевтической дозы тромбоцитов ($200 \cdot 10^9$) цикл тромбоцитафереза повторяют, но всего не более 4-х раз. Полученные единицы тромбоцитной массы объединяют в первый контейнер.

Возможно также проведение ручного прерывистого тромбоцитафереза путем дифференциального центрифугирования крови («жесткого» на первом этапе и «мягкого» - на втором) с выделением тромбоцитов из *лейкотромбоцитарного слоя*.

Несмотря на то, что прерывистый метод получения тромбоцитов уступает аппаратному тромбоцитаферезу по продолжительности (2,5-3 часа против 1-1,5 часов) и по количеству получаемых клеток ($220-280 \cdot 10^9$ против $800-900 \cdot 10^9$), благодаря своей простоте и доступности он широко используется в УСК.

Процедуры тромбоцитафереза у донора можно выполнять не чаще, чем 1 раз в 14 дней.

Вопросы для самоподготовки:

1. Принципы фракционирования крови.
2. Этапы заготовки крови.
3. Критерии оценки пригодности донорской крови для переливания.

ЛЕКЦИЯ №4 ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ.

План лекции.

1. ОТРАСЛЕВОЙ КЛАССИФИКАТОР ОСНОВНЫХ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ.
2. ЭРИТРОЦИТОСОДЕРЖАЩИЕ СРЕДЫ.
3. ПРЕПАРАТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ.
4. КОНЦЕНТРАТ ТРОМБОЦИТОВ.
5. КОНЦЕНТРАТ ЛЕЙКОЦИТОВ.

К основным компонентам крови, выпускаемым на СПК, относятся:

1. эритроцитсодержащие среды;
2. плазма;
3. концентрат тромбоцитов;
4. концентрат лейкоцитов.

Отраслевой классификатор делит гемокомпоненты в зависимости от их функции на типы и классы и присваивает каждому гемокомпоненту цифровой код:

- 01 - переносчики газов крови (цельная консервированная донорская кровь, эритроцитная масса и эритроцитная взвесь разных способов получения)
- 02 - корректоры гемостаза
 - 02.01 - корректоры сосудисто-тромбоцитарного гемостаза (тромбоцитный концентрат разных видов)
 - 02.02 - корректоры плазменно-коагуляционного гемостаза (плазма разных видов)
- средства коррекции иммунитета (плазма иммунная разных видов, лейкоцитный концентрат).

1. ЭРИТРОЦИТОСОДЕРЖАЩИЕ КОМПОНЕНТЫ КРОВИ

Эритроцитсодержащие среды в соответствии с отраслевым классификатором относятся к гемокомпонентам - переносчикам газов крови. Применяются для восстановления кислородтранспортной функции крови. Основными видами эритроцитных сред являются:

- эритроцитная масса;
- эритроцитная масса с удаленным лейкотромбоцитарным слоем;
- эритроцитная масса, обедненная лейкоцитами и тромбоцитами (ЭМОЛТ);
- эритроцитная взвесь;
- отмытые эритроциты;
- эритроцитная масса замороженная;
- эритроцитная масса восстановленная («омоложенная»).

1.1. Эритроцитная масса

Эритроцитная масса (ЭМ) – основной вид эритроцитсодержащих компонентов крови. Заготавливается из дозы консервированной крови в вдвоенных пластиковых контейнерах типа «Гемакон 500/300». После центрифугирования крови верхний слой – плазма с помощью плазмозекстрактора переводится в спаренный контейнер на 300мл, а в первом контейнере остаётся эритроцитная масса. Эритромаасса содержит примесь лейкоцитов и тромбоцитов, что при переливании вызывает образование антилейкоцитарных антител (аллосенсибилизацию), а при повторных переливаниях – фебрильные посттрансфузионные осложнения, обусловленные обычно наличием антител к антигенам лейкоцитов. ЭМ из крови, заготовленной на «Глюгидре», хранится при температуре $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение не более 21 дня.

1.2. Эритроцитная масса с удаленным лейкотромбоцитарным слоем получается путем центрифугирования дозы консервированной крови с последующим удалением не только плазмы, но и лейкотромбоцитарного слоя (ЛТС) – верхнего слоя клеток, в котором содержится основная масса тромбоцитов и лейкоцитов. Содержит в 2-2,5 раза меньше лейкоцитов, чем стандартная эритромаасса. При жестком режиме центрифугирования с последующим удалением ЛТС получают эритроконцентрат. Он используется в основном для приготовления взвеси эритроцитов.

1.3. Эритроцитная взвесь готовится путем *ресуспендирования* эритроцитной массы или эритроконцентрата во взвешивающем растворе, что улучшает *реологические свойства* трансфузионной среды и обеспечивает лучшую сохранность клеток. Для приготовления эритроцитной взвеси применяют ресуспендирующие и консервирующие растворы отечественного (*модежель*, *модежель-АФ*, *эритронаф* и др.) и зарубежного производства (SAGM, Adsol, Nutricell и др.). В зависимости от вида использованного взвешивающего раствора срок хранения взвеси эритроцитов составляет 21-42 дня. Эритроцитная масса, ресуспендированная 1:1 в *изотоническом растворе хлорида натрия*, хранится не более 1 суток.

1.4. Эритроцитная масса, обедненная лейкоцитами и тромбоцитами (ЭМОЛТ). ЭМОЛТ содержит количество лейкоцитов и тромбоцитов ниже критического, приводящего к аллоиммунизации – менее 25-30% исходного количества лейкоцитов и 10% тромбоцитов. Использование ЭМОЛТ при переливании эритроцитных сред показано при наличии у реципиентов антилейкоцитарных антител, а также при необходимости многократных гемотрансфузий. Удаление лейкоцитов и тромбоцитов из

эритроцитсодержащих гемокомпонентов может быть достигнуто несколькими способами:

1. путем 2-3-х кратного отмывания изотоническим раствором натрия хлорида с получением *отмытых эритроцитов*;
2. фильтрацией через специальные *лейкоцитарные фильтры*;
3. замораживанием.

Эритроциты, максимально обедненные лейкоцитами, получают путем сочетания удаления ЛТС и фильтрации с помощью лейкоцитарных фильтров третьего поколения, задерживающих до 99,999% лейкоцитов.

1.5. Эритроцитная масса замороженная

Это ЭМ, сохраняемая в замороженном состоянии при отрицательных температурах (от -30°C до -150°C) в присутствии специальных криозащитных веществ, которые предотвращают разрушение клеток при замораживании, но являются токсичными для организма и должны быть удалены перед трансфузией эритроцитов. В процессе 2-3х кратного отмывания криозащитных веществ вместе с надосадочной жидкостью удаляются также разрушенные в процессе замораживания лейкоциты и тромбоциты. Полученные таким образом размороженные и отмытые эритроциты относятся к трансфузионным средам, обедненным лейкоцитами и тромбоцитами (ЭМОЛТ). Криоконсервирование эритроцитов в жидком азоте является трудоемкой и затратной операцией и используется в основном для длительного хранения редкой и аутологичной крови. Размороженные и отмытые эритроциты хранятся не более 24 часов после оттаивания при температуре $4\pm 2^{\circ}\text{C}$.

1.6. Эритроцитная масса восстановленная («омоложенная»)

Используемый обычно в РФ гемоконсервант глюгицир позволяет сохранять кровь и эритроцитные среды не более 21 дня, после чего эритроциты теряют способность переносить кислород. Восстановление утраченных функций эритроцитов после предельного срока хранения достигается путем 1,5-часовой инкубации ЭМ в растворе, содержащем вещества, способные повышать уровень АТФ в эритроцитах (пируват, аденин, фосфат натрия и др.). Восстановленная ЭМ должна быть перелита в течение суток или заморожена.

2. ПЛАЗМА КРОВИ

Плазма представляет собой жидкую часть крови. Уникальность плазмы как гемокомпонента состоит в том, что она используется и для переливания, и

для производства препаратов крови: альбумина, протеина, факторов свертывания VIII, IX, иммуноглобулинов направленного действия и др.

Заготовка плазмы может осуществляться:

1. центрифугированием дозы консервированной крови;
2. методом ручного или автоматического плазмафереза.

В лечебной практике применяют следующие виды плазмы:

- плазма свежезамороженная;
- плазма замороженная;
- плазма нативная;
- криопреципитат;
- криосупернатантная плазма;
- обогащенная тромбоцитами плазма;
- плазма иммунная;
- плазма карантинная;
- плазма лиофилизированная.

2.1. Плазма свежезамороженная (СЗП)

Свежезамороженной называют плазму, в течение не более 6 часов с момента эксфузии крови отделенную от эритроцитов и быстро (в течение 1 часа) полностью замороженную до -30°C . Такой режим замораживания обеспечивает сохранение всех плазменных факторов свертывания крови, в том числе лабильных (неустойчивых): антигемофильного фактора VIII и фактора V. СЗП может храниться при температуре -30°C и ниже в течение 12 месяцев. Перед переливанием СЗП оттаивают на водяной бане при температуре $+35-37^{\circ}\text{C}$. Оттаявшая плазма должна быть прозрачной, соломенно-желтого цвета, без мути, хлопьев, нитей фибрина и признаков гемолиза и перелита в течение 1 часа. Повторному замораживанию плазма не подлежит. СЗП является самым высококачественным, но и самым дорогим плазменным компонентом крови.

2.2. Плазма замороженная

Замороженная плазма - это плазма, отделенная от эритроцитов и замороженная после истечения 8 часов с момента венепункции. Не содержит лабильных факторов свертывания крови, но в достаточном количестве содержит стабильные плазменные факторы свертывания (I, II, VII, IX).

2.3. Плазма нативная

Нативная (незамороженная) плазма хранится в жидком состоянии при температуре 2-6°C в течение не более 21 дня. Используется в основном как сырье для приготовления препаратов крови.

2.4. Криопреципитат

Криопреципит – часть СЗП, не растворяющаяся при температуре 0-4°C. Содержит активные факторы свертывания крови, в том числе VIII фактор и фибриноген. Применяется в основном для лечения гемофилии А. Криопреципитат получают при оттаивании СЗП до консистенции подтаявшего снега при температуре 0-4°C. Затем оттаявшую плазму центрифугируют в рефрижераторной центрифуге при 0-2°C. Не растворившийся при оттаивании и осевший в осадок при центрифугировании криопреципитат немедленно отделяют и замораживают при -45°C и ниже или подвергают *лиофильной сушке*. Криопреципитат хранится до 12 месяцев (замороженный - при (-25)-(-30)°C, лиофилизированный – при -2-6°C).

2.5. Криосупернатантная плазма

Криосупернатантная плазма остается после выделения из СЗП криопреципитата. Отличается от СЗП отсутствием лабильных факторов свертывания крови и фибриногена.

2.6. Обогащенная тромбоцитами плазма

Обогащенная тромбоцитами плазма получается при «мягком» центрифугировании дозы крови. Обычно используется как сырье для выделения концентрата тромбоцитов, а не в качестве трансфузионной среды.

2.7. Плазма иммунная

Иммунная плазма заготавливается от специально иммунизированных доноров или от доноров - носителей естественных антибактериальных антител. Получают преимущественно методом плазмафереза для большего выхода плазмы. Чаще используется антистафилококковая, антисинегнойная и антипротейная человеческая плазма.

2.8. Карантинная плазма

Карантинной называется свежзамороженная плазма, прошедшая *карантин*, то есть хранившаяся в течение 6 месяцев (максимальный срок латентного периода гемотрансмиссивных инфекций) с запретом использования. Через 6 месяцев после повторного обследования донора на гепатиты В и С, ВИЧ, сифилис при отсутствии признаков заболевания разрешается использовать плазму для трансфузии. Карантин плазмы

является дополнительной мерой профилактики передачи инфекционных агентов с кровью.

2.9. Плазма лиофилизированная

Лиофилизированная плазма получается при высушивании в *лиофильных условиях* нативной, криосупернатантной или иммунной плазмы. Лиофильно высушенная плазма может храниться при комнатной температуре в течение 5-10 лет. Перед применением сухую плазму растворяют в дистиллированной воде. Преимущества сухой плазмы: длительность и простота хранения и транспортировки имеют особое значение в военно-полевых условиях.

По отраслевому классификатору все виды плазмы, кроме иммунной, относятся к *компонентам крови - корректорам гемостаза*, а иммунная плазма является средством *коррекции иммунитета*. Каждый вид плазмы имеет свои показания для применения.

3. КОНЦЕНТРАТ ТРОМБОЦИТОВ

По отраслевому классификатору КТ относится к корректорам сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Используется для остановки кровотечений, обусловленных уменьшением количества тромбоцитов.

Тромбоцитный концентрат может быть получен 2 способами:

1. из отдельных доз донорской крови;
2. методом тромбоцитафереза.

Из дозы крови концентрат тромбоцитов получают путем двухэтапного центрифугирования в разных режимах. В зависимости от последовательности «мягкого» и «жесткого» центрифугирования концентрат тромбоцитов выделяют из обогащенной тромбоцитами плазмы («мягкое», затем «жесткое» центрифугирование) или из лейкотромбоцитарного слоя («жесткое», затем «мягкое» центрифугирование). Недостатком этого метода является невозможность получения *терапевтической дозы*

КТ из одной дозы донорской крови и необходимость объединения нескольких единиц КТ в один *пул*. Для получения лечебной дозы КТ сливают несколько (6-10) единиц КТ, желательно от одного донора - кровного родственника больного.

УСК выпускают тромбоцитный концентрат в разных формах:

- КТ из дозы крови;
- КТ пулированный моно- и полидонорский;
- КТ фильтрованный;
- КТ, гамма облученный;

- КТ, полученный прерывистым (автоматическим) аферезом;
- КТ размороженный.

В тромбоцитном концентрате, полученном любым способом, всегда содержится примесь лейкоцитов. Поэтому при развитии у реципиентов посттрансфузионных реакций или рефрактерности (неэффективности) трансфузий тромбоцитов необходимо удаление лейкоцитов, что может быть достигнуто путем повторного отмывания физраствором или использованием лейкоцитарных фильтров.

Непродолжительное время (до 3-5 дней) тромбоцитный концентрат может храниться при комнатной температуре (20-22°C) при постоянном помешивании в специальных тромбомиксерах. Длительное хранение тромбоцитов обеспечивается их криоконсервированием. При температуре -80°C замороженные тромбоциты могут храниться до 1 года и до двух лет - в парах жидкого азота (-150°C).

