

**ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА ЛЕЙКОФИЛЬТРАЦИИ НА
ПОКАЗАТЕЛИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПОЛНОЦЕННОСТИ КОМПОНЕНТОВ
ДОНОРСКОЙ КРОВИ**

Чечеткин А.В., Вильянинов В.Н., Касьянов А.Д., Данилова А.В., Плугарева И.В.

*Федеральное государственное казенное образовательное учреждение высшего
профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова»*

Министерства обороны Российской Федерации

(Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова)

194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д.6,

Тел. 495-72-82; e-mail: sangvinis@rambler.ru

Резюме. В статье приведены результаты исследования показателей биологической полноценности гемокомпонентов, полученных из фильтрованной при различных температурных режимах консервированной донорской крови. Установлено, что фильтрация консервированной крови при температуре $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ не оказывает существенного влияния на степень элиминации лейкоцитов, способствует снижению концентрации свободного гемоглобина и содержания балластных эритроцитов в фильтрованной плазме по сравнению с фильтрацией при комнатной температуре ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$). Компоненты, приготовленные из фильтрованной консервированной крови, соответствуют национальным и международным стандартам качества, независимо от температурного режима фильтрации.

Ключевые слова: кровь, лейкоциты, эритроцитная взвесь, плазма, лейкофильтрация

**INFLUENCE OF TEMPERATURE MODE OF LEUKOFILTRATION ON
INDICATORS OF BIOLOGICAL FULL VALUE OF DONOR BLOOD
COMPONENTS**

Chechetkin A.V., Viljaninov V. N., Kasjanov A.D., Danilova A.V., Plugareva I.V.

*Federal state of military educational institutions of higher education "Military Medical
Academy after S. M. Kirov" Ministry of Defence Russian Federation (Military Medical Academy
after S. M. Kirov)*

194044, St.-Petersburg, Academician Lebedev street, 6,

Ph. 495-72-82; e-mail: sangvinis@rambler.ru

Summary. In article results of research of indicators of biological full value of donor blood components received from whole blood filtered at various temperature modes are resulted. It is established, that the filtration of whole blood at temperature $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ does not render essential influence on leukodeplation degree, promotes decrease in concentration of free haemoglobin and the maintenance ballast red blood cells in the filtered plasma in comparison with a filtration at a room temperature ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$). The components prepared from filtered donor's whole blood, correspond to the national and international quality standards, irrespective of filtration temperature.

Keywords: blood, leukocytes, red blood cells, packed red cells, plasma, leukofiltration.

Введение. Важное значение в системе обеспечения безопасности гемокомпонентов в настоящее время принадлежит методам удаления донорских лейкоцитов из трансфузионных средств [1, 2, 3]. Лейкоциты, перелитые реципиенту с донорскими гемокомпонентами, могут оказывать неблагоприятное иммуномодулирующее действие, служат вектором переноса инфекционных заболеваний, способствуют возникновению иммунных посттрансфузионных осложнений [4, 5, 6]. Для удаления лейкоцитов используют различные методы (отмывание, серийное центрифугирование), но только использование лейкофильтрации позволяет добиться высокой степени (более 99,9%) элиминации этих балластных клеток из гемокомпонентов. Степень удаления лейкоцитов из гемокомпонентов зависит от различных факторов (материал фильтра, сроки фильтрации с момента заготовки крови и др.). При этом данные о влиянии температурных

условий фильтрации на качество приготовленных гемокомпонентов являются противоречивыми [7, 8, 9, 10].

Цель исследования: исследовать влияние температурного режима лейкофильтрации консервированной крови на показатели биологической полноценности полученных из нее эритроцитной взвеси (ЭВ) и плазмы.

