

С. Н. АЛЛАВЕРДЯН, И. А. ЕРЗИНКЯН

## К ВОПРОСУ О ПОЛУЧЕНИИ ВЗВЕСИ ТРОМБОЦИТОВ

Наряду с широким применением переливания цельной крови, за последние годы большое распространение получило переливание ее составных частей. В настоящее время можно считать доказанной высокую лечебную эффективность направленного действия компонентов крови при ряде заболеваний.

К числу таких заболеваний относятся так называемые тромбоцитопенические состояния различного происхождения, особенно с наличием кровотечений, при которых одним из наиболее эффективных средств лечения является внутривенное введение тромбоцитной массы или взвеси (А. А. Багдасаров [4], Р. А. Рутберг [10], В. И. Теодорович [11], Ч. С. Гусейнов [6], Таллис (Tullis [19]), Стефанини, Дамешек (Stefanini, Damešek [18]), Майнор, Бэрнет (Minor [15]), Кревелд, Паулсен (Creveld, Paulsen [13] и др.).

В настоящее время большинство авторов пользуется двумя основными методами получения тромбоцитной массы.

Первый метод основан на разделении различных по своему удельному весу форменных элементов крови путем двухкратного центрифугирования (Р. А. Рутберг, Ч. С. Гусейнов, В. И. Теодорович, Г. Я. Розенберг [9] и др.), причем при первом центрифугировании осаждаются более тяжелые элементы—эритроциты (удельный вес 1,092) и лейкоциты (1,065), при втором—тромбоциты (1,030).

Второй метод разработан Хитцигом (Hitzig [14]), Майнор, Бэрнет [15] и др., которые предлагают перед заготовкой крови к консервирующему раствору добавлять высокомолекулярные вещества—декстран, желатину, субтозан или перистон, ускоряющие осаждение эритроцитов и лейкоцитов. Последующее осаждение тромбоцитов эти авторы проводят путем центрифугирования.

Изложенное показывает, что указанные выше методики предусматривают применение специальной рефрижераторной центрифуги и аппаратуры для получения тромбоцитной массы. Отсутствие такого оборудования в институтах и станциях переливания крови является большим препятствием для внедрения этих методик в практику.

Более простым методом изготовления взвесей лейкотромбоцитов из глюкозо-цитратной крови, не требующим ни центрифугирования и ни добавочных осадителей, является предложенный некоторыми авторами (З. Г. Арлозоров [3], В. И. Теодорович и К. В. Хохлова [12]) способ выделения их, основанный на свойстве естественного ускоренного оседания

эритроцитов крови некоторых доноров. Однако и этот способ также связан с некоторыми трудностями, так как отбор таких доноров является делом случая.

С целью получения взвеси тромбоцитов из глюкозо-цитратной крови, мы основывались на принципе более ускоренного осаждения эритроцитов и лейкоцитов. Для этого в качестве осадителя нами применен высокомолекулярный коллоидный раствор поливинилового спирта (ПВС), полученный Ереванским химическим заводом «Поливинилацетат», предварительно подвергнутый химической обработке (очистке) для освобождения от побочных продуктов, главным образом от метанола.

Поливиниловый спирт как осадитель эритроцитов при изготовлении фибринных клеток, а также и лейкоцитной массы из глюкозо-цитратной крови впервые был применен Армянским институтом гематологии и переливания крови (С. Н. Аллавердян, М. И. Баласанян, Э. А. Гаспарян [1, 2]).

К 50 мл консерванта (раствор ЦОЛИПК № 76) мы прибавляли 2,5% очищенный водный раствор высокомолекулярного поливинилового спирта с таким расчетом, чтобы конечная концентрация последнего в крови составляла от 0,14 до 0,06%.

Флаконы с консервантом подвергали стерилизации в автоклаве в течение 30 мин. при давлении 1,2 атм. После стерилизации консервант не изменял своей прозрачности и цвета.