4. КОНЦЕНТРАТ ЛЕЙКОЦИТОВ

По отраслевому классификатору концентрат лейкоцитов (КЛ) относится к корректорам иммунитета. Действующим компонентом КЛ являются гранулоциты. В практической медицине трансфузии гранулоцитов используются редко. Единственным показанием к переливанию КЛ является резкое снижение количества гранулоцитов при наличии инфекции, не поддающейся лечению антибиотиками у лиц, имеющих шанс восстановления гемопоэза.

Концентрат лейкоцитов может быть получен теми же способами, что и КТ. Методом выбора при этом является аппаратный лейкоцитаферез. *Терапевтическую дозу лейкоцитного концентрата* получают только от одного донора. Иногда для заготовки большего количества лейкоцитов донору предварительно назначают специальные медикаменты (кортикостероиды, ростовые вещества и др.), увеличивающие выход гранулоцитов в кровь.

Концентрат лейкоцитов содержит примесь лимфоцитов, поэтому для профилактики посттрансфузионной БТПХ его подвергают гамма-облучению.

Лейкокконцентрат не подлежит хранению, он должен быть использован для трансфузии как можно скорее, не позднее 8 часов после заготовки.

Вопросы для самоподготовки:

1. Принцип построения отраслевого классификатора.

2. Виды эритроцитосодержащих сред.
3. Виды препаратов плазмы.

ЛЕКЦИЯ № 5 КОНСЕРВИРОВАНИЕ КРОВИ, ЕЁ КОМПОНЕНТОВ И КОСТНОГО МОЗГА

План лекции:

1. ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ КРОВИ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ
2. СПОСОБЫ КОНСЕРВИРОВАНИЯ КРОВИ И ЕЁ КОМПОНЕНТОВ
3. ГЕМОКОНСЕРВАНТЫ И ВЗВЕШИВАЮЩИЕ РАСТВОРЫ
4. КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ КЛЕТОК КРОВИ
5. КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ КОСТНОГО МОЗГА.

1. ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ КРОВИ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ

Сохранность *консервированной крови* оценивают в основном по полноценности эритроцитов.

В эритроцитах в процессе хранения при температуре +4°C в присутствии гемоконсерванта продолжают происходить процессы обмена веществ, которые сопровождаются рядом биохимических, морфологических, физико-химических и других изменений.

Биохимические изменения проявляются уменьшением содержания в эритроцитах АТФ, ответственного за сохранность эритроцитов в жизнеспособном состоянии, и падением концентрации 2,3 ДФГ (2,3-дифосфоглицерата) - промежуточного продукта гликолиза, ответственного за кислородтранспортную функцию эритроцитов.

Изменение морфологии эритроцитов в процессе хранения выражаются в постепенном превращении физиологической дисковидной формы эритроцитов вначале в шиповидную (*эхиноциты* – обратимое изменение), а затем – в сферическую (*сфероциты* – необратимое изменение). Одновременно нарушается проницаемость мембраны эритроцитов с выходом во внеклеточную среду содержимого клетки, в первую очередь калия и гемоглобина. Повышение уровня свободного гемоглобина является общепринятым критерием пригодности крови для переливания. По международным стандартам гемолиз в консервированных эритроцитарных средах не должен превышать 0,8%.

2. СПОСОБЫ КОНСЕРВИРОВАНИЯ КРОВИ И ЕЁ КОМПОНЕНТОВ

Для сохранения функциональной полноценности крови и её компонентов вне организма используются:

1. консервирующие растворы (гемоконсерванты), которые предотвращают свертывание крови и в течение определенного времени поддерживают жизнеспособность клеточных элементов;
2. оптимальные температурные условия. Длительное хранение компонентов крови может быть обеспечено только их замораживанием. Непродолжительное время (21-42 дня) цельная кровь и эритроциты сохраняют функциональную полноценность при температуре 2-6°C; тромбоциты - 3-5 дней при комнатной температуре и постоянном помешивании.

3. ГЕМОКОНСЕРВАНТЫ И ВЗВЕШИВАЮЩИЕ РАСТВОРЫ

Все *гемоконсерванты* - растворы для консервирования цельной крови при 4°C и последующего разделения её на фракции обязательно содержат 2 компонента:

- *стабилизаторы*, предупреждающие свертывание крови (цитрат натрия, лимонную кислоту);
- глюкозу - основной источник энергии для эритроцитов.

Дополнительное введение в состав консервирующих растворов веществ, поддерживающих энергетический запас эритроцитов (фосфата натрия, аденина и др.), увеличивает срок их хранения.

Гемоконсерванты делятся на 3 группы:

- 1) глюкозоцитратные – консерванты простейшего состава, содержащие только стабилизатор крови и глюкозу. К этой группе относятся широко используемый в РФ отечественный *глюглицир* (натрия цитрат 2,0г + глюкоза 3,0г на 100мл бидистиллированной воды) и зарубежный гемоконсервант ASD аналогичного состава. Кровь, заготовленная на глюкозоцитратных гемоконсервантах, при 4°C может храниться не более 21 суток.
- 2) глюкозофосфатные гемоконсерванты содержат, кроме стабилизатора и глюкозы, добавку фосфата натрия. Использование гемоконсервантов этой группы рекомендуется для заготовки крови, предназначенной для фракционирования. Отечественным представителем этой группы консервантов является цитроглюкофосфат (лимонная кислота 1,0г + глюкоза 3,0г + фосфат натрия 0,75г на 100мл бидистиллированной воды). За рубежом для массовой заготовки крови используют консерванты CPD 1-5, содержащие лимонную кислоту, цитрат натрия, глюкозу и фосфат натрия. Глюкозофосфатные гемоконсерванты обеспечивают сохранность крови до 35 суток при 4°C.

3) гемоконсерванты с метаболическими добавками увеличивают срок хранения крови до 42 суток. Чаще всего в качестве метаболической добавки, способствующей синтезу АТФ в эритроцитах, применяется аденин. Он входит в состав отечественного гемоконсерванта циглюфад и большинства консервирующих растворов для цельной крови зарубежных фирм (CPDA разных модификаций). Использование гемоконсервантов с метаболическими добавками целесообразно в случае, если кровь заготавливается для переливания, а не для получения гемокомпонентов.

Отечественные гемоконсерванты при заготовке крови добавляются в соотношении кровь : консервант = 4:1.

Взвешивающие (ресуспендирующие) консервирующие растворы предназначены для приготовления эритроцитарной взвеси. Они содержат метаболические добавки (фосфат натрия, аденин, никотинамид и др.), поддерживающие гликолиз в эритроцитах, и обеспечивают сохранность клеток в течение 35-42 суток. В УСК используются следующие ресуспендирующие и консервирующие растворы для эритроцитов:

- эритронаф (натрия хлорид+натрия фосфат+аденин+никотинамид);
- модежель (цитрат натрия+хлорид натрия+желатин);
- модежель-АФ (модежель+фосфат натрия+аденин);
- SAG-M, Adsol (глюкоза+хлорид натрия+аденин+маннит);
- Optisol (хлорид натрия+фосфат натрия+аденин+аскорбат натрия) и др.

4. КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ КЛЕТОК КРОВИ

Криоконсервирование используется для длительного хранения эритроцитов и тромбоцитов. Лейкоциты длительному хранению не подлежат.

Консервирующее действие низких температур основано на их способности замедлять или полностью останавливать обменные процессы в живых клетках, сохранять их структуру и функции в течение длительных сроков.

Криоконсервирование клеточных компонентов крови может осуществляться:

- при умеренно низких температурах (-30-80°C) в электрических холодильниках в тех же пластиковых контейнерах, в которых клеточные компоненты были заготовлены;
- при ультранизких температурах – в жидком азоте (-196°C) или в его парах (-140-150°C) с использованием специальных металлических

(алюминиевых) гофрированных контейнеров объемом 290мл (для эритроцитной взвеси) и 50, 75 и 160мл - для тромбоцитов.

4.1.Криопротекторы

Простое замораживание клеточных компонентов крови приводит к обезвоживанию клеток и разрушению их кристаллами льда. Для защиты клеток от повреждающего действия отрицательных температур используют специальные вещества - *криопротекторы* (криофилактики, криозащитные вещества, хладоограждающие вещества), которые образуют с молекулами воды очень прочные связи, более прочные, чем связи между молекулами криопротектора. Связывание воды препятствует образованию кристаллов льда, предотвращает обезвоживание и разрушение клеток.

Криозащитные вещества делятся на 3 группы:

- проникающие в клетку - глицерин, диметилацетамид (ДМАЦ), диметилсульфоксид (ДМСО), пропиленгликоль и др.;
- не проникающие в клетку (поливинилпирролидон – ПВП и др.);
- смешанного действия (ПЭО-1500 и др.).

Для замораживания клеток крови чаще используются криофилактики внутриклеточного действия как наиболее эффективные. Недостатком криопротекторов этой группы является то что, проникая внутрь клеток, они существенно повышают их осмотическое давление. Переливание таких эритроцитов привело бы к их гемолизу вследствие большой разницы между осмотическим давлением донорских эритроцитов и плазмы реципиента. Поэтому перед трансфузией размороженных клеток криозащитные вещества удаляют путем 2-3х кратного отмывания растворами, не проникающими в клетки (сахароза, маннит, сорбит, хлорид натрия) в убывающих концентрациях (6%, 2% и 1% растворы NaCl; 16%, 5% и 2,5% растворы маннита). Чем выше концентрация глицерина во взвеси клеток, тем длительнее должен быть процесс отмывания.

Для разных видов клеток и режимов замораживания используются разные криоконсерванты. Замораживание эритроцитов проводится с использованием специальных хладоограждающих растворов, разработанных в ЦНИИГПК и различающихся концентрацией глицерина. Для криоконсервирования в жидком азоте применяют раствор ЦНИИГПК 114 со сравнительно низким содержанием глицерина (30%), а для медленного замораживания эритроцитов при -30°C – растворы ЦНИИГПК с более высокой концентрацией глицерина (55% глицерин в растворе ЦНИИГПК 1115 или 40% глицерин в растворе ЦНИИГПК 115).

Криоконсервирование тромбоцитов осуществляется под защитой раствора «Тромбокриодмац», содержащего диметилацетамид (ДМАЦ) и глюкозу. Тромбокриодмац нетоксичен и не требует отмывания перед трансфузией размороженного тромбоцитного концентрата.

4.2. Этапы криоконсервирования

Процесс криоконсервирования клеток проводится в специальном отделении СПК и состоит из нескольких этапов:

1. внесение криопротектора;
2. замораживание;
3. хранение;
4. размораживание;
5. удаление криопротекторов из суспензии клеток (деглицеринизация).

Клетки проявляют разную устойчивость к воздействию отрицательных температур, поэтому для каждого вида клеток разработаны специальные технологии криоконсервирования.

Эритроциты относятся к безъядерным клеткам со сравнительно простым строением и выдерживают режимы как очень быстрого, так и медленного замораживания. Для тромбоцитов и ядерных клеток костного мозга, отличающихся сложностью структуры и многообразием функций, очень быстрое замораживание до ультранизких температур является губительным. Для их консервирования используют постепенное медленное замораживание в жидком азоте с помощью программных охлаждающих аппаратов. Аппараты программного замораживания работают по принципу регулируемой подачи жидкого азота и позволяют управлять процессом охлаждения в широком диапазоне температур – от -30°C до -196°C с разной скоростью охлаждения.

4.3. Криоконсервирование эритроцитов

В настоящее время для криоконсервирования эритроцитов разрешено 2 метода:

1. очень быстрое замораживание до -196°C в жидком азоте с криоконсервантом ЦНИИГПК 114;
2. медленное замораживание и хранение эритроцитов при умеренно низких температурах (-30°C) с криоконсервантами ЦНИИГПК 1155 или 115.

Замораживанию подвергают эритромассу или эритроконцентрат 1-3 суток хранения (не более 5-ти).

Метод быстрого замораживания эритроцитов в жидком азоте

Быстрое охлаждение эритроцитов до -196°C позволяет использовать сравнительно низкие концентрации глицерина (конечная концентрация

20%). Это обусловлено спецификой данного метода, при котором сохранность эритроцитов обеспечивается не только криозащитными веществами, но и дополнительными факторами - очень быстрой скоростью замораживания ($1,5-2^{\circ}\text{C}/\text{сек}$) и хранением при постоянных ультранизких температурах.

Основные этапы криоконсервирования эритроцитов в жидком азоте:

1. Подготовка к замораживанию. В пластиковый контейнер с эритроцитной массой медленно при помешивании добавляют равный объем ограждающего раствора ЦНИИГПК 114. Затем взвесь эритроцитов в криоконсерванте переливают в алюминиевый контейнер и оставляют на 15-20 минут при комнатной температуре для полной глицеринизации эритроцитов.
2. Замораживание эритроцитов проводят путем погружения металлического контейнера в ванну с жидким азотом (-196°C). Замораживание дозы ЭМ в 250мл продолжается около 2 минут.
3. Хранение замороженных эритроцитов. Контейнер с замороженными эритроцитами переносят в специальный жидкоазотный бункер для длительного хранения. В жидком азоте замороженные эритроциты могут храниться 5 лет и более.
4. Оттаивание эритроцитов производят в ванне с подогретой водой ($+45^{\circ}\text{C}$) при автоматическом покачивании в течение 25 секунд.
5. Подготовка эритроцитов для переливания. Размороженную взвесь эритроцитов переводят в полимерный контейнер и производят 3-х кратное отмывание эритроцитов от глицерина солевыми или маннитно-солевыми растворами с последовательно снижающейся концентрацией. Затем отмытые эритроциты ресуспендируют в растворе ЦНИИГПК 8в (сахароза+хлорид натрия+фосфат натрия) в соотношении 1:1 и используют для переливания в течение 24 часов после заготовки.

К преимуществам криоконсервирования эритроцитов в жидком азоте относится низкая конечная концентрация глицерина и максимально длительное хранение клеток. Однако сложная технология и высокая стоимость метода ограничивают его применение только хранением доз эритроцитов с редким фенотипом и аутологичной крови.

Метод медленного замораживания и хранения эритроцитов при -30°C проводится аналогично описанному выше со следующими особенностями:

- для замораживания и хранения эритроцитов используют электрические холодильники;

- замораживание эритроцитов осуществляется в тех же пластиковых контейнерах, в которых они были заготовлены;
- для криоконсервирования применяют ограждающие растворы ЦНИИГПК 1155 или 115 с высокой концентраций глицерина;
- при температуре -30°C замороженные эритроциты могут храниться до одного года.

К недостаткам метода медленного замораживания эритроцитов при -30°C относится высокая конечная концентрации глицерина ($\sim 40\%$) и необходимость длительного (3-4-х кратного) отмывания оттаянных эритроцитов. Однако использование полимерных контейнеров (вместо алюминиевых) и электрических холодильников (вместо жидкого азота) делают этот метод, по сравнению с криоконсервированием в жидком азоте, более экономичным.