Материалы и методы исследования. Были проанализированы результаты лабораторных исследований 38 образцов обедненных лейкоцитами плазмы и ЭВ, полученных из лейкофильтрованной донорской консервированной крови. Заготовку крови и фильтрацию осуществляли с помощью системы полимерных контейнеров для заготовки и разделения крови с встроенным лейкофильтром Leukotrap WB («Pall», Великобритания). Фильтрацию консервированной крови проводили не позднее 18 ч с момента заготовки. В качестве контрольной группы использовали нефилтрированные гемокомпоненты (плазма и ЭВ), которые заготавливали с использованием счетверенных полимерных контейнеров производства «Green cross medical corp.» (Корея). В качестве антикоагулянта использовали раствор CPD, для приготовления ЭВ добавляли взвешивающий раствор SAGM по методике, рекомендованной производителями контейнеров. Для разделения консервированной крови на компоненты применяли рефрижераторные центрифуги Sorvall RC - 3C Plus («Kendro-Sorvall», США) и Jouan KR 4i («Jouan», Франция). За одну дозу принимали количество донорской крови или ее компонента, содержащееся в одном полимерном контейнере.

Образцы фильтрованных гемокомпонентов были разделены на 2 группы в зависимости от температурного режима проведения фильтрации. Первую группу составили образцы гемокомпонентов, полученных из крови, фильтрованной при температуре $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, вторую группу образцов – при температуре $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Взятие образцов для исследования осуществляли сразу после фильтрации, контрольных образцов – в те же сроки наблюдения. В гемокомпонентах определяли гематокрит, содержание гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов с помощью унифицированных методов. Некоторые характеристики компонентов крови были получены с помощью автоматического гематологического анализатора Advia 60 («Bayer HealthCare», Ирландия). Подсчет количества остаточных лейкоцитов в фильтрованных компонентах осуществляли с помощью гемоцитометра Nageotte по методике Е.А. Перфильевой и соавт. [11]. Концентрацию свободного гемоглобина определяли на спектрофотометрическим методом. Степень гемолиза в гемокомпоненте оценивали по отношению свободного

гемоглобина к количеству общего гемоглобина, содержащихся в гемокомпоненте [12]. Активность фактора свертывания VIII в плазме определяли с помощью наборов реактивов НПО «Ренам» (Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Полученные в процессе исследования медико-биологические данные обрабатывали с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 6.0 for Windows.

Результаты. Установлено, что гематокрит в дозах фильтрованной ЭВ, был достоверно ниже на 8,5–14%, чем в нефilterованной ЭВ (табл. 1). Концентрация гемоглобина в ЭВ, полученной из фильтрованной при $4\pm 2^\circ\text{C}$ крови, была на 15,6% меньше, а после фильтрации при $22\pm 2^\circ\text{C}$ – на 12,8% меньше по сравнению с аналогичным показателем нефilterованной ЭВ. Содержание гемоглобина в дозе фильтрованной ЭВ было меньше на 18-21%, чем в нефilterованном компоненте. Достоверных различий между значениями показателей содержания гемоглобина в ЭВ, полученной из фильтрованной при различной температуре крови, не было. Концентрация свободного гемоглобина в фильтрованной ЭВ была ниже на 25–35%, чем в нефilterованной ЭВ. Различий между значениями этого показателя в зависимости от температурных условий фильтрации не выявлено. Степень гемолиза и содержание эритроцитов в исследуемых группах образцов ЭВ не имели существенных различий. Содержание лейкоцитов во всех образцах лейкофильтрованной ЭВ было ниже 1×10^6 клеток в одной дозе компонента. При этом существенной зависимости степени элиминации лейкоцитов от температурных условий не выявлено. Одновременно с лейкоцитами в фильтрованной ЭВ уменьшалась в 68–70 раз концентрация тромбоцитов (содержание тромбоцитов в дозе компонента уменьшалось в 73–74 раз).

