



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **104655** (13) **U**  
(51) МПК  
**A01N 1/02** (2006.01)

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2015 07931</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>10.08.2015</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.02.2016</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.02.2016, Бюл.№ 3</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Гулевський Олександр Кирилович (UA), Жаркова Євгенія Євгеніївна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, вул. Переяславська, 23, м. Харків, 61015 (UA)</b></p>
---	--

**(54) СПОСІБ ВІДНОВЛЕННЯ МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕРИТРОЦИТІВ ПІСЛЯ ГІПОТЕРМІЧНОГО ЗБЕРІГАННЯ ДОНОРСЬКОЇ КРОВІ**

**(57) Реферат:**

Спосіб відновлення морфо-функціональних властивостей еритроцитів після гіпотермічного зберігання донорської крові включає інкубацію цільної донорської крові з реабілітуючим середовищем. Як реабілітуюче середовище використовують низькомолекулярну фракцію (до 5 кДа) кордової крові.

**UA 104655 U**



Корисна модель належить до кріобіології та кріомедицини і може бути використана у трансфузіології.

Відомий спосіб відновлення морфо-функціональних властивостей еритроцитів після гіпотермічного зберігання донорської крові, згідно з яким еритроцитарну масу протягом 3-х годин інкубують при температурі 37 °С з метаболітами обміну речовин (аденін, піруват та фосфат натрію, інозин та глюкоза) [1].

Недоліками цього способу є довготривалість інкубації та застосування метаболітів вуглеводно-фосфорного обміну, які можуть спричиняти токсичну дію на організм реципієнта.

Відомий спосіб відновлення морфо-функціональних властивостей еритроцитів після гіпотермічного зберігання донорської крові, який включає інкубацію цільної донорської крові протягом двох годин при температурі 37 °С з реабілітуючим середовищем ІАПФ, що містить розчини інозину 5 ммоль, аденіну 1,3 ммоль, пірувату натрію 3 ммоль, фосфату натрію двозамісного 4,2 ммоль на 100 мл розчину, рН 5,65-5,75 [2].

Недоліком цього способу є складність приготування розчинів та їх стерилізація, а також те, що ІАПФ має кисле середовище, яке може посилити накопичення кислих продуктів клітинного метаболізму в організмі реципієнта, в результаті чого знижується основна функція еритроцитів - транспорт кисню.

Найбільш близьким до заявленого способу є спосіб відновлення еритроцитів після гіпотермічного зберігання (2-4 °С) донорської крові. Він полягає у тому, що цільну донорську кров інкубують протягом 1,5 годин при 37 °С з реабілітуючим середовищем "Еритропіфаден", який включає: рибоксин 24,8 ммоль/л, аденін 1,56 ммоль/л, піруват натрію 24,8 ммоль/л, двозамісний фосфат натрію 14 ммоль/л на основі фізіологічного розчину хлориду натрію - 9 г/л (рН 7,76) [3].

Недоліком способу є те, що він включає використання розчину "Еритропіфаден", який містить у вільному стані суттєву кількість азотистих основ, які можуть негативно впливати на видільну систему людини.

Крім цього, необхідно стерилізувати кожен з компонентів реабілітуючого середовища, що значно ускладнює процес відновлення.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити відомий спосіб відновлення еритроцитів після гіпотермічного зберігання донорської крові шляхом використання реабілітуючого середовища, яке не чинить шкідливий вплив на організм реципієнта при трансфузії, та спростити процес відновлення морфо-функціональних властивостей еритроцитів.

Ця задача вирішується тим, що у способі відновлення еритроцитів після гіпотермічного зберігання донорської крові, який включає інкубацію цільної донорської крові з реабілітуючим середовищем, згідно з корисною моделлю, як реабілітуюче середовище використовують низькомолекулярну фракцію (до 5 кДа) кордової крові (НМФ КК).

Використання НМФ КК, яка має природний баланс різноманітних компонентів відновлюючих речовин, дозволяє уникнути шкідливого впливу реабілітуючого середовища на організм людини та спростити процес відновлення еритроцитів.

Спосіб здійснюють таким чином.

Ліофілізовану низькомолекулярну фракцію кордової крові отримують шляхом багаторазової ультрафільтрації криогемолізату крові, використовуючи мембрани для предфільтрації (0,65 та 0,2 мікрон) та мембрану для фільтрації, яка відтинає речовини з молекулярною масою більше ніж 5 кДа [4]. До цільної донорської крові людини після гіпотермічного зберігання додають НМФ КК до кінцевої концентрації у розчині 0,6 мг/мл. Одержаний розчин інкубують протягом години при температурі 37 °С.

Приклад.

До цільної донорської крові людини, яка була заготовлена на гемоконсервантах "Глюгидир" або CPDA-1, на 1, 7, 14 та 21 добу гіпотермічного зберігання (+4 °С) додавали НМФ КК до кінцевої концентрації 0,6 мг/мл. Одержаний розчин інкубували протягом години при температурі 37 °С. Далі готували мазки, які фіксували за Май-Грюнвальдом та фарбували за Романовським [5].