4.4. Криоконсервирование тромбоцитов

Криоконсервирование тромбоцитов проводится путем медленного замораживания при ультранизких температурах в жидком азоте (-196°C) в аппаратах программного замораживания с хладоограждающим раствором «Тромбокриодмац».

Для замораживания может использоваться концентрат тромбоцитов, полученный любым разрешенным методом (из дозы консервированной крови, путем аппаратного или ручного тромбоцитафереза) не более 2-4 часов хранения после заготовки.

Этапы криоконсервирования тромбоцитов:

1. Подготовка к замораживанию заключается в добавлении в пластиковый контейнер с КТ при постоянном помешивании равного объема раствора «Тромбокриодмац». Затем смесь тромбоцитов с ограждающим раствором сразу же переводят в алюминиевый контейнер на 50, 75 или 160мл.
2. Замораживание взвеси тромбоцитов осуществляется в аппарате программного замораживания с медленной скоростью охлаждения ($3^{\circ}\text{C}/\text{мин.}$ до -60°C) в течение около 30 минут.
3. Хранение замороженных тромбоцитов проводится в бункере с жидким азотом, предназначенном для длительного хранения клеток. Тромбоциты, замороженные с раствором «Тромбокриодмац» в жидком азоте, сохраняют биологическую полноценность в течение 2 лет.
4. Размораживание КТ проводят в водяной ванне при температуре $+37-38^{\circ}\text{C}$ при автоматическом покачивании контейнера в течение 15-20 секунд.
5. Подготовка КТ для трансфузии предусматривает перевод размороженной тромбовзвеси из алюминиевого в пластиковый контейнер

«Компопласт 300». При одновременной обработке нескольких контейнеров с тромбоцитами одной групповой и резус-принадлежности, предназначенных для одного больного, содержимое 5-6 контейнеров сливают в один контейнер и немедленно передают в клинику для трансфузии, которая должна быть произведена в течение первых двух часов после приготовления.

5. КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ КОСТНОГО МОЗГА

Современные методы криоконсервирования костного мозга позволяют сохранить в жизнеспособном состоянии лишь 80-90% гемопоэтических клеток, поэтому после пересадки криоконсервированного костного мозга его приживание наступает в среднем через 13 дней, а после пересадки только что заготовленного костного мозга - через 3-5 дней.

Криоконсервированию обычно подвергается лишь аутологичный костный мозг. Аллогенный и сингенный донорский костный мозг не замораживают - после получения их немедленно передают в клинику для трансплантации. Пересадка же собственного костного мозга больному-аутодонору производится не сразу после миелозкфузии, а после курса высокодозной цитостатической терапии основного заболевания (лейкоза, злокачественной опухоли), на которую требуется определенное время. Именно на этот период аутологичный костный мозг подвергают криоконсервированию.

Консервирование костного мозга осуществляется при ультранизких температурах в жидком азоте под защитой криопротекторов (глицерина, ДМСО и др.) в аппаратах программного замораживания с медленной скоростью охлаждения ($-1^{\circ}\text{C}/\text{мин.}$).

Основные этапы замораживания костного мозга аналогичны криоконсервированию тромбоцитов с дополнительным проведением *миелокариоцитафереза* (см. п. 5.4) перед внесением криопротектора.

Вопросы для самоподготовки:

1. Изменения в эритроцитах в процессе хранения.
2. Способы консервирования.
3. Условия криоконсервирования.
4. Виды гемоконсервантов.

ЛЕКЦИЯ № 6 АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ. ГРУППЫ КРОВИ СИСТЕМЫ АВ0.

План лекции:

1. АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ.
2. ПОНЯТИЕ О ГРУППАХ КРОВИ.
3. ВАРИАНТЫ АНТИГЕНА А.
4. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП КРОВИ.

1. АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

1.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Антигены эритроцитов человека (*аллоантигены*) располагаются на внешней поверхности мембраны эритроцитов. По химической структуре они относятся к гликолипидам (антигены системы АВ0, Левис, Р и др.) или протеинам (антигены системы Резус, MNS и др.). Лейкоцитарные антигены системы HLA являются гликопротеидами.

В настоящее время в эритроцитах выявлено более 270 антигенов, составляющих 26 систем. Из них клиническое значение, то есть способность вызывать развитие посттрансфузионных осложнений или участвовать в иммунологическом конфликте мать-плод имеют 13 систем: АВ0, Резус, Келл, Даффи, Kidd, MNS, Лютеран, Левис и другие.

1.2. ЧИСЛОВАЯ ТЕРМИНОЛОГИЯ АНТИГЕНОВ ЭРИТРОЦИТОВ

В 1980г. Международным обществом переливания крови для упорядочения и унификации многочисленных эритроцитарных антигенов создано Рабочее совещание, которое разработало единую числовую терминологию антигенов поверхности эритроцитов.

Нумерация систем и самих эритроцитарных антигенов соответствует порядку их открытия. Так, система АВ0 открыта первой (Ландштейнер, 1901г.) и имеет номер 001, система MNS – номер 002 (Ландштейнер, Левин, 1927г.), система Резус – номер 004 (Винер, Ландштейнер, Левин, 1940г.) и т.д. Внутри каждой системы также имеется порядковая нумерация самих эритроцитарных антигенов. Таким образом, полный номер антигенов обозначается шестизначным числом: первые 3 цифры соответствуют номеру системы, а последние 3 цифры – номеру самого антигена внутри системы. Допускается написание системы буквами (АВ0, RH, Kell и др.)

Например, антиген В системы АВ0 имеет полный номер 001.002 (001 – номер системы, 002 – номер антигена). Он также может быть обозначен

как АВ0 002 или АВ0 2. Написание антигена D системы резус может иметь вид: 004.001; или RH 001; или RH 1.

2. ПОНЯТИЕ О ГРУППАХ КРОВИ

С позиций современных знаний по иммуногематологии «*Группа крови*» - это сочетание антигенов в эритроцитах, лейкоцитах, тромбоцитах и плазменных белках, которое генетически предопределено и не изменяется в течение жизни.

Однако в практической трансфузиологии под группами крови традиционно понимают сочетания только антигенов эритроцитов системы АВ0.

2.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

К системе групп крови АВ0 относятся два групповых антигена - А и В и два вида антител, которые в настоящее время принято обозначать анти-А и анти-В антитела взамен использовавшихся ранее α - и β -*изогемаггюлининов*. По международной терминологии название антител образуется путем добавления приставки «анти» к названию соответствующего антигена. Так, антитела анти-А обозначаются как анти-001.001 или анти-АВ0 1.

Уникальность системы АВ0 состоит в том, что в плазме у неиммунных людей имеются *естественные антитела* к отсутствующему на эритроцитах антигену. Во всех других системах эритроцитарных антигенов антитела не являются врожденными и могут появиться лишь вследствие антигенной стимуляции (после переливания крови, беременности).

Различные сочетания антигенов и антител системы АВ0 образуют 4 группы крови, которые по международной номенклатуре обозначаются только буквами по названию имеющихся антигенов: 0, А, В и АВ (без указания номера и имеющихся антител).

0 группа крови – на эритроцитах нет ни антигена А, ни антигена В;

А группа – на эритроцитах присутствует только антиген А;

В группа - на эритроцитах присутствует только антиген В;

АВ группа – на эритроцитах присутствуют антигены А и В.

Антигены системы АВ0 являются самыми сильными (*иммуногенными*) среди всех антигенов поверхности эритроцитов: АВ>D>K>c>E>C>e.

3. ВАРИАНТЫ АНТИГЕНА А

В настоящее время известно, что антигены А и В по своему составу неоднородны. Однако для клинической медицины имеют значение только

варианты антигена А, варианты же антигена В выражены слабо и практического значения не имеют. Антиген А представляет собой целый комплекс антигенов – их более 30: $A_1, A_2, A_3, A_4 \dots A_{27}, A_x$. Если на эритроцитах присутствует антиген A_1 (сильный агглютиноген), то кровь относят к соответствующей группе: A_1 (II) или A_1B (IV). Если же эритроциты не содержат антиген A_1 , а содержат любой антиген из A_2-A_{27} , то кровь относят к подгруппе A_2 (II) или A_2B (IV). Антигены подгруппы A_2 дают с анти-А-антителами слабую агглютинацию (мелкую, позднюю).

Практическое значение подгруппы A_2 заключается в том, что при отсутствии на эритроцитах антигена A_1 к нему могут вырабатываться антитела (анти- A_1 -антитела, или *экстраагглютинины* α_1). Переливание таким реципиентам крови второй или четвертой группы, содержащей антиген A_1 , приводит к агглютинации и гемолизу эритроцитов.

Подгруппа A_2 встречается у 3-5% людей со второй группой и у 25-30% людей с четвертой группой крови. Экстраагглютинины α_1 во второй группе (подгруппа A_2) встречаются в 1% случаев, а в четвертой группе (A_2B) – в 25%.

Для предотвращения несовместимости крови по антигену A_2 необходимо учитывать наличие экстраагглютинина α_1 как у донора, так и у реципиента. Не допускается переливание группы А в подгруппу A_2 , так же, как и переливание подгруппы A_2 в группу А.

Реципиентам с подгруппой A_2 следует переливать отмытые эритроциты первой группы, а для подгруппы A_2B использовать эритроциты третьей группы или отмытые эритроциты первой группы.

4. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГРУПП КРОВИ

До недавнего времени *определение групп крови* проводилось только одним методом – с помощью стандартных изогемагглютинирующих сывороток. В настоящее время появились и находят все более широкое применение и другие, более современные, методы определения групп крови: с помощью моноклональных антител (целиклонов анти-А и анти-В), гелевый метод, ПЦР-анализ.

Определение групп крови в ЛПУ и УСК проводится в соответствии с приказом МЗ РФ №2 от 9.01.98 «Об утверждении инструкций по иммуносерологии».

4.1. Классификация методов определения групп крови системы АВ0

I. Методы, в основе которых лежит реакция агглютинации в солевой среде:

1) прямая реакция:

- с поликлональными реагентами;

- с моноклональными реагентами;
- 2) перекрестный метод.
- II. Методы гелевой технологии (сочетание реакции агглютинации и геле-фильтрации).
- III. Молекулярно-генетические методы (ПЦР-анализ).

Наиболее широко для определения групп крови используются методы, основанные на реакции агглютинации:

- 1) *прямая (простая) реакция*, при которой группа крови определяется по наличию на эритроцитах антигенов, выявляемых с помощью реагент-диагностикумов, содержащих анти-А и анти-В-антитела (стандартных изогемагглютинирующих сывороток I-III групп или цоликлонов анти-А и анти-В). Прямая реакция используется для *первичного определения групп крови* в лаборатории СПК и лечащим (дежурным) врачом в больнице.
- 2) *перекрестный метод* (прямая + обратная реакция), при котором производится одновременное выявление антигенов эритроцитов с помощью стандартных сывороток и антител сыворотки с помощью стандартных эритроцитов (обратная реакция). Перекрестный метод используется для *компетентного определения группы крови*, которое проводится в подтверждающей лаборатории специалистом-иммуногематологом. При этом результаты прямой и обратной реакции обязательно должны совпадать. Любое несоответствие этих результатов требует уточнения и дополнительных исследований.

4.2. Реагенты для определения групп крови системы АВ0

В качестве *реагент-диагностикумов* групп крови длительное время использовали только сыворотки доноров с известной группой крови (стандартные изогемагглютинирующие сыворотки). В настоящее время для этих целей широко используются также продукты биотехнологии – моноклональные реагенты (цоликлоны).

Реагенты для определения групп крови делятся на 2 группы:

1. Специфические реагенты – содержат анти-А и анти-В-антитела, дающие с соответствующими антигенами специфическую реакцию агглютинации:
 - поликлональные реагенты – содержат, кроме анти-А и анти-В-антител, антитела другой специфичности (*стандартные изогемагглютинирующие сыворотки* I-IV групп);
 - моноклональные реагенты – содержат антитела определенной специфичности и не содержат никаких других антител (*цоликлоны* анти-А, анти-В, анти-АВ, анти А+В, анти-А₁).

2. Неспецифические реагенты – вещества, получаемые из растений и низших животных, способные связывать определенные антигены на поверхности эритроцитов, в результате чего наступает агглютинация клеток:

- фитогемагглютинины (*лектины*) – для выявления антигена A_1 ;
- реагент для выявления антигена A_2 (экстракт виноградных улиток).

Содержащиеся в специфических реагентах антитела анти-А и анти-В относятся к полным антителам - *иммуноглобулинам класса М (IgM)*, которые дают реакцию

агглютинации с соответствующими антигенами в солевой среде при комнатной температуре.

4.3. Метод агглютинации в геле

Гелевая технология определения групп крови предложена французским ученым Лаперье в 1989г. с целью стандартизации реакций гемагглютинации и получения достоверных результатов.

Суть метода заключается в том, что вместо пластинок и пробирок реакция агглютинация проводится в *геле* - *СЕФАДЕКС*, состоящем из полиакриламидных шариков, сходных по размеру с эритроцитами. Гелем сефадекса заполняют микропробирки, вмонтированные в пластиковые карты. После добавления к гелю эритроцитов и специфических антител пластиковые карты центрифугируют в специальных центрифугах. Если реакции агглютинации нет, то не склеенные эритроциты под действием центробежной силы свободно проходят через гель, формируя на дне микропробирки компактный осадок красного цвета. При положительной реакции агглютинаты эритроцитов из-за больших размеров задерживаются на поверхности геля или в его толще. Если образовавшиеся агглютинаты эритроцитов задержались на поверхности геля, сила реакции оценивается как 4+; при расположении их в верхней трети столбика геля – как 3+, в верхних двух третях – как 2+; в нижней трети геля – как 1+. Если эритроциты образуют компактный осадок на дне микропробирки - реакция отрицательна (агглютинации нет).

Для проведения тестов используются 3 вида геля:

- 1) нейтральный гель, не содержащий специфических антител – применяется в контрольных микропробирках и для идентификации антител;
- 2) специфический гель, содержащий антитела (моноклональные или поликлональные) к антигенам эритроцитов человека – применяется для

определения групп крови, резус-принадлежности, антигена Келл и других антигенов эритроцитов всех известных систем;

- 3) антиглобулиновый гель, содержащий антитела к иммуноглобулинам человека – применяется для пробы Кумбса, при поиске и идентификации иммунных антител, пробе на совместимость крови донора и реципиента.