Для получения сравнительных данных мы из крови 45 доноров изготовляли тромбоцитную взвесь трех видов: 1) с добавлением поливинилового спирта, 2) с желатиной и 3) на глюкозо-цитратном растворе ЦОЛИПК № 76 в качестве контроля.

Желатина давно уже применяется при консервировании крови как осадитель и консервант (А. А. Копейкина [7], Ф. Р. Виноград-Финкель [5], Мечкарски [16], Таллис [19] и др.) и поэтому мы использовали ее для получения тромбоцитной взвеси. Добавление 25 мл 10% раствора желатины к консервирующему раствору ЦОЛИПК № 76 обеспечивает быстрое оседание эритроцитов и отделение плазмы в течение определенного промежутка времени.

Методика выделения тромбоцитной взвеси сводится к следующему: флаконы с кровью, взятой у одного и того же донора на растворах ЦОЛИПК № 76, ЦОЛИПК № 76 с добавлением поливинилового спирта и желатины, только что поступившие из бокса заготовки крови, для более ускоренного оседания эритроцитов, по предложению З. Г. Арлозова [3], укладывали в горизонтальное положение в течение одного часа при комнатной температуре. По истечении часа флаконы с консервированной кровью переводили из горизонтального положения в вертикальное. Эту манипуляцию следует производить осторожно, чтобы не перемешать отстоявшуюся плазму с успевшими уже осесть эритроцитами и лейкоцитами. После осаждения эритроцитов и лейкоцитов плазму со взвешенными в ней тромбоцитами отделяли в пустой флакон и ставили для добавочного отстаивания в ледник при температуре 4—8°. Через

15—20 ч. отсасывали излишнюю плазму, а тромбоциты в 20—25 мл плазмы помещали в рефрижератор для дальнейших динамических исследований.

Следует отметить, что добавление вышеупомянутых осадителей к консервирующему раствору в сочетании с укладыванием флаконов с кровью в горизонтальное положение во всех случаях создает весьма благоприятное условие для ускоренного осаждения эритроцитов и лейкоцитов, что нельзя сказать о контроле, где отбор флаконов с хорошим отстоем плазмы даже в горизонтальном положении является делом случая.

В крови, взятой у донора на растворах ЦОЛИПК № 76 с добавлением поливинилового спирта или желатины в течение первых 30—40 мин. после взятия крови, эритроциты в основной массе оседают. В дальнейшем постепенно оседают и лейкоциты, объем плазмы над эритроцитами достигает 50—60% общего количества крови, в то время как в контрольной глюкозо-цитратной крови без осадителя объем плазмы составляет лишь 10—20%.

Быстрое осаждение эритроцитов и лейкоцитов делает возможным раннее отделение плазмы с тромбоцитами и, следовательно, ускоряет процесс заготовки тромбоцитной взвеси.

Таким образом, исходя из полученных данных, мы приходим к заключению, что 2,5% раствор поливинилового спирта является хорошим осадителем эритроцитов и может применяться с большим успехом при заготовке тромбоцитной взвеси.

Выделенная тромбоцитная взвесь нами подвергалась систематическому изучению в 1,4 и 10 дни хранения.

Очень важным является вопрос изменения количественных показателей тромбоцитов как в день получения, так и в последующие дни хранения тромбоцитной взвеси. Подсчет тромбоцитов мы производили в счетной камере Горяева по методике Ленгенхагера, дающей возможную ошибку в пределах 10—11%.

Наши наблюдения показали, что число тромбоцитов в тромбоцитных взвесах, заготовленных с помощью поливинилового спирта и без него (контроль), как правило, было выше, чем с желатиной (в тромбоцитной взвеси с поливиниловым спиртом оно колебалось от 195000 до 2490000 в  $1 \text{ мм}^3$ , в среднем равнялось 604000; в контроле—от 175000 до 2455000, в среднем—582000; с желатиной—от 75000 до 1250000, в среднем—390000).