Таблица 1 – Гематологические показатели эритроцитной взвеси, полученной из фильтрованной при различной температуре консервированной крови

Показатели	Нефильтрованная эритроцитная взвесь	Фильтрованная эритроцитная взвесь	
		фильтрация при $4\pm 2^\circ\text{C}$	фильтрация при $22\pm 2^\circ\text{C}$
Гематокрит, л/л	$0,71\pm 0,04$	$0,61\pm 0,01^*$	$0,65\pm 0,02^{**}$
Концентрация гемоглобина, г/л	$236,2\pm 12,8$	$199,3\pm 3,8^*$	$205,8\pm 5,1^*$
Содержание гемоглобина, г/доза	$77,8\pm 3,8$	$63,1\pm 2,1^*$	$63,2\pm 2,4^*$
Содержание свободного гемоглобина, г/л	$0,20\pm 0,03$	$0,15\pm 0,02^*$	$0,13\pm 0,01^*$

Степень гемолиза, %	0,025±0,013	0,029±0,014	0,022±0,007
Концентрация эритроцитов, $\times 10^{12}/\text{л}$	6,99±0,31	6,52±0,29	7,31±0,51
Концентрация лейкоцитов, $\times 10^6/\text{л}$	10400±3671	1,00±0,13*	1,17±0,20*
Содержание лейкоцитов, $\times 10^6/\text{доза}$	2948±470	0,318±0,043*	0,344±0,059*
Концентрация тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	162,7±60,2	2,3±0,7*	2,4±0,7*
Содержание тромбоцитов, $\times 10^9/\text{доза}$	53,4±22,1	0,73±0,22*	0,72±0,24*

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с показателями нефilterованной эритроцитной взвеси ($p<0,05$); ** - различия достоверны между группами образцов filterованной эритроцитной взвеси, полученной из filterованной при различной температуре консервированной крови ($p<0,05$).

Установлено, что содержание свободного гемоглобина в плазме, полученной из filterованной при $4\pm 2^\circ \text{C}$ крови, было выше на 15%, в плазме, приготовленной из filterованной при $22\pm 2^\circ \text{C}$ консервированной крови, – на 56% по сравнению с нефilterованным компонентом (табл. 2).

Таблица 2 – Гематологические и биохимические показатели плазмы, полученной фракционированием консервированной крови, filterованной при различной температуре

Показатели	Нефилтpованная плазма	Филтpованная плазма	
		филтpация при $4\pm 2^\circ \text{C}$	филтpация при $22\pm 2^\circ \text{C}$
Содержание общего белка, г/л	57,6±1,0	56,0±0,7	56,1±1,4
Содержание свободного гемоглобина, г/л	0,080±0,008	0,092±0,009*	0,125±0,018* **
Концентрация лейкоцитов, $\times 10^6/\text{л}$	17,12±2,44	0,30±0,05*	0,37±0,07*
Содержание лейкоцитов, $\times 10^5/\text{доза}$	41,60±6,10	0,73±0,12*	1,02±0,23*
Концентрация эритроцитов, $\times 10^9/\text{л}$	0,26±0,05	0,66±0,10*	1,97±0,33* **
Содержание	0,07±0,01	0,16±0,02*	0,55±0,09* **

эритроцитов, $\times 10^9$ /доза			
Концентрация	36,71 $\pm$ 3,72	0,52 $\pm$ 0,10*	0,60 $\pm$ 0,11*
тромбоцитов, $\times 10^9$ /л			
Содержание	8,915 $\pm$ 0,842	0,133 $\pm$ 0,034*	0,166 $\pm$ 0,028*
тромбоцитов, $\times 10^9$ /доза			
Активность фактора VIII, МЕ/мл	0,82 $\pm$ 0,09	0,89 $\pm$ 0,06	0,84 $\pm$ 0,07

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с показателями нефilterованной плазмы ($p < 0,05$); ** – различия достоверны между группами образцов filterованной плазмы, полученной из filterованной при различной температуре консервированной крови ($p < 0,05$).