В пластиковые идентификационные карты (ID карты) Dia Med встроено по 6 микропробирок. В пяти пробирках содержится смесь геля и реагентов, содержащих определенные антитела, а контрольная (шестая) пробирка содержит нейтральный гель без антител (ctl). Пробирки в ID-карте маркируются по выявляемым антигенам. Например:

A-B- AB-D-DCE-Ctl (для определения группы крови системы ABO и резус-фактора);

C-c-E-e-K-Ctl (для выявления антигенов системы резус и Келл).

К преимуществам гелевого метода относятся высокая чувствительность и специфичность, возможность количественной оценки силы агглютинации, выявления слабых вариантов антигенов (A_2 и D^U) и кровяных химер, использование минимального количества крови (15мкл) для максимального спектра исследований и др.

Метод гелевой технологии находит все более широкое распространение в практической медицине.

4.4. Молекулярно-генетические методы (ПЦР-анализ)

Самым совершенным методом определения антигенов крови в настоящее время является метод полимеразной цепной реакции. Он проводится с помощью антиген-специфических праймеров и выявляет антигены на уровне ДНК. Метод обладает очень высокой чувствительностью и позволяет использовать для исследования чрезвычайно малые количества материала, причем практически любого (высохшие следы крови, кусочки любой ткани и т.д.).

Из-за высокой стоимости ПЦР-анализ пока используется в основном в НИИ.

Вопросы для самоподготовки:

1. Клиническое значение антигенов эритроцитов разных систем.
2. Понятие «группа крови» в практической медицине.
3. Характеристика групп крови системы ABO.
4. Методы определения групп крови системы ABO.

ЛЕКЦИЯ № 7 АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ СИСТЕМЫ РЕЗУС.

План лекции:

1. АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ СИСТЕМЫ РЕЗУС.
2. ВАРИАНТЫ АНТИГЕНА D.
3. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ.
4. АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ СИСТЕМЫ КЕЛЛ.

1.АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ СИСТЕМЫ РЕЗУС

1.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Система антигенов эритроцитов Резус, вторая по активности после системы АВ0, открыта в 1940 году К. Ландштейнером и Винером. В настоящее время эта система насчитывает более 75 антигенов, пять из которых относятся к значимым в клинической практике: D, C, $\bar{c}$, E, e. Отсутствие антигена D обозначают буквой d.

Система Резус в отличие от системы АВ0 не имеет естественных антител. Антитела антирезус появляются только после иммунизации резус-отрицательного организма в результате переливания резус-положительной крови или беременности резус-положительным плодом. У sensibilized лиц антитела к резус-антигенам сохраняются несколько лет, иногда на протяжении всей жизни и при повторном контакте с антигенами резус вызывают гемолиз эритроцитов (посттрансфузионные гемолитические осложнения, гемолитическую болезнь новорожденных).

1.2. ПРИНЦИП ДЕЛЕНИЯ КРОВИ ПО РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Самым сильным («мажорным») антигеном системы Резус является антиген D, который и подразумевается под термином «резус-фактор». Именно по наличию или отсутствию на эритроцитах антигена D кровь делится на резус-положительную и резус-отрицательную. Различные сочетания антигенов резус в крови отдельных людей составляют 28 групп (фенотипов) системы Резус. Фенотип человека представляет собой набор антигенов резус, который содержит по антигену каждого вида от обоих родителей. Например: при генотипах родителей CDe/cDe фенотип их ребенка будет CcDee. В 14 фенотипах содержится антиген D – они являются резус – положительными, а другие 14 не содержат антигена D –

их относят к резус – отрицательным. Однако такая оценка резус-принадлежности крови применяется лишь для реципиентов.

У доноров же принцип деления крови на резус-положительную Rh (+) и резус-отрицательную rh(-) несколько иной. Доноры считаются rh(-), если у них на эритроцитах не содержится ни антиген D, ни антиген C, ни антиген E, то есть при фенотипе ccddee. Это связано с тем, что, хотя антигены C и E менее активны, чем D, к ним также могут вырабатываться антитела.

Распространенность антигена D в разных регионах Земли разная. У европеоидов, в том числе и в РФ, доля rh(-) лиц составляет в среднем 14-16%, в то время как среди монголоидов rh(-) фенотип встречается менее чем у 1% населения, и резус-конфликты у них чрезвычайно редки.

По сравнению с антигеном D *иммуногенность* других антигенов системы резус («минорных», то есть более слабых) значительно ниже и убывает в следующем ряду: $D > \bar{c} > E > C > e$.

2. ВАРИАНТЫ АНТИГЕНА D

Характерной чертой антигенов системы Резус является мозаицизм (неоднородность). Все антигены системы Резус имеют разновидности – варианты: D^{weak} , $D^{partial}$, C^w , E^w , однако практическое значение имеют только *варианты антигена D*.

D^{weak} (weak – слабый) относится к слабой разновидности антигена D, а при $D^{partial}$ на эритроцитах присутствует измененный (partial - частичный) антиген D. Для удобства в повседневной работе слабые варианты антигена D объединяют в группу D^u , частота которой составляет около 1%. Эритроциты, несущие антиген D^u , в отличие от эритроцитов с антигеном D, не агглютинируются полными антителами анти-D в солевой среде, а дают агглютинацию только с неполными антителами анти-D в коллоидной среде.

При наличии на эритроцитах антигена D^u кровь реципиентов и беременных женщин относят к резус-отрицательной, а кровь доноров – к резус-положительной. Не допускается переливание крови с антигеном D^u резус-отрицательным реципиентам, так как это может вызвать у них образование антител анти- D^u .

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ

3.1. Реагенты для определения резус-принадлежности крови

Определение *резус-принадлежности крови* проводится с помощью реакции агглютинации исследуемых эритроцитов с реагентами, содержащими антитела к антигенам системы Резус: анти-D, анти-C, анти- $\bar{c}$, анти-E, анти-e. В зависимости от свойств содержащихся в них антител различают несколько видов реагентов анти-резус.

1. Реагенты, содержащие *неполные антитела* анти-резус (Ig G). Они дают реакцию агглютинации только в коллоидной среде (*конглоутинацию*). В солевой среде IgG лишь соединяются с эритроцитами, содержащими одноименные антигены, но не вызывают их агглютинации, так что внешне эта реакция никак не проявляется. Чтобы установить, произошла ли фиксация неполных резус-антител на эритроцитах, необходимо добавление коллоидов (желатина, полиглокина), увеличивающих вязкость среды и приближающих эритроциты друг к другу настолько, что даже Ig G образуют агглютинаты. Реагенты, содержащие неполные антитела, могут быть моноклональные и поликлональные.

А) Поликлональные реагенты - содержат неполные антитела анти-резус, а также антитела иной специфичности (антибактериальные, антивирусные и др.). Поликлональные реагенты готовятся из сыворотки крови людей, в которой содержатся активные антитела анти-резус. К поликлональным реагентам анти-резус относятся:

- стандартные сыворотки антирезус с неполными антителами в чистом виде (анти-D, анти-C, анти-c, анти-E, анти-e), а также их сочетания (анти-DC, анти-DE, анти-DCE);
- стандартный универсальный реагент антирезус анти-D, анти-DC, анти-DCE и др.

Б) Моноклональные реагенты – содержат неполные антитела анти-резус определенной специфичности и не содержат никаких других антител:

- цоликлон анти-D и др.

2. Реагенты, содержащие *полные антитела* (Ig M) к антигену D, вызывают агглютинацию эритроцитов в солевой среде. Они также могут быть:

А) поликлональные:

- стандартная сыворотка антирезус анти-D с полными антителами;

Б) моноклональные:

- цоликлоны анти-D супер, анти-C супер, анти-E супер и др.

Активность антител, содержащихся в разных реагентах–антирезус, проявляется только в определенных условиях. В зависимости от способа приготовления реактивов анти-резус и формы содержащихся в них антител определение может проводиться в пробирках или на плоскости, с подогревом или без подогрева, с добавлением коллоидных растворов, в солевой или гелевой среде, разное время – от 3-5 минут до 1 часа.

Оценка результатов исследования также может проводиться по-разному: невооруженным глазом, с лупой или при микроскопии. Поэтому к реагенту-антирезус прилагается сопроводительная инструкция, в которой указывается методика использования данного реагента.

При каждом исследовании или серии исследований ставится контроль для проверки специфичности и активности реагента антирезус. Для контроля применяются стандартные резус-положительные и стандартные резус-отрицательные эритроциты. Результаты определения резус-принадлежности учитываются как истинные только при отсутствии агглютинации со стандартными резус-отрицательными эритроцитами и наличии агглютинации со стандартными резус-положительными эритроцитами.

3.2. Определение антигенов системы Резус

Антиген D может быть выявлен любым из перечисленных выше реагентов антирезус анти-D, содержащим как полные, так и неполные антитела. В настоящее время в большинстве УСК антиген D выявляют реакцией агглютинации на плоскости с помощью цоликлона анти-D супер.

Исследованию на D^u подвергаются образцы крови, в которых не содержится антиген D. Для выявления антигена D^u необходимо проведение двух проб: с полными и неполными антителами анти-D. Сочетание отрицательной реакции с полными антителами и положительной реакции с неполными антителами свидетельствует о наличии в крови антигена D^u.

При определении резус-принадлежности крови с помощью гелевого теста не требуется проведения дополнительных исследований на D^u. Сила реакции с реактивом анти-D от (+1) до (+3) указывает на антиген D^u, а реакция (+4) – на антиген D.

Минорные антигены системы Резус (C, c, E, e) выявляются с помощью реагентов, содержащих соответствующие антитела: анти-C, анти-c, анти-E,

анти-е, которые могут быть полными и неполными, в чистом виде или в сочетании с антителами анти-D (DC, DE, DCE).

3.3. Определение резус-принадлежности крови реципиента

Так как деление крови реципиентов на Rh (+) и rh(-) проводится по наличию или отсутствию на эритроцитах антигена D, определение резус-принадлежности у них сводится к выявлению антигена D одним из перечисленных выше реагентов анти-D. В настоящее время предпочтение отдается цоликлону анти-D супер, содержащему полные антитела анти-D (Ig M). При наличии на эритроцитах антигена D реципиента относят к Rh (+), а при отсутствии антигена D - к rh(-).

Кровь реципиента, в которой антиген D полными антителами не выявлен, дополнительно исследуется на D^u реагентами с неполными антителами (цоликлоном анти-D, универсальным реагентом анти-D и др.). В случае положительного результата этой дополнительной реакции с неполными антителами и отрицательной реакции с полными антителами анти-D констатируют наличие в крови антигена D^u. Реципиентов с D^u относят к резус-отрицательным и им должна быть перелита только резус-отрицательная кровь.

Кроме антигена D, у реципиентов рекомендуется также определять антиген $\bar{c}$, обладающий наиболее выраженными антигенными свойствами среди минорных антигенов системы резус. Около 20% людей не содержат антиген $\bar{c}$ в эритроцитах. Именно эти люди составляют группу повышенного риска развития посттрансфузионного осложнения, поскольку им в 80% случаев переливают эритроциты, содержащие $\bar{c}$ фактор.

Для того чтобы уменьшить индекс сенсibilизации населения и избежать посттрансфузионных осложнений, обусловленных несовместимостью по этому фактору, у всех реципиентов целесообразно определять антиген $\bar{c}$ и при его отсутствии переливать кровь доноров, не содержащих антигена $\bar{c}$ (то есть CC).

У некоторых реципиентов, кроме антигена D, определяют также все минорные антигены системы Резус, то есть полный фенотип резус. Это требуется для реципиентов с многократными гемотрансфузиями, при наличии у больных анти-резус антител, а также у беременных женщин.

3.4. Определение резус-принадлежности крови донора

У доноров, в отличие от реципиентов, для оценки резус-принадлежности крови требуется определение полного фенотипа по системе Резус.

В настоящее время для этого чаще используют моноклональные антитела анти-D, анти-C и анти-E (цоликлоны анти-D супер, анти-C супер и анти-E супер), содержащие полные антитела к соответствующим антигенам системы Резус.

В число резус-отрицательных зачисляются только доноры, эритроциты которых не содержат ни антигена D, ни антигена C, ни антигена E, то есть с фенотипом ccddee.

Образцы донорской крови, давшие отрицательную реакцию с полными антителами анти-D, так же, как и аналогичные образцы крови реципиентов, должны быть дополнительно протестированы на антиген D^u. Для этого используют реагенты с неполными антителами анти-D или непрямую *пробу Кумбса* – самый точный метод для выявления D^u. Доноры с антигеном D^u квалифицируются как Rh(+), так как переливание их крови может вызвать у rh(-) реципиентов образование антител анти-D^u, а в случае предшествующей сенсibilизации к этому антигену посттрансфузионные осложнения.

4. МЕНЕЕ ИММУНОГЕННЫЕ АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Кроме систем АВ0 и Резус, в настоящее время известно еще 24 системы эритроцитарных антигенов, большинство из которых было открыто при изучении причин посттрансфузионных осложнений и получило название по имени лиц, у которых они впервые были обнаружены: Lutheran (LU-005), Kell (006), Lewis (LE-007), Daffy (Fy-008), Ridd (JK-009), Diego (DI-010) и т.д. Среди них самой иммуногенной является *система Kell*.

4.1. АНТИГЕНЫ ЭРИТРОЦИТОВ СИСТЕМЫ КЕЛЛ

Антиген К содержится у 7-9% людей. По антигену К типировались только доноры, кровь которых идет на переливание. Доноры, у которых обнаруживается антиген К, от донорства крови (эритроцитов) отстраняются. Им рекомендуется другой вид донорства (плазмы, тромбоцитов, лейкоцитов и т.д.).

К-положительные образцы крови к переливанию не допускаются.

Определение антигена К производят теми же методами, что и антиген D, с помощью реагентов анти-К.

Вопросы для самоподготовки:

1. Принцип деления крови на резус-положительную и резус-отрицательную.
2. Варианты антигена D.
3. Клиническое значение антигенов эритроцитов системы Резус.
4. Методы определения полного фенотипа Резус

ЛЕКЦИЯ № 8 АЛЛОАНТИТЕЛА К ЭРИТРОЦИТАРНЫМ АНТИГЕНАМ. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ АНТИГЕНЫ

План лекции:

1. ПРИЧИНЫ ПОЯВЛЕНИЯ ИММУННЫХ АЛЛОАНТИТЕЛ.
2. КЛАССИФИКАЦИЯ АЛЛОАНТИТЕЛ.
3. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛОАНТИТЕЛ.
4. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ АНТИГЕНЫ.