Морфологічну оцінку проводили за допомогою світлової мікроскопії. Визначали кількість нормоцитів, ехіноцитів та сфероцитів (неперехідні форми еритроцитів). Результати наведені у Таблиці 1.

З таблиці 1 видно, що, починаючи з 7 доби гіпотермічного зберігання, в еритроцитах донорської крові, що була проінкубована з НМФ КК, спостерігається суттєве покращення морфологічних показників, а саме: кількість нормоцитів збільшується у 2,5 разів, вміст сфероцитів знижується у 1,5-3 рази, а кількість ехіноцитів знижується на 20-30 %.

Далі визначали основні параметри киснево-транспортної функції: напруженість кисню (PO<sub>2</sub>, мм рт. ст.), напруженість вуглекислого газу (PCO<sub>2</sub>, мм рт. ст.) та насиченість гемоглобіну киснем (SPO<sub>2</sub>, %), тобто відсотковий вміст кисню у крові. Дані параметри визначали за допомогою катриджного аналізатора IL GEM Premier-3000. Результати наведені у Таблиці 2.

5 З таблиці 2 видно, що вже з першого дня гіпотермічного зберігання в еритроцитах донорської крові, що була проінкубована з НМФ КК, спостерігається зріст сатурації на 15-30 %, зниження параметра напруженості вуглекислого газу на 10-15 % та зріст показника напруженості кисню у 1,5-2 рази.

Таблиця 1

Результати морфологічних змін еритроцитів

Доба	Форма				7	14	21		
Консервуючий розчин		K*, %	Ф**, %	K, %	Ф, %	K, %	Ф, %	K, %	Ф, %
«Глюцидир»	Нормоцити	79,33	81,33	18,66	42	12,66	31,66	7,83	23,16
	Ехіноцити	14,66	13,16	67,99	44,66	72,33	55,99	78,99	66,99
	Сфероцити	0,66	0,33	6,33	4,33	10,33	6,33	12,66	8,66
	Ін. форми	5,33	5	6,99	7,66	5,66	6,33	7,16	5,16
CPDA-1	Нормоцити	84,66	86,66	23,16	49,49	16,99	35,16	9,66	26,16
	Ехіноцити	10,66	10	65	42,16	67,16	57,83	76,83	64,99
	Сфероцити	0,66	0,33	7,49	3,16	9,33	5,99	10,83	5,16
	Ін. форми	3,33	3	4,33	5,33	5,33	2,33	2,33	3,83

Примітка: \* - контроль, %, \*\* - фракція, %.

10

Таблиця 2

Значення основних параметрів киснево-транспортної функції

Доба	Параметр	1		7		14		21	
Консервуючий розчин		K*	Ф**	K	Ф	K	Ф	K	Ф
«Глюцидир»	PO <sub>2</sub>	30	44	28	51	42	80	33	71
	PCO <sub>2</sub>	83,1	78,6	97,9	88	111,3	103,2	117,6	106,5
	SPO <sub>2</sub>	44,9	62,3	42,2	59,9	39,9	57,7	37,3	55,4
CPDA-1	PO <sub>2</sub>	34	47	30	52	40	74	37	73
	PCO <sub>2</sub>	81,8	75,5	95,3	86	110,8	105,7	114,6	103,9
	SPO <sub>2</sub>	47,1	63,8	45,3	60,7	40,5	58,5	38,6	56,4

Примітка: \* - контроль, %, \*\* - фракція, %.

Джерела інформації:

1. Valeri C. Blood banking and the use of frozen blood products // CRS Press, 1976. - P. 117-148.
- 15 2. Виноград-Финкель Ф.Р., Дервиз Г.В. и др. Метаболическая активность и дыхательная функция крови, консервированной на кислых глюкозо-цитратных растворах и пути усовершенствования этих растворов - Проблемы гематологии и переливания крови. - М.: "Медицина", 1974. - № 7. - С. 3-9.
- 20 3. Румянцев А.Г., Аграненко В.А. Клиническая трансфузиология. - М: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1997. - С. 39-43.
4. Пат. України 69652, МПК А61К 35/14, публ. 10.05.2011. Спосіб отримання низькомолекулярної фракції із кордової крові великої рогатої худоби.
5. Меньшиков В.В. Клиническая лабораторная аналитика. - М.: "Лабиринт" - РАМЛД, 1999. - С. 16-20.

25

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб відновлення морфо-функціональних властивостей еритроцитів після гіпотермічного зберігання донорської крові, який включає інкубацію цільної донорської крові з реабілітуючим

середовищем, який **відрізняється** тим, що як реабілітуюче середовище використовують низькомолекулярну фракцію (до 5 кДа) кордової крові.

---

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601