Фильтрация в условиях холодильной камеры при $4 \pm 2^\circ \text{C}$ позволяла уменьшить содержание свободного гемоглобина в плазме на 26,4% по сравнению с фильтрацией при $22 \pm 2^\circ \text{C}$. Концентрация лейкоцитов в filterованной плазме снижалась в 46-57 раз и не зависела от температуры фильтрации. Содержание лейкоцитов во всех образцах лейкоfilterованной плазмы было ниже 1×10^6 клеток в одной дозе компонента. Вместе с тем, в filterованной плазме содержалось повышенное (по сравнению с нефilterованным компонентом) количество эритроцитов: при $4 \pm 2^\circ \text{C}$ – в 2,5 раз, при $22 \pm 2^\circ \text{C}$ – в 7,5 раз. При этом фильтрация в условиях холодильной камеры при $4 \pm 2^\circ \text{C}$ способствовала снижению концентрации эритроцитов в плазме на 66,5% по сравнению с фильтрацией при $22 \pm 2^\circ \text{C}$, а их содержания в дозе плазмы – на 71%. Концентрация тромбоцитов в filterованной плазме снижалась в 60-70 раз и не зависела от температурных условий фильтрации консервированной крови. Следует отметить, что удаление лейкоцитов из консервированной крови методом фильтрации не оказывало влияния на содержание общего белка и активность фактора свертывания VIII в приготовленной из нее плазме.

Обсуждение. Лейкофильтрация консервированной крови сопровождалась выраженным влиянием на гематологические и биохимические показатели полученных из нее ЭВ и плазмы. Это обусловлено потерями трансфузионных средств в лейкоfilterе и полимерных магистралях гемоконтейнеров, а также дополнительным контактным воздействием фильтрующего устройства на клетки крови [13]. Этим объясняется уменьшение гематокрита и содержания гемоглобина в filterованной ЭВ, а также увеличение содержания свободного гемоглобина в filterованной плазме. Известны случаи высокого уровня гемолиза в ЭВ после фильтрации [14]. Выявленные нами

изменения показателей ЭВ не выходили за пределы величин, принятых международным и национальным стандартами качества компонентов крови [15, 16]. Во всех наблюдениях количество лейкоцитов в дозе гемокомпонента не превышало 1×10^6 клеток, что соответствовало требованиям указанных стандартов. В наших исследованиях не обнаружено влияния температуры на степень элиминации лейкоцитов из ЭВ, тогда как F. Beaujean et al. [7] продемонстрировали более качественные результаты лейкофильтрации крови при ее хранении в условиях температуры 4°C , чем при температуре 22°C . Аналогичные результаты представлены в исследовании В.В. Лаптева и Л.В. Персановой [10]. С. Glaser J. et al. [17] показали, что наиболее оптимальной является лейкофильтрация консервированной крови, хранившейся при комнатной температуре. По данным A. Rapaille et al. [9] удаление лейкоцитов было более полным, если консервированная кровь хранилась в течение 12-18 ч при 4°C , чем 4-6 ч при температуре 20°C . Однако в таких условиях происходило снижение активности фактора свертывания VIII в плазме. Снижение температуры, при которой осуществлялась фильтрация, уменьшало количество остаточных клеток в 2-3 раза, но замедляло длительность процедуры [8]. Полученные нами результаты о положительном влиянии температуры фильтрации ($4 \pm 2^\circ \text{C}$) консервированной крови на качество приготовленной из нее плазмы согласуются с данными, полученными S. Zhao и S.C. Wang [18].

Известно, что лейкофильтр не задерживает эритроциты, поэтому более высокое содержание красных клеток в плазме свидетельствует о необходимости оптимизации режимов центрифугирования фильтрованной консервированной крови при ее разделении на плазму и ЭВ.

Выводы

1. Компоненты, приготовленные из фильтрованной консервированной крови, соответствуют национальным и международным стандартам качества, независимо от температуры фильтрации.

2. Фильтрация консервированной крови при температуре $4 \pm 2^\circ \text{C}$ не оказывает существенного влияния на степень элиминации лейкоцитов, способствует снижению концентрации свободного гемоглобина и содержания балластных эритроцитов в фильтрованной плазме по сравнению с фильтрацией при температуре $22 \pm 2^\circ \text{C}$.