1. АЛЛОАНТИТЕЛА К АНТИГЕНАМ ЭРИТРОЦИТОВ

1.1. ПРИЧИНЫ ПОЯВЛЕНИЯ ИММУННЫХ АЛЛОАНТИТЕЛ

В сыворотке крови человека обычно не содержатся *антитела* к антигенам эритроцитов, кроме *естественных* анти-А и анти-В-антител системы АВ0.

Причиной появления *иммунных антител* является попадание в кровь человека отсутствующего у него антигена. Антитела, образующиеся в ответ на введение антигенов крови человека, отсутствующих у данного индивидуума, но свойственных человеку как виду, называются *аллоиммунными* (от греч. *allos* – другой), а процесс их появления – *аллоиммунизацией* (аллосенсибилизацией). Опасность аллоиммунизации заключается в том, что при повторном контакте с антигеном, вызвавшим образование антител, происходит агглютинация и гемолиз эритроцитов, в результате чего развивается посттрансфузионное осложнение или *гемолитическая болезнь плода и новорожденного* (ГБПН).

В настоящее время *индекс аллоиммунизации* населения, то есть число лиц, в крови которых присутствуют иммунные антиэритроцитарные антитела, довольно высок и составляет в разных регионах РФ от 0,16% до 0,5% . Это обусловлено как естественным процессом аллоиммунизации в результате беременностей, присущим человеку как виду млекопитающих,

так и вмешательством самого человека в этот процесс. Главной причиной существенного повышения индекса аллоиммунизации населения явилось переливание в течение длительного времени эритроцитсодержащих сред без учета полного фенотипа эритроцитов донора и реципиента.

Чаще всего происходит аллоиммунизация антигенами системы Резус.

2. КЛАССИФИКАЦИЯ АЛЛОАНТИТЕЛ

Классификация аллоантител основана на их клинической значимости, специфичности и форме.

По клинической значимости иммунные антиэритроцитарные антитела делятся на *клинически значимые*, *клинически не значимые* и антитела, обычно не имеющие клинического значения, но при определенных условиях его приобретающие. Клинически значимыми называются антитела, способные вызывать разрушение эритроцитов, несущих соответствующий антиген. Абсолютное клиническое значение имеют резус-антитела (анти-D, C, c, E, e), иммунные антитела системы АВ0 (анти-A и B) и антитела системы Келл (анти-K, k). Не имеют клинического значения холодовые антитела, так как они теряют активность при температуре тела (+37°C). Все остальные антитела обычно не имеют клинического значения, но могут его приобретать при определенных условиях.

По *специфичности* антитела бывают: анти-A, анти-B, анти-D, анти-C, анти- $\bar{c}$, анти-E, анти-e, анти-K и т.д. Специфичность антител определяется антигеном, с которым они реагируют.

По форме различают *полные* (Ig M) и *неполные* антитела (Ig G).

1.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛОАНТИТЕЛ

В связи с высоким индексом аллоиммунизации населения для профилактики посттрансфузионных осложнений и диагностики ГБНП принято проводить определение иммунных клинически значимых антител к антигенам эритроцитов (*скрининг антител*) у следующих категорий лиц:

- у доноров;
- у реципиентов перед гемотрансфузией;
- у беременных женщин.

Если аллоантитела обнаруживаются у донора, то цельная кровь и плазма этого донора к переливанию не допускается. После идентификации антител сыворотка такого донора может быть использована для производства диагностических реагентов.

Если аллоиммунные антитела обнаружены у реципиента, то ему требуется специальный подбор донорской крови.

Дородовой (антенатальный) скрининг антител проводится несколько раз в течение беременности у всех женщин независимо от резус-принадлежности. Если на 12-16 неделе беременности клинически значимые антитела не обнаружены, то повторное исследование проводится на 28 неделе, а затем контрольное – перед родами. При обнаружении антител исследования проводят чаще: 1 раз в месяц до 28 недель, 1 раз в 2 недели до 32 недель и 1 раз в неделю до 34-36 недель с обязательным определением титра антител. Значительное повышение титра антител в последние 4 недели гестации свидетельствует о развитии гемолитической болезни плода и о необходимости подготовки крови для заменного переливания новорожденному. Снижение титра антител более чем на 2 ступени указывает на выраженный гемолиз эритроцитов плода, представляющий угрозу для его жизни. В этом случае проводят досрочное родоразрешение и *заменное переливание крови* новорожденному.

4. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЛОАНТИТЕЛ

Определение антител основано на реакции агглютинации антител исследуемой сыворотки с антигенами *стандартных (типированных) эритроцитов*.

При аллоиммуннизации могут вырабатываться антитела и в полной, и в неполной форме, поэтому их обнаружение проводится обязательно двумя методами:

- 1) методом солевой агглютинации для выявления полных антител;
- 2) любым методом для выявления неполных антител в коллоидной среде:
 - пробой с 10% желатином с микроскопией отрицательного результата (метод *конглоутинации* с желатином);
 - гелевым тестом;
 - непрямой пробой Кумбса.

Метод выявления аллоантител в коллоидной среде с 33% полиглоукином имеет очень низкую чувствительность и специфичность и не рекомендуется к применению.

Одним из наиболее чувствительных и специфичных методов выявления аллоантител является непрямая проба Кумбса.

4.1. Проба Кумбса

Для проведения *пробы Кумбса* используется антиглобулиновая сыворотка. Она представляет собой сыворотку кролика,

иммунизированного сывороточными белками крови человека, и содержит антитела к человеческим глобулинам, в том числе и к резус-антителам - «антитела к антителам». Проба Кумбса может проводиться в двух вариантах: прямой и непрямой реакции.

Прямая проба Кумбса служит для обнаружения антител, фиксированных на эритроцитах. К исследуемым эритроцитам, содержащим адсорбированные резус-антитела, добавляют антиглобулиновую сыворотку, которая связывается с антителами-анти-резус, вызывая агглютинацию эритроцитов. Прямая проба Кумбса применяется для диагностики гемолитической болезни новорожденных и аутоиммунных состояний.

Непрямая проба Кумбса основана на реакции неполных антител, находящихся в сыворотке крови в свободном, не фиксированном состоянии, с антиглобулиновой сывороткой. Проба может применяться для выявления как антигенов эритроцитов, так и антител сыворотки. Непрямая проба Кумбса проводится в два этапа. Первый этап заключается в инкубации *in vitro* (в пробирке) эритроцитов со свободными антителами, что приводит к фиксации антител на эритроцитах (сенсibilизации эритроцитов). На втором этапе под действием антител антиглобулиновой сыворотки происходит агглютинация сенсibilизированных эритроцитов.

Проба Кумбса является самым чувствительным, хотя и довольно трудоёмким методом выявления неполных антител сыворотки и антигенов эритроцитов. Она может проводиться как традиционным способом (в пробирке), так и в гелевом тесте.

4.2. Скрининг антител

Определение аллоантител проводится в два этапа. На первом этапе выясняют, имеются ли в сыворотке крови донора, реципиента или беременной женщины иммунные антитела (*скрининг антител*). В случае их обнаружения проводится второй этап – *идентификация антител*, при которой устанавливают, против каких именно антигенов направлены имеющиеся аллоантитела.

Скрининг антител выполняется у всех лиц, подлежащих обследованию на антитела. Цель скрининга - выяснить, есть иммунные антитела в сыворотке крови или нет. Специфичность антител при этом определить невозможно. Скрининг антител проводится со стандартными эритроцитами, содержащими все клинически значимые антигены.

Оптимальной является панель стандартных эритроцитов, состоящая из трёх видов клеток:

- 1) эритроциты групп крови А (II) и В (III) - для выявления иммунных анти-А и анти-В-антител;
- 2) эритроциты группы крови 0(I), содержащие максимальный набор антигенов систем Резус и Келл ($C\bar{c}DEeKk$) – для обнаружения антител анти-резус и анти-келл;
- 3) эритроциты группы крови 0(I) фенотипа MN, MM, NN, P – для выявления антител к антигенам систем MNS и P.

Скрининг антител у реципиентов и беременных женщин проводится в ЛПУ, а у доноров – на СПК.

Заключение о наличии в сыворотке аллоантител делается при положительном результате, полученном любым методом исследования (в солевой или коллоидной среде).

Заключение об отсутствии в сыворотке антител можно сделать только при отрицательных результатах двух исследований – на полные и неполные антитела. При этом следует учитывать возможный феномен «зоны».

4.3. Феномен «зоны»

При очень высокой степени иммунизации организма (чаще антигеном D) образующиеся антитела иногда дают *феномен «зоны»* («прозоны»). Этот феномен заключается в том, что сыворотка крови, взятая неразведенной или в небольшом разведении (1:2), может не давать реакцию агглютинации с резус-положительными эритроцитами. Однако если такую сыворотку развести, то при разведении (чаще всего 1:8, 1:16) резус-антитела в ней становятся активными и дают хорошо выраженную агглютинацию.

Если все методы, включая непрямую пробу Кумбса, не выявляют в сыворотке резус-антитела, а в анамнезе у лица, кровь которого исследуется, есть указания на сенсибилизацию к резус-антигену, то для исключения феномена зоны следует испытать эту сыворотку, взятую в разведениях.

а. Идентификация антител

Второй этап определения аллоантител – их идентификация проводится только у тех доноров, реципиентов и беременных женщин, в сыворотке которых обнаружены антитела. При этом определяют специфичность антител, выявленных при первичном скрининге. Для идентификации антител используют панель стандартных типированных эритроцитов, включающих образцы:

- $C\bar{c}DEeKk$;

- CCeekk;
- $\bar{c} \bar{c}$ EEkk;
- $\bar{c} \bar{c}$ eeKK;
- $\bar{c} \bar{c}$ eekk;
- $\bar{c} \bar{c}$ D eekk.

В зависимости от того, антитела какой формы (только полные, только неполные, полные и неполные) выявлены при первичном скрининге, их идентификация проводится в солевой, коллоидной или и в солевой, и в коллоидной среде.

После установления специфичности антител у донора на СПК решают вопрос о целесообразности использования сыворотки этого донора для изготовления стандартных реагентов.

Идентификация аллоантител реципиента позволяет осуществить специальный выбор донора для данного больного. Выбор производится из числа доноров, одноклассных с больным по системе АВ0 и резус-принадлежности. При этом в крови донора не должны содержаться антигены, против которых у больного имеются антитела.

4. ЛЕЙКОЦИТАРНЫЕ АНТИГЕНЫ

Как и антигены эритроцитов человека, антигены лейкоцитов группируются в системы. Наибольшее значение для практической трансфузиологии имеет система лейкоцитарных антигенов HLA (Human Leucocyte Antigens). Антигены HLA не зависят от групповой и резус-принадлежности человека и называются ещё антигенами гистосовместимости, так как именно от них зависит приживаемость пересаженного органа. К настоящему времени известно более 150 разновидностей антигенов системы HLA, из них клинически наиболее важными являются HLA – A, B, C и DR.

По химическому составу антигены HLA относятся к гликопротеидам и содержатся на поверхности лейкоцитов, а также в небольшом количестве на всех клетках крови и в плазме.

Набор лейкоцитарных антигенов передается по наследству: половина имеющихся у ребенка HLA-антигенов наследуется от отца и половина – от матери. Родные братья и сестры, идентичные по одному блоку (гаплотипу) антигенов HLA, встречаются в 50% случаев, идентичные по двум гаплотипам – в 25%, остальные 25% отличаются по антигенам обоих гаплотипов.

Так как переливание компонентов крови обычно проводится без учета антигенов HLA, у больных в результате гемотрансфузий появляются антилейкоцитарные антитела, что при повторных переливаниях приводит к посттрансфузионным осложнениям, чаще всего в виде фебрильных реакций. Основной мерой профилактики лихорадочных посттрансфузионных реакций является предупреждение лейкоцитарной сенсибилизации.

Лучшим методом для этого является подбор донора со сходным HLA – фенотипом. Однако на практике это пока не доступно. Для профилактики лейкоцитарной сенсибилизации рекомендуется применять эритроцитные среды с минимальным количеством лейкоцитов и тромбоцитов (ЭМОЛТ, размороженные и отмытые эритроциты), а также специальные лейкоцитарные фильтры.

Подбор донора и реципиента по лейкоцитарным антигенам имеет решающее значение при трансплантации органов и костного мозга. Так, при совпадении четырех антигенов локусов HLA–B и DR большинство пересаженных почек функционируют 5 лет и более. При несовпадении по трем антигенам функционирование почек обычно прекращается через 2 года, а при несовпадении по четырем антигенам – через 1 год.

При пересадке костного мозга ситуация ещё более сложная, так как возникает опасность не только отторжения пересаженного органа, но и развития болезни «Трансплантат против хозяина» (БТПХ), поскольку в костном мозге содержится большое количество *иммунокомпетентных клеток*. Выраженная БТПХ может привести к гибели реципиента. Наилучший прогноз при пересадке костного мозга можно ожидать лишь при полной идентичности антигенов донора и реципиента по всем четырем локусам системы HLA – A, B, C и DR.

Вопросы для самоподготовки:

1. Причины аллоиммунизации.
2. Классификация аллоантител.
3. Методы определения аллоантител.
4. Феномен «прозоны»: проявления, причины.

ЛЕКЦИЯ № 9 ПЕРЕЛИВАНИЕ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ.

План лекции:

1. ПРИНЦИПЫ СОВРЕМЕННОЙ ТРАНСФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ.

2. ТЕХНОЛОГИЯ ГЕМОТРАНСФУЗИЙ.
3. ПЕРЕЛИВАНИЕ ЭРИТРОЦИТОСОДЕРЖАЩИХ СРЕД.
4. ПЕРЕЛИВАНИЕ ПЛАЗМЫ, КОНЦЕНТРАТА ТРОМБОЦИТОВ, КОНЦЕНТРАТА ЛЕЙКОЦИТОВ.

1. ПРИНЦИПЫ СОВРЕМЕННОЙ ТРАНСФУЗИОННОЙ ТЕРАПИИ

Переливание компонентов крови является потенциально опасным способом замещения их дефицита у реципиента. В настоящее время гемотрансфузия приравнивается к операции аллотрансплантации со всеми вытекающими отсюда последствиями – как положительными, так и отрицательными. Поэтому показания к применению гемокомпонентов, особенно аллогенных, строго ограничены. Они должны применяться лишь в тех случаях, когда без них невозможно обойтись.

Современная *трансфузионная терапия* строится на следующих *принципах*:

1. безопасность;
2. компонентность;
3. индивидуальность;
4. достаточность;
5. при показаниях – терапия должна быть комбинированной;
6. при возможности – аутологичной.