Почти такую же картину мы наблюдали и в последующие дни хранения тромбоцитной взвеси. Так, на 10-й день хранения число тромбоцитов в тромбоцитной взвеси с поливиниловым спиртом составляло 75—77% по отношению к исходному (в среднем—510000 в  $1 \text{ мм}^3$ ), в контрольной—62—66% (в среднем—429000), а с желатиной—только 54—57% (в среднем—215000).

Следует указать, что число тромбоцитов в единице объема в первые дни хранения изменяется незначительно; в дальнейшем оно начинает

прогрессивно снижаться, причем это снижение у различных доноров происходит неодинаково; однако в большинстве случаев сохранность тромбоцитов в опытах с поливиниловым спиртом превалировала над контролем и с желатиной.

Для суждения о функциональном состоянии тромбоцитов в взвесах мы пользовались определением ретрактивной способности плазменного сгустка по методу Ночапу, видоизмененному М. С. Мачабели [8], так как, согласно исследованиям многих авторов (Р. А. Рутберг [10], Г. Я. Розенберг, Н. Д. Ульянова [9], В. И. Теодорович [11] и др.), данный тест является наиболее показательным и чувствительным, поскольку лишь жизнеспособные тромбоциты могут обуславливать ретракцию плазматического сгустка.

Активная ретракция плазматического сгустка тромбоцитами считается прямым доказательством их функциональной полноценности.

Это положение находится в соответствии с нашими данными, указывающими, что начальный уровень ретрактивной активности тромбоцитов в 1-й день заготовки во взвесах с поливиниловым спиртом в контроле и с желатиной был почти одинаково хорошо выражен (по индексу от 0,8 до 0,95, а в процентах 80—95).

В процессе хранения препарата при 4—8°, начиная с 4—5 дня, происходило постепенное, обычное для этих сроков, снижение ретрактивной активности тромбоцитов, однако это снижение в значительной части случаев в тромбоцитной взвеси, заготовленной с помощью поливинилового спирта было слабее, чем с желатиной и в контроле, не говоря уже о том, что в некоторых сериях последних на 10-й день ретракция почти отсутствовала. Кроме того, очень важным преимуществом данного метода является и то, что благодаря быстрому и лучшему осаждению эритроцитов и лейкоцитов поливиниловым спиртом примесь их в тромбоцитной взвеси отсутствовала или была незначительной, чего нельзя достигнуть при применении для этой цели желатины, а также в контрольной тромбоцитной взвеси, полученной из глюкозо-цитратной крови без осадителя, где содержание эритроцитов иногда доходило до 5—6%.

Важность этого положения заключается в том, что в настоящее время твердо установлено (Ч. С. Гусейнов [6], А. А. Копейкина [7] и др.), что присутствие эритроцитов в тромбоцитной взвеси способствует скорой агглютинации тромбоцитов, оказывая тем самым определенное влияние на длительность хранения их, почему и стараются довести примесь эритроцитов в тромбоцитной взвеси до минимума.

Таким образом, поливиниловый спирт, ускоряя осаждение эритроцитов и лейкоцитов, способствует лучшему и более быстрому отделению плазмы со взвешенными в ней тромбоцитами, что особенно важно при массовой заготовке тромбоцитной взвеси.

Выделенная подобным методом тромбоцитная взвесь, хотя и имеет такой же срок годности (4 дня), как и взвесь с желатиной и контрольная, однако она, в отличие от последних, содержит гораздо большее

число жизнеспособных тромбоцитов как в первый, так и в последующие дни хранения.

На основании проведенных исследований, мы считаем возможным описанный нами метод выделения тромбоцитов с помощью 2,5% раствора поливинилового спирта рекомендовать для использования в учреждениях службы крови с целью получения взвеси тромбоцитов.

Институт гематологии и переливания крови  
Министерства здравоохранения АрмССР

Поступило 6.II.1963 г.