Литература

1. Мельникова В.Н., Селиванов Е.А., Кирьянова Г.Ю., Ефимова Т.А. Метод заготовки лейкофильтрованных отмытых эритроцитов // Трансфузиология. – 2010. – № 3. – С. 4–11.
2. Dzik W.H. Leukoreduction of blood components // Curr. opin. hematol. – 2002. – Vol. 9, № 6. – P. 521 – 526.
3. Ming-Der S., Li-Yu T. Leukocyte-deplete filter eliminate of non-hemolytic transfusion reaction // Vox Sang. – 2011. – Vol. 101, Suppl. 1. – P. 280–281.
4. Taylor C., Navarette C., Contreras M. Immunological complications of blood transfusion // Transf. alt. transf. med. – 2008. – Vol. 10, № 3. – P. 112–126.
5. Чеботкевич В.Н., Кайтанджан Е.И., Волкова С.Д. и др. Герпесвирусные инфекции и проблемы инфекционной безопасности гемотрансфузий у иммуносупрессивных больных // Трансфузиология. – 2012. – № 1. – С. 22–40.
6. Vamvakas E.C. WBC-containing allogeneic blood transfusion and mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials // Transfusion. – 2003. – Vol. 43, № 7. – P. 963–973.
7. Beaujean F., Segier J.M., le Forestier C., Duedari N. Leukocyte depletion of red cell concentrates by filtration: influence of blood product temperature // Vox Sang. – 1992. – Vol. 62, № 2. – P. 242–243.
8. Dumont D.F., Sacher R.A., Taylor H.L., Menitove J.E. In vitro study of the MacoPharma MTL1 Leucoflex whole blood in-line filtration leukoreduction system // Transfusion. – 2005. – Vol. 45, № 3S. – P. 69A.
9. Rapaille A., Moore G., Siquet J. et al. Prestorage leukocyte reduction with in-line filtration of whole blood: evaluation of red cells and plasma storage // Vox Sang. – 1997. – Vol. 73, № 1. – P. 28 – 35.
10. Лаптев В.В., Персанова Л.В. Влияние температуры, смачиваемости, лейкофильтра и времени фильтрации на остаточное количество лейкоцитов в эритроцитной массе // Вестн. службы крови России. – 2007. – № 3. – С. 15–17.
11. Перфильева Е.А., Плеская Л.Г., Фокина Т.В., Калинин Н.Н. Совершенствование подсчета клеток в компонентах крови // Гематол. и трансфузиол. – 2003. – № 2. – С. 44–47.

12. Sowemimo-Coker S.O. Red blood cell hemolysis during processing // *Transfus. med. rev.* – 2002. – Vol. 16, № 1. – P. 46 – 60.
13. Чечеткин А.В., Пугина Н.В., Кононенко С.Н. и др. Влияние лейкофилтрации на качество эритроцитных гемокомпонентов // *Вестн. службы крови России.* – 2006. – № 3. – С.45–48.
14. Galel S.A., Anderle D.L. Hemolysis associated with Pall BPF4 filter // *Transfusion.* – 2005. – Vol. 45, № 3S. – P. 68A – 69A.
15. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. – 16th edition. – Council of Europe publishing, 2010. – 268 p.
16. Технический регламент о требованиях безопасности крови и ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионной терапии: утвержден постановлением Правительства РФ от 26.01.2010 г. № 29. – М., 2010. – 33 с.
17. Glaser A., Erpenbeek T., Böck M. et al. Effectiveness of white cell reduction by filtration with respect to blood storage time // *Transfusion.* – 1993. – Vol. 33, № 4. – P. 536– 537.
18. Zhao S., Wang S.C. The evaluation of quality of blood components from whole blood held overnight at 4° C or room temperature // *Vox Sang.* – 2012. – Vol. 103, Suppl. 1. – P. 127– 128.