Принцип безопасности подразумевает, прежде всего, предупреждение заражения гемоинфекциями и профилактику посттрансфузионных осложнений.

Принцип компонентности трансфузионной терапии заключается в том, что при дефиците какого-либо компонента крови его замещают одноименным донорским компонентом, а не цельной кровью. Это позволяет избежать аллоиммунизации и необоснованной нагрузки на организм реципиента при трансфузии большого количества крови. Так, переливание концентрата тромбоцитов в лечебной дозе по эффективности заменяет трансфузию 4-6л цельной крови.

Принцип индивидуальности предусматривает индивидуальный подбор трансфузионной терапии для реципиента в соответствии с принципом «Один донор – один больной». Трансфузионная среда составляется не из пула (смеси) одноименных компонентов от разных доноров, а от одного донора, наиболее совместимого по антигенному составу, лучше – от родственника по крови.

Принцип достаточности предусматривает ликвидацию у реципиента лишь критического, опасного дефицита какого-либо компонента крови, а не полное его замещение. Дальнейшее восстановление компонента крови у больного происходит самостоятельно.

При определенных показаниях трансфузионная терапия должна проводиться в сочетании с инфузиями кровезаменителей. Такая комбинированная трансфузионно-инфузионная терапия дает значительно больший лечебный эффект, чем цельная кровь, особенно при лечении критических состояний.

Аутологичные трансфузионные среды, полученные от самого больного, по сравнению с аллогенными компонентами крови имеют целый ряд преимуществ, главными из которых является отсутствие аллоиммунизации и риска передачи гемоинфекций.

2. ТЕХНОЛОГИЯ ГЕМОТРАНСФУЗИИ

Для переливания трансфузионных сред наиболее доступны и удобны подкожные вены локтевого сгиба, кисти, стопы, предплечья, голени. Преимущественно для трансфузий используются кубитальные вены локтевого сгиба. При недоступности периферических вен и необходимости длительной трансфузионной терапии проводят пункцию и катетеризацию подключичной вены. Другие пути введения трансфузионных сред (внутрикостный, внутриартериальный, внутриаортальный, внутрисердечный) применяются очень редко.

2.1. Подготовка к переливанию компонентов крови

Подготовка к переливанию компонентов крови начинается с определения показаний для гемотрансфузии и получения информированного добровольного согласия пациента на переливание донорской крови или аутогемотрансфузию в установленной письменной форме. Врач обязан разъяснить больному необходимость трансфузионной терапии, её цели, возможный риск и альтернативное лечение. В случаях, когда состояние больного не позволяет ему выразить свою волю, а переливание неотложно, вопрос о его проведении решает *консилиум*, а при невозможности собрать консилиум – лечащий (дежурный) врач.

Перед переливанием гемокомпонентов у реципиента собирается трансфузионный, а у женщин дополнительно – акушерский *анамнез*, а также проводится *апробация крови реципиента* согласно алгоритму.

2.2. Мероприятия, проводимые при переливании крови

Переливание гемотрансфузионных сред производится врачом при строгом соблюдении правил асептики и антисептики с использованием одноразовых устройств для внутривенного введения, имеющих фильтр.

Врач, производящий трансфузию эритроцитсодержащих компонентов крови, обязан, независимо от проведенных ранее исследований и имеющихся записей, лично провести следующие контрольные исследования у постели реципиента:

осмотреть полимерный контейнер с трансфузионной средой, оценить герметичность контейнера, правильность паспортизации, отсутствие в трансфузионной среде сгустков, гемолиза, мутности, свидетельствующих о непригодности гемокомпонента для переливания;

- определить группу крови реципиента по системе АВ0 и сверить полученный результат с данными в истории болезни;
- определить группу крови донора по системе АВ0 и сверить полученный результат с данными на этикетке контейнера;
- сопоставить данные о резус-принадлежности донора на этикетке контейнера с данными о резус-принадлежности реципиента в истории болезни;
- провести *пробы на индивидуальную совместимость* эритроцитов донора и сыворотки реципиента по системам АВ0 и Резус;
- провести *биологическую пробу*.

При переливании плазмы врач, выполняющий трансфузию, обязан определить группу

крови реципиента и провести биологическую пробу. Пробы на индивидуальную совместимость не проводятся. Группа крови и резус-принадлежность донора устанавливаются по этикетке на контейнере с плазмой.

2.3. Пробы на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента и биологическая проба.

Пробы на индивидуальную совместимость крови донора и реципиента позволяют убедиться в том, что у реципиента нет антител, направленных против эритроцитов донора, и таким образом предотвратить трансфузию эритроцитов, не совместимых с кровью больного. **Проба на совместимость по системе АВ0** выполняется на плоскости при комнатной температуре и имеет целью выявить у реципиента полные антитела системы АВ0, MNS, Lewis и др. **Проба на совместимость по системе Резус** предназначена для

выявления у реципиента неполных антител и проводится одним из методов: с 10% желатином, непрямой пробой Кумбса или гелевым тестом.

Биологическая проба предшествует переливанию каждой отдельной дозы трансфузионной среды и проводится для исключения её индивидуальной несовместимости с кровью реципиента. Техника проведения биологической пробы: однократно переливается 10-15мл трансфузионной среды со скоростью 40-60 кап/мин., затем переливание прекращают и в течение 3 минут наблюдают за реципиентом, контролируя у него пульс, дыхание, АД, общее состояние, цвет кожи, измеряют температуру тела. Эту процедуру повторяют три раза. Появление в этот период даже одного из таких симптомов, как озноб, боли в пояснице, чувство жара и стеснения в груди, головная боль, тошнота, рвота и другие признаки несовместимости, требует немедленного прекращения трансфузии и отказа от переливания данной трансфузионной среды.

При отсутствии признаков несовместимости переливание продолжают до конца, контролируя самочувствие реципиента.

После переливания контейнер с остатками трансфузионной среды и пробирку с кровью реципиента хранят в холодильнике в течение двух суток.

Реципиент после окончания трансфузии в течение 2-х часов соблюдает постельный режим и наблюдается лечащим или дежурным врачом. Каждый час ему измеряют АД и температуру тела, отмечая эти данные в истории болезни. Особенное внимание обращают на мочеиспускание, объем и цвет мочи. Появление красной окраски мочи при сохранении её прозрачности свидетельствует об остром гемолизе. На следующий день обязательно проводят общий анализ мочи и крови.

3. ПЕРЕЛИВАНИЕ ЭРИТРОЦИТСОДЕРЖАЩИХ СРЕД

Трансфузии крови и её эритроцитсодержащих компонентов (переносчиков газов крови) направлены на восполнение объема циркулирующих эритроцитов и поддержание нормальной кислородтранспортной функции крови при анемиях.

В настоящее время цельная кровь для переливания не используется, за исключением случаев острых массивных кровопотерь, когда отсутствуют компоненты крови и кровезаменители. Единственным показанием для трансфузии цельной крови остается *заменное переливание* при гемолитической болезни новорожденных. Во всех остальных случаях по показаниям вводят эритроцитсодержащие компоненты крови, чаще всего

эритроцитную массу. Реципиентам, сенсibilизированным к антигенам лейкоцитов и тромбоцитов (много рожавшим женщинам, больным после многократных трансфузий), а также для предупреждения аллоиммунизации рекомендуется переливать эритроцитные среды с пониженным содержанием лейкоцитов и тромбоцитов - ЭМОЛТ.

Кровь и её эритроцитсодержащие компоненты переливают реципиенту только одноименной с ним групповой и резус-принадлежности. При отсутствии одногруппной по системе АВ0 крови действующая инструкция в исключительных случаях и по жизненным показаниям допускает переливание крови «универсального» 0(I) резус-отрицательного донора реципиентам с любой группой крови в объеме не более 500мл. При аналогичных ситуациях разрешается также переливание rh(-) донорской крови А (II) или В (III) групп реципиентам АВ (IV) группы независимо от резус-принадлежности реципиента.

Если отсутствует возможность перелить одногруппную кровь, то Rh(+) реципиенту с любой группой крови допускается трансфузия крови или ЭМ 0(I) Rh(+) группы. Соответственно кровь Rh(+) А (II) или В (III) группы можно перелить Rh(+) реципиенту с АВ (IV) группой.

Основным показанием для переливания эритроцитсодержащих сред является **острая анемия** вследствие массивной кровопотери, когда потеря крови $\geq 25-30\%$ ОЦК, $Hb < 70-80$ г/л, гематокрит $< 25\%$ и имеются циркуляторные нарушения: одышка, сердцебиение, снижение АД на фоне бледности кожи и слизистых. Трансфузии эритроцитных сред при **хронических анемиях** проводятся редко и только в тех случаях, когда тяжелые клинические проявления анемии (одышка, тахикардия и т.п.) не поддаются патогенетической терапии, направленной на ликвидацию причины анемии. Уровень гемоглобина при хронических анемиях не может быть ориентиром для назначения трансфузии эритроцитов, так как он колеблется в зависимости от объема переливаемых кровезаменителей, диуреза, степени сердечной компенсации.

Критериями эффективности переливания эритроцитных сред являются:

- улучшение клинических показателей (уменьшение одышки, сердцебиения);
- повышение уровня гемоглобина и гематокрита крови. Переливание одной единицы эритромассы (то есть количества эритроцитов, полученного из 450мл крови) при отсутствии кровотечения повышает уровень гемоглобина примерно на 10 г/л и уровень гематокрита – на 3%.

4. ПЕРЕЛИВАНИЕ ПЛАЗМЫ

Главными компонентами плазмы, определяющими её лечебное применение, являются белки – альбумины, глобулины, факторы свертывания крови.

В практической медицине чаще всего используется плазма свежезамороженная и криопреципитат. Переливаемая плазма должна быть одной группы с реципиентом по системе АВ0. Совместимость по системе резус не обязательна, но при переливании больших объемов плазмы (более 1л) резус-принадлежность донора и реципиента должны совпадать. В экстренных случаях при отсутствии одногруппной СЗП допускается переливание плазмы группы АВ0 (IV) реципиенту с любой группой крови.

Показаниями для переливания СЗП являются:

- острая массивная кровопотеря (более 30% ОЦК) с развитием геморрагического шока и ДВС-синдрома;
- острый ДВС-синдром;
- болезни печени, сопровождающиеся снижением продукции плазменных факторов свертывания (цирроз печени, острый гепатит);
- передозировка антикоагулянтов непрямого действия (дикумарин и др.);
- коагулопатии, обусловленные дефицитом плазменных антикоагулянтов.

Криопреципитат содержит активные факторы свертывания крови (фактор VIII, фибриноген и др.) и применяется в основном для профилактики и остановки кровотечений у больных гемофилией.

4.1. ПЕРЕЛИВАНИЕ КОНЦЕНТРАТА ТРОМБОЦИТОВ

Переливание концентрата тромбоцитов в последние годы стало обязательным условием программной терапии лейкозов, апластической анемии, трансплантации костного мозга.

Терапевтическая доза КТ для взрослых реципиентов составляет 300-500·10⁹.

Показанием к переливанию КТ является снижение количества тромбоцитов в крови до 20·10⁹/л, сопровождающееся развитием геморрагического синдрома: появлением кровоточивости слизистых оболочек, синяков на коже, *спонтанных кровотечений* из ЖКТ, матки, почек и т.д.

Донор КТ должен быть совместим с реципиентом по антигенам АВ0 и резус. При отсутствии одногруппного КТ допустимо переливание тромбоцитов 0(I) группы реципиентам других групп.

Критериями эффективности переливаний КТ являются:

- клинические признаки (прекращение спонтанной кровоточивости, отсутствие свежих геморрагий на коже и слизистых);
- лабораторные признаки (увеличение количества тромбоцитов, уменьшение времени кровотечения).

4.2. ПЕРЕЛИВАНИЕ КОНЦЕНТРАТА ЛЕЙКОЦИТОВ

Действующим компонентом концентрата лейкоцитов, определяющим его лечебное действие, являются гранулоциты с выраженной фагоцитарной активностью. *Терапевтической дозой КЛ* является $10 \cdot 10^9$ клеток, из которых не менее 60% относятся к гранулоцитам.

При трансфузиях КЛ строго выполняется правило «Один донор – один больной». Донор обязательно должен быть совместим с реципиентом по системам АВ0 и резус. Желательна также совместимость по антигенам HLA.

Основным показанием к переливанию КЛ является снижение абсолютного количества гранулоцитов менее $0,5 \cdot 10^9/\text{л}$ при наличии инфекции, не поддающейся лечению антибиотиками, и шанса восстановления гемопоэза (при сепсисе новорожденных, реципиентам костного мозга).

Критерием эффективности переливания лейкоцитного концентрата является улучшение клинического состояния больного (снижение температуры тела, уменьшение интоксикации и т.д.). Увеличение количества лейкоцитов в крови показателем эффективности трансфузии служить не может, так как перелитые лейкоциты быстро мигрируют из крови в очаг воспаления.

Трансфузии лейкоцитного концентрата в практической медицине используются редко, что обусловлено:

особенностями самого гемокомпонента: сложностью подбора пары донор-реципиент, появлением антилейкоцитарных антител уже через 4-6 трансфузий и неэффективностью дальнейших переливаний; наличием высокоэффективных антибиотиков.

Вопросы для самоподготовки:

1. Основные принципы трансфузионной терапии.
2. Пути введения трансфузионных сред.
3. Подготовка к переливанию компонентов крови.
4. Мероприятия, проводимые при переливании компонентов крови.

ЛЕКЦИЯ № 10 АУТОГЕМОТРАНСФУЗИИ. ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА И СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

План лекции:

1. ПРЕИМУЩЕСТВА И ПОКАЗАНИЯ АУТОГЕМОТРАНСФУЗИЙ.
2. МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ АУТОГЕМОТРАНСФУЗИЙ.
3. ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА И СКПК.

АУТОГЕМОТРАНСФУЗИИ

Под *аутодонорством* и *аутогемотрансфузией* подразумевают получение у больного крови или её компонентов с последующим переливанием взятой крови этому же больному.

1. ПРЕИМУЩЕСТВА АУТОГЕМОТРАНСФУЗИЙ:

- отсутствие аллоиммунизации;
- исключение риска передачи гемоинфекций;
- уменьшение риска посттрансфузионных реакций;
- отсутствие необходимости индивидуального подбора крови для пациентов с множественными аллоантителами;
- меньшая потребность в донорской крови;
- стимуляция эритропоэза пациентов-аутодоноров.

1.2. ПОКАЗАНИЯ К АУТОГЕМОТРАНСФУЗИИ:

- сложные и объемные плановые хирургические операции с предполагаемой кровопотерей более 20% ОЦК (кардиохирургия, особенно операции с АИК, ортопедия и травматология, урология и др.);
- пациенты с *редкой группой крови* и невозможностью подбора совместимой трансфузионной среды (аллосенсибилизация к минорным антигенам эритроцитов);
- отказ пациентов от донорской крови по религиозным мотивам.

2. МЕТОДЫ ПРОВЕДЕНИЯ АУТОГЕМОТРАНСФУЗИЙ:

- предоперационная заготовка аутокрови;
- интраоперационная гемодилюция;

- интраоперационная реинфузия;
- послеоперационная реинфузия.

Предоперационная заготовка аутокомпонентов крови предусматривает резервирование до планового оперативного вмешательства аутологичной крови, эритроцитов, плазмы или тромбоцитов, которые затем переливают тому же больному в ходе операции. Предоперационная заготовка аутологичных трансфузионных сред показана во всех случаях, когда прогнозируемая величина операционной кровопотери более 0,5л и предполагает восполнение её эритроцитарными средами или плазмой, а также когда планируется операция с использованием аппарата искусственного кровообращения (АИК). За 3-4 недели до плановой операции у больного собирают 3-4 дозы (до 1000-1200мл) аутокрови или необходимых гемокомпонентов.

Последняя заготовка должна осуществляться не позднее, чем за 72 часа до планируемой операции. Способ хранения аутологичных компонентов крови выбирают в зависимости от сроков оперативного вмешательства.

Интраоперационная гемодилюция основана на извлечении из сосудистого русла больного 500-1000мл крови во время операции (до или сразу после введения его в наркоз) с замещением ОЦК солевыми или коллоидными кровезаменителями и реинфузией аутокрови сразу после завершения основного этапа операции и выполнения хирургического гемостаза. Применяют с целью уменьшения кровопотери, так как в ходе операции теряется разбавленная, а не цельная кровь.

Интраоперационная реинфузия предусматривает обратное вливание в сосудистое русло больного крови, излившейся по ходу операции в рану или серозные полости. Показана при массивных кровопотерях, когда операционное поле стерильно и не содержит опухолевых клеток. Сбор крови для интраоперационной реинфузии проводится с помощью стерильного отсоса в стерильную емкость с последующим отмыванием эритроцитов физиологическим раствором и возвратом их реципиенту.

Послеоперационная реинфузия заключается в сборе крови, выделяющейся в первые часы после операции, в стерильные емкости с последующим возвратом собранной крови больному. Для этого вида аутологичных гемотранфузий используют специальные низковакуумные герметичные системы для активного дренирования ран, которые отсасывают кровь из раны, стабилизируют её, фильтруют и возвращают больному по закрытому контуру, исключаящему контакт с внешней средой и инфицирование. Чаще

всего этот метод применяется при кардиохирургических и ортопедических операциях.

Для проведения аутотрансфузии крови и её компонентов требуется письменное согласие больного. Аprobация аутокрови проводится так же, как и донорской крови. При маркировке аутологичной крови на этикетке должно быть указано «Для аутологичной трансфузии». Критерии допуска к даче аутокомпонентов крови в целом такие же, как и для обычных доноров.

3.ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КОСТНОГО МОЗГА И СКПК

Разработка и внедрение в клиническую практику пересадки *костного мозга* (*миелотрансплантации*) явилось значительным достижением медицины второй половины XX века. В мире функционирует 250 центров, где производится трансплантация костного мозга. В России такие операции выполняются в Москве, Санкт-Петербурге, Кирове, Самаре, Новосибирске и Екатеринбурге.

Различают 3 вида трансплантаций костного мозга: *аутологичную, сингенную и аллогенную*.

Аутологичная миелотрансплантация предусматривает пересадку собственного костного мозга больного, полученного у него до проведения высокодозного цитостатического лечения по поводу злокачественного новообразования или во время клинико-гематологической ремиссии при остром лейкозе до назначения терапии кондиционирования по поводу остаточных лейкозных клеток.

Аутомиелотрансплантация имеет ряд преимуществ перед аллогенной, так как исключает необходимость сложного иммунологического подбора донора, для приживления трансплантата требуется меньшее количество клеток и после аутотрансплантации не развивается БТПХ – главная причина смертности после трансплантации аллогенного костного мозга.

Пересадка костного мозга состоит из трех этапов: заготовки, хранения и собственно миелотрансплантации. Процессы заготовки, консервирования и хранения костного мозга рассмотрены в разделах 5 и 8.5.

3. 1. ЭТАПЫ МИЕЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ

1. Подготовка к пересадке костного мозга.
2. *Терапия кондиционирования.*
3. День «отдыха».
4. *Миелотрансплантация.*
5. Посттрансплантационный период.

1. Подготовка к пересадке предусматривает тщательное санирование больного с удалением всех очагов инфекции (пломбирование или удаление кариозных зубов, излечение воспалительных процессов в носоглотке, придаточных пазухах, дыхательных путях и т.д.) и стерилизацию кишечника приемом смеси невсасывающихся антибиотиков. Реципиента переводят в стерильную палату со стерильным потоком теплого воздуха, обеспечивают его стерильным питьем и пищей, ежедневной сменой стерильного нательного и постельного белья, проводят ежедневную обработку кожи 1% водным раствором метиленового синего.

2. Терапия кондиционирования по специальной программе, наиболее эффективной при имеющейся у больного патологии. Программа кондиционирования включает тотальное облучение тела и/или *химиотерапию* высокими дозами *цитостатических препаратов*. Дозы облучения (8-10 Грей) и химиотерапии летальны.

3. День «отдыха», свободный от введения лекарственных средств, дается после окончания терапии кондиционирования для выведения из крови цитостатических препаратов.

4. Миелотрансплантация выполняется в строго асептических условиях. После биологической пробы производят трансфузию клеток костного мозга внутривенно через систему переливания крови с фильтром.

5. Посттрансплантационный период – самый сложный для больного. На 3-5 сутки после окончания курса кондиционирования у больного развивается картина *агранулоцитоза*, анемии и глубокой тромбоцитопении с явлениями геморрагического синдрома. В результате полной потери клеточного иммунитета развиваются инфекционные осложнения. В этот период требуется назначение 3-5 антибиотиков, парентерального питания, переливание лечебных доз концентрата лейкоцитов, тромбоцитов, плазмы, отмытых или размороженных эритроцитов, иммуноглобулинов.

Приживление пересаженного костного мозга сопровождается увеличением в крови количества эритроцитов, появлением лейкоцитов и тромбоцитов. Аллогенный костный мозг при высокой гистосовместимости приживает раньше - на 3-5 день после пересадки, чем аутологичный (в среднем через 13 дней), так как не подвергается криоконсервированию.

3.2. ОСЛОЖНЕНИЯ МИЕЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ

Осложнения миелотрансплантации делятся на:

- трансфузионные;
- инфекционные;

- геморрагические;
- иммунологические.

Трансфузионные осложнения могут возникнуть при эмболии сгустками костного мозга или каплями жира. Они предотвращаются переливанием миеловзвеси через систему с фильтром.

Инфекционные осложнения возникают после большинства миелотрансплантаций в течение первых двух недель после пересадки костного мозга, что совпадает с аплазией кроветворения и глубокой *депрессией иммунитета*, вызванных терапией кондиционирования. Чаще всего развиваются пневмонии, вызванные цитомегаловирусом, и поражение слизистых оболочек ЖКТ грибами рода *Candida*. Инфекционные осложнения предупреждают соблюдением асептики в палате, назначением 3-5 антибиотиков широкого спектра действия.

Кровоточивость развивается у большинства реципиентов костного мозга. Лечение этого осложнения заключается в переливании СЗП и КТ.

Иммунологические осложнения трансплантации костного мозга являются наиболее опасными для реципиента. Они могут быть в виде: несовместимости донора и реципиента по антигенам эритроцитов системы АВ0; болезни «Трансплантат против хозяина»; отторжения пересаженного аллогенного костного мозга при наличии у реципиента антител к антигенам донора.

3.2.1. Несовместимость антигенов эритроцитов донора и реципиента по системе АВ0

Даже при полной HLA-совместимости донора и реципиента антигенный состав их эритроцитов может не совпадать, так как наследование антигенов групп крови не связано с наследованием комплекса лейкоцитарных антигенов HLA. Различают большую и малую несовместимость антигенов системы АВ0 у донора и реципиента костного мозга. При большой несовместимости сыворотка реципиента содержит антитела против антигенов донора; при малой - сыворотка донора содержит антитела к антигенам эритроцитов реципиента. Большая и малая несовместимости могут наблюдаться одновременно. Несовместимость по эритроцитарным антигенам приводит к гемолизу эритроцитов.

3.2.2. Болезнь «Трансплантат против хозяина»

Самым серьезным осложнением аллотрансплантации, которое может закончиться гибелью реципиента, является развитие вторичной болезни – болезни «Трансплантат против хозяина». Она заключается в том, что в условиях подавления иммунитета у реципиента, вызванного режимом кондиционирования, *иммунокомпетентные клетки* (лимфоциты) донора начинают вырабатывать антитела против антигенов хозяина.

Профилактика вторичной болезни заключается в тщательном иммунологическом подборе донора, желательно брата или сестры, совместимых как по антигенам HLA, так и по антигенам эритроцитов. После пересадки костного мозга назначают *иммунодепрессанты* - препараты, подавляющие иммунные реакции.

3.3 ТРАНСПЛАНТАЦИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

В последнее время для *реанимации кроветворения* наряду с пересадкой костного мозга используется также трансплантация СКПК. Получение *стволовых клеток периферической крови* менее травматично для донора, чем миелоэкспузия, и позволяет шире применять аутодонорство, то есть обеспечить лучшую приживаемость трансплантата и избежать развития БТПХ. СКПК получают методом аппаратного лейкоцитафереза с помощью современных фракционаторов крови, способных выделять *моноклеары* и находящиеся среди них стволовые клетки, и за одну процедуру получать необходимое количество клеток-предшественников. Обычно в крови содержится небольшое количество СКПК. Их выход в кровеносное русло стимулируют предварительным введением донору ростовых факторов. Источником стволовых клеток может быть также пуповинная кровь.

Вопросы для самоподготовки:

1. Преимущества аутогемотрансфузий.
2. Показания к аутогемотрансфузии.
3. Методы проведения аутогемотрансфузии.
4. Показания для пересадки костного мозга.

ЛЕКЦИЯ № 11 ПОСТТРАНСФУЗИОННЫЕ РЕАКЦИИ И ОСЛОЖНЕНИЯ

План лекции:

1. ВИДЫ ПОСТТРАНСФУЗИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ.
2. ОСТРЫЕ ИММУННЫЕ И НЕИММУННЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ.

3. НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МАССИВНОЙ ТРАНСФУЗИИ.

4. ОТСРОЧЕННЫЕ ИММУННЫЕ И НЕИММУННЫЕ РЕАКЦИИ И ОСЛОЖНЕНИЯ.

Переливание компонентов крови сопровождается для реципиента как положительными, так и отрицательными последствиями. К положительным результатам гемотрансфузии относится увеличение числа циркулирующих эритроцитов, купирование острого ДВС, прекращение спонтанной кровоточивости, прирост числа тромбоцитов и т.д. Однако при переливании компонентов крови имеется риск развития посттрансфузионных осложнений: вирусного и бактериального инфицирования реципиента, иммунных осложнений вплоть до острой почечной недостаточности, угнетения кроветворения, аллосенсибилизации, аллергических реакций.

1. ВИДЫ ПОСТТРАНСФУЗИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

В зависимости от времени появления посттрансфузионные осложнения делятся на острые (непосредственные) и отсроченные (отдаленные). Острые осложнения развиваются в ходе трансфузии или в ближайшее время после неё, а отдаленные могут проявиться через несколько дней, месяцев, а иногда и лет после трансфузии.

По степени тяжести неблагоприятных побочных эффектов различают посттрансфузионные реакции и осложнения. Посттрансфузионные реакции не сопровождаются серьезными нарушениями функций жизненно важных органов. Посттрансфузионные осложнения характеризуются тяжелыми клиническими проявлениями, представляющими опасность для жизни больного.

В зависимости от механизма возникновения различают иммунные и неиммунные посттрансфузионные реакции и осложнения. Иммунные осложнения обусловлены реакцией антиген+антитело, а неиммунные зависят не от реакции антигена с антителом, а от других причин.

Посттрансфузионные реакции и осложнения

острые реакции и осложнения		отдаленные реакции и осложнения	
иммунные: 1. гемолитические 2. фебрильные негемолитические 3. аллергические	неиммунные: 1. бактериальные 2 циркуляторная перегрузка 3. гемолиз	иммунные: 1. гемолитические 2. ПТБТПХ 3. посттрансфузион- ная пурпура	неиммунные: 1. гемосидероз 2. гемотрансмиссив- ные инфекции

4. некардиоогенный отек легких	(физический, химический)	4. аллоиммунизация	
-----------------------------------	-----------------------------	--------------------	--

2. ОСТРЫЕ ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ И ОСЛОЖНЕНИЯ

2.1. Острый гемолиз

Острый *гемолиз* - редко встречающееся, но одно из наиболее опасных осложнений гемотрансфузии, обусловленное трансфузией АВ0-несовместимых эритроцитов или переливанием Rh(+) крови rh(-) реципиенту с высоким титром анти-D-антител. Симптомы острого гемолиза появляются при переливании уже первых 10-15мл крови и нарастают по мере увеличения объема перелитого несовместимого гемокомпонента. К начальным клиническим признакам острого гемолиза (боли в груди, пояснице, озноб) присоединяются тахикардия, гипотония, нарушения гемостаза, признаки внутрисосудистого гемолиза (гемоглобинурия) и нарушение функции почек вплоть до анурии и острой почечной недостаточности. При подозрении на острый гемолиз немедленно прекращают трансфузию и проводят интенсивную терапию, направленную на предотвращение острой почечной недостаточности. Профилактика острого гемолиза заключается в строгом выполнении правил переливания крови.

2.2. Фебрильные негемолитические реакции

Проявляются повышением температуры тела до 38°C и выше в ходе гемотрансфузии или в течение 2 часов после её окончания. Они обусловлены взаимодействием HLA-антигенов донора с антителами сенсibilизированного к ним реципиента. Развиваются обычно при трансфузиях гемокомпонентов, содержащих примесь лейкоцитов, реципиентам с множественными гемотрансфузиями и/или беременностями в анамнезе. Для профилактики фебрильных негемолитических реакций следует использовать гемотрансфузионные среды, обедненные лейкоцитами.

2.3. Аллергические реакции

Аллергические реакции на трансфузию чаще бывают умеренными и проявляются зудом, покраснением, крапивницей. Они бывают при наличии у реципиента антител к белкам плазмы донора и обычно легко устраняются введением антигистаминных препаратов.

Наиболее тяжелая форма аллергической реакции – *анафилактический шок* развивается немедленно после введения нескольких миллилитров крови. Он проявляется бронхоспазмом, одышкой, падением АД, потерей

сознания и обусловлен дефицитом IgA у реципиентов и наличием у них анти-IgA антител вследствие предшествующих трансфузий или беременностей. При появлении признаков анафилаксии немедленно прекращают трансфузию и проводят противошоковые мероприятия.

Для профилактики анафилактического шока пациентам с дефицитом IgA следует переливать отмывые эритроциты.

2.4. Отек легких некардиогенный

Некардиогенный отек легких, то есть отек легких, не зависящий от работы сердца, является редким, но грозным осложнением гемотрансфузий. Обычно он обусловлен реакцией агглютинации антилейкоцитарных антител плазмы донора с лейкоцитами реципиента. Образующиеся при этом агрегаты лейкоцитов закупоривают мелкие сосуды легких, вызывая отек легочной ткани.

Для профилактики этого осложнения целесообразно отстранять от донорства плазмы лиц, у которых содержатся антилейкоцитарные антитела, а также женщин с тремя и более беременностями.

2.2. ОСТРЫЕ НЕИММУННЫЕ РЕАКЦИИ И ОСЛОЖНЕНИЯ

2.2.1. Бактериальные осложнения

Бактерии могут попасть в контейнер с гемокомпонентом при пункции вены, подготовке крови к переливанию или в процессе хранения при несоблюдении правил консервации и температурного режима. Клинические признаки бактериального осложнения (повышение температуры, озноб, боли в мышцах, животе, головная боль, рвота, потеря сознания, шок, ДВС) появляются через 20-60 минут, иногда через 2-3 часа после переливания. При наличии симптомов бактериального осложнения немедленно прекращают трансфузию, вводят антибиотики широкого спектра действия, проводят противошоковые мероприятия и коррекцию нарушений гемостаза. Профилактика бактериального загрязнения трансфузионных сред заключается в строгом соблюдении правил заготовки, производства, хранения, транспортировки и переливания гемокомпонентов.

2.2.2. Циркуляторная перегрузка

Является следствием гиперволемии при чрезмерно высокой скорости гемотрансфузии. Чаще развивается у пациентов с ограниченными резервами сердечно-сосудистой системы (у детей, пожилых людей, больных с заболеваниями сердца и хронической анемией). У таких реципиентов при

резком увеличении ОЦК развивается сердечная недостаточность: затруднение дыхания, одышка, кашель, цианоз, головная боль, отеки. Прекращение трансфузии, перевод больного в сидячее положение, дача кислорода и мочегонных средств быстро купируют эти явления. Для профилактики циркуляторной перегрузки у перечисленной категории реципиентов рекомендуется использовать медленное введение трансфузионных сред.

2.2.3. Гемолиз физической и химической природы

Гемолиз эритроцитов в контейнере может произойти вследствие нарушения температурного режима и сроков хранения, а также при перегревании эритроцитов перед трансфузией выше 38°C и смешивании эритроцитных сред с гипотоническим или гипертоническим раствором.

Появляющаяся в результате физического или химического гемолиза эритроцитов гемоглобинурия протекает бессимптомно, без повышения температуры и озноба.

3. НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МАССИВНОЙ ТРАНСФУЗИИ

Массивной считается гемотрансфузия, при которой происходит замещение одного или более ОЦК (3,5-5,0л) в течение 24 часов. Любое переливание крови несет в себе элемент риска, однако массивная гемотрансфузия имеет ряд особых последствий, связанных с поступлением в сосудистое русло большого количества консервированной крови, отличающейся по составу от циркулирующей крови. По сравнению с кровью, циркулирующей в ССС, консервированная кровь содержит большее количество глюкозы, калия и аммиака, в ней снижено значение pH и содержится стабилизатор крови – цитрат натрия. При быстром переливании больших количеств консервированной крови или эритроцитной массы может развиваться так называемый «синдром массивных трансфузий» в виде цитратной интоксикации, нарушений гемостаза, ацидоза, гиперкалиемии, гипотермии.

Цитратная интоксикация является результатом прямого токсического действия консерванта, а также пониженного содержания в крови ионов кальция вследствие связывания их избытком цитрата натрия. При медленных капельных трансфузиях цитрат натрия, поступивший в организм, быстро разрушается в печени и выводится почками, не вызывая никаких осложнений. Обычно цитратная интоксикация развивается при сочетании двух факторов: очень быстрого (более 150мл/мин) введения больному

больших доз цельной крови и нарушения функции печени и почек, участвующих в распаде и выведении цитрата натрия.

Цитратная интоксикация проявляется в виде судорожных подергиваний мышц, понижении АД, нарушении проводимости миокарда вплоть до остановки сердца. Для ликвидации и профилактики цитратной интоксикации эффективно применение растворов кальция.

Нарушения гемостаза обусловлены уменьшением концентрации плазменных факторов свертывания и количества тромбоцитов вследствие их разведения. Для профилактики нарушений свертывающей системы крови рекомендуется на каждый 1л введенной эритроцитной среды переливать 500мл СЗП и 4-5 единиц КТ.

Гипотермия развивается вследствие массивной трансфузии холодной крови. Гипотермия может быть причиной аритмии и остановки сердца, так как усугубляет неблагоприятные метаболические эффекты массивной трансфузии, замедляя все обменные процессы, в том числе и распад цитрата натрия. Для профилактики гипотермии используют согревание трансфузионных сред до 38°C, а также согревание самого пациента.

4. ОТСРОЧЕННЫЕ ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ И ОСЛОЖНЕНИЯ

4.1.1 Отсроченные гемолитические реакции и осложнения

возникают при повторном переливании минорных антигенов (систем Резус, Кидд, Келли и др.) у реципиентов, иммунизированных этими антигенами. Антитела, образовавшиеся в результате первичной иммунизации, постепенно исчезают из циркуляции и могут не обнаруживаться лабораторными тестами, но сохраняются лимфоциты – «клетки иммунной памяти». После повторной трансфузии они вызывают быстрое образование антител, количество которых достигает максимума на 7-14 день и приводит к гемолизу эритроцитов. Отсроченные гемолитические реакции часто остаются незамеченными. Они проявляются лишь повышением температуры и необычно быстрым падением уровня гемоглобина у пациента на второй неделе после трансфузии.

4.1.2 Посттрансфузионная болезнь «Трансплантат против хозяина»

Посттрансфузионная болезнь «Трансплантат против хозяина» (ПТБТПХ) наблюдается чрезвычайно редко, в основном у больных с иммунодефицитом, а также у новорожденных детей. ПТБТПХ обусловлена действием Т-лимфоцитов донора, которые распознают клетки реципиента как «чужие», и развивают против них «атаку», приводящую обычно к гибели больного.

Лечение трансфузионно обусловленной БТПХ обычно не эффективно, поэтому основным средством борьбы с ним является профилактика, которая имеет целью не допустить трансфузии иммунокомпетентных клеток реципиенту с иммунодефицитом. Таким больным переливают гамма-облученные или фильтрованные через специальный лейкоцитарный фильтр гемокомпоненты.

4.1.3. Посттрансфузионная пурпура

Посттрансфузионная пурпура как вид отсроченных посттрансфузионных осложнений иммунного характера встречается редко – у людей с антителами к антигенам тромбоцитов. Проявляется тромбоцитопенией и симптомами геморрагического диатеза (кровоточивости на коже и слизистых) на 5-10-й день после трансфузии тромбоцитов.

4.2. ОТСРОЧЕННЫЕ НЕИММУННЫЕ РЕАКЦИИ И ОСЛОЖНЕНИЯ

4.2.1. Гемосидероз

Гемосидероз развивается у людей, пожизненно получающих множественные трансфузии эритроцитов, чаще всего у больных наследственными гемолитическими анемиями. В одной дозе эритроцитной среды содержится около 250мг железа, которое при частых переливаниях крови не успевает выводиться из организма и откладывается в печени, сердце, железах внутренней секреции, вызывая недостаточность этих органов – гемосидероз. Для выведения избытка железа используется специальный препарат – десферал.

4.2.2. Гемотрансмиссивные инфекции

Несмотря на внедрение в лабораторную практику множества методов выявления в донорской крови *маркеров гемотрансмиссивных инфекций*, все же риск передачи инфекционных агентов при переливании крови остается. Это может произойти в случае, если в момент дачи крови донор находился в инкубационном периоде болезни или при бессимптомном течении заболевания у донора-вирусоносителя.

С кровью могут передаваться инфекционные болезни, возбудители которых относятся к разным группам микроорганизмов:

1) вирусы:

- вирусы ВИЧ 1/2,
- вирусы гепатитов В, С, D, А, Е, G;

- вирусы группы герпеса: вирусы простого герпеса, вирус опоясывающего герпеса, вирус Эпштейна-Барр, цитомегаловирус;
- парвовирус;
- 2) бактерии – бледная спирохета, возбудители бруцеллеза, сальмонеллеза, риккетсиоза, проказы;
- 3) простейшие – возбудители малярии, токсоплазмоза, лейшманиоза;
- 4) прионы.

Наибольший риск для реципиентов представляют вирусные заболевания. Для предупреждения гемотрансмиссивных инфекций в РФ у всех доноров проводится скрининг гемокомпонентов на наличие:

- поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg);
- антител к вирусу гепатита С;
- антител к вирусу ВИЧ-1/2;
- антител к возбудителю сифилиса (бледной трепонеме).

Снижению риска гемотрансмиссивных заболеваний способствует соблюдение следующих правил:

1. Максимальное ограничение неоправданных гемотрансфузий. Переливание компонентов крови должно проводиться только по строгим показаниям с учетом соотношения лечебного эффекта с риском, имеющимся при любой гемотрансфузии.

2. Методом выбора для лечения любого заболевания являются медикаментозные препараты. Использование компонентов крови допускается только в том случае, если без них обойтись нельзя.

3. Максимальное применение аутоотрансфузий крови и её компонентов.

4. Использование для трансфузий компонентов крови, полученных от одного донора.

5. Разработка и внедрение более чувствительных и совершенных методов для выявления маркеров гемотрансмиссивных инфекций в донорской крови.

6. Внедрение эффективных методов инаktivации инфекционных агентов крови.

Вопросы для самоподготовки:

1. Классификация посттрансфузионных осложнений.
2. Неблагоприятные эффекты массивных трансфузий.
3. Профилактика гемотрансмиссивных инфекций.
4. Профилактика острого гемолиза при гемотрансфузиях.

Основные документы, регламентирующие деятельность службы крови России

- Закон Российской Федерации о донорстве крови и её компонентов (в ред. Федеральных законов от 20 января 2013г).
- Приказ МЗ РФ от 25.11.2002 № 363 «Об утверждении инструкции по применению компонентов крови».
- Приказ МЗ РФ от 23.09.2002 № 295 «Об утверждении инструкции по проведению донорского прерывистого плазмафереза».
- Приказ МЗ РФ от 31.01.2002 №25 «О введении в действие отраслевого классификатора «Консервированная кровь человека и её компоненты».
- Приказ МЗ РФ № 364 от 14.09.2001 «Об утверждении порядка медицинского обследования доноров крови и её компонентов».
- Приказ МЗ РФ № 63 от 3.07.2001г. «О внедрении в работу учреждений службы крови устройств для удаления лейкоцитов из донорской крови».
- Приказ МЗ РФ от 9.01.1998 № 2 «Об утверждении инструкций по иммуносерологии» (приложения № 3, 4).
- Приказ МЗ РФ № 380 от 25.12.1997г. «О состоянии и мерах по совершенствованию лабораторного обеспечения диагностики и лечения пациентов в учреждениях здравоохранения РФ».
- Приказ МЗ РФ от 29.05.1997г. №172 «О введении в номенклатуру врачебных и провизорских специальностей «трансфузиология».
- Приказ МЗ СССР № 408 от 12.07.89г. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».
- «Инструкция по заготовке и консервированию донорской крови» (Утв. МЗ РФ 29.05.1995).
- «Инструкция по заготовке тромбоцитов от одного донора методом прерывистого тромбоцитафереза с применением полимерных контейнеров» (Утв. МЗ РФ 29.05 1995).
- «Инструкция по заготовке и консервированию донорской крови» (Утв. МЗ РФ 29.05.1995).
- «Инструкция по криоконсервированию клеток крови» (Утв. МЗ РФ 29.05.1995).
- «Инструкция по контролю стерильности консервированной крови, её компонентов, препаратов, консервированного костного мозга, кровезаменителей и консервирующих растворов» (утв. МЗ РФ 29.05.95).

ЛИТЕРАТУРА

Основная литература

1. [Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы](#) : рук. для врачей / под ред. А. И. Карпищенко. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.
2. [Трансфузиология](#) [Электронный ресурс] : нац. рук. / гл. ред. А. А. Рагимов. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 1184 с. : ил. - (Национальные руководства). – Режим доступа : <http://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970423103.html>.

Дополнительная литература

3. Кишкун, А. А. [Клиническая лабораторная диагностика](#) [Электронный ресурс] : учеб. пособие для мед. сестер / А. А. Кишкун. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 720 с. – Режим доступа : <http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970427620.html>.
4. Кишкун, А. А. [Руководство по лабораторным методам диагностики](#) [Электронный ресурс] / А. А. Кишкун. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Режим доступа : <http://www.medcollegelib.ru/book/ISBN9785970426593.html>.
5. [Трансфузиология](#) [Электронный ресурс] : сб. тестовых заданий с эталонами ответов для студентов, обучающихся по специальности 31.02.03 - Лабораторная диагностика / сост. Е. Н. Букатова, М. Ф. Воронова ; Красноярский медицинский университет, Фармацевтический колледж. - Красноярск : КрасГМУ, 2016. - 33 с. – Режим доступа : http://krasgmu.ru/sys/files/colibris/63775_8236_transfuziologiya_tz.pdf.

Электронные ресурсы:

ЭБС КрасГМУ «Colibris»
ЭБС Консультант студента ВУЗ
ЭБС Консультант студента Колледж
ЭМБ Консультант врача
ЭБС Айбукс
ЭБС Букап
ЭБС Лань
ЭБС Юрайт
СПС КонсультантПлюс
НЭБ eLibrary