Ս. Ն. ԱԼԼԱՎԵՐԳՅԱՆ, Ի. Ա. ԵՐԶԻՆԿՅԱՆ

ՏՐՈՄԲՈՑԻՏԱՅԻՆ ԿԱԽՈՒԿԻ ՊԱՏՐԱՍՏՄԱՆ ՀԱՐՅԻ ՇՈՒՐՁԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ֆիզիոլոգիապես լիարժեք վիճակում կենսունակ տրոմբոցիտային կախուկի (վզվես) արագ պատրաստման ռացիոնալ եղանակների մշակման, ինչպես նաև թիթեղիկային ֆակտորների անբավարարության հետևանքով առաջ եկած արյան մակարդեղիության խանգարումների ժամանակ նրանց օգտագործման հարցն տանի շափազանց խոշոր գործնական նշանակություն:

Ահա այս կարևոր հարցի ուսումնասիրմանն է նվիրված տվյալ աշխատանքը:

Գլխավորա-ցիտրատային արյունից տրոմբոցիտային կախուկ պատրաստելիս մեկ ք ելանք էրիտրոցիտների և լեյկոցիտների արագ նստեցման սկզբումներից, որը մեզ հաջողվեց իրագործել Կենտրոնական Արյան Փոխներարկման ինստիտուտի № 7բ. կոնսերվանտին նախօրոք քիմիապես մաքրված Երեվանի «Պոլիվինիլացետատ» գործարանից ստացված բարձր մոլեկուլյար 2,5 տոկոսանոց պոլիվինիլ սպիրտի լուծույթն ավելացնելու ճանապարհով այն հաշվով, որպեսզի նրա վերջնական խտությունն արյան մեջ կազմի 0,14 միլնչև 0,06 տոկոս:

Արագացնելով արյան մեջ էրիտրոցիտների և լեյկոցիտների նստեցումը պոլիվինիլ սպիրտը դրանով իսկ նպաստում է տրոմբոցիտներով հարուստ պլազմայի արագ անջատմանը, որը խիստ անհրաժեշտ է տրոմբոցիտային կախուկի շուտափուլյթ պատրաստման համար:

Նմանօրինակ եղանակով պատրաստված տրոմբոցիտային կախուկն իրեն պահման ինչպես առաջին, նույնպես և հետագա օրերի ընթացքում պարունակում է ավելի մեծ թվով ֆիզիոլոգիապես լիարժեք, կենսունակ տրոմբոցիտներ քան սովորական եղանակով կամ ժելատինի օգնությամբ պատրաստված կախուկները:

Կատարված հետազոտությունների հիման վրա մեկ ք գալիս ենք այն եզրակացության, որ մեր կողմից նկարագրված 2,5 տոկոսանոց պոլիվինիլ սպիրտի լուծույթի օգնությամբ տրոմբոցիտների անջատման այս եղանակը կարելի է առաջարկել լայնորեն կիրառել արյան ծառայության հիմնարկներում ֆիզիոլոգիապես լիարժեք վիճակում տրոմբոցիտային կախուկ պատրաստելու նպատակով:

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аллавердян С. Н. К вопросу о методике заготовки и применения фибринных пленок. Известия АН АрмССР, 1959, 11, стр. 97.
2. Аллавердян С. Н., Баласанян М. И., Гаспарян Э. А. К вопросу о заготовке лейкоцитной массы. Пробл. гемат. и перел. крови, 1961, 5, стр. 44.
3. Арлозоров З. Г. Доступный метод быстрого выделения лейкоцитной и тромбоцитной массы из глюкоцитратной крови для трансфузии. Пробл. гемат. и перел. крови, 1957, 4, стр. 23.
4. Багдасаров А. А., Гусейнов Ч. С., Чернов Г. А., Бирюзова В. И. Консервирование тромбоцитов и их применение в клинике. Тезисы докл. 38 пленума Уч. совета Центр. ин-та гемат. и перел. крови, М., 1959, стр. 39.
5. Виноград-Финкель Ф. Р., Леонтович В. А., Абезгауз Н. Н. К вопросу о применении желатины в консервировании крови. Совр. пробл. гемат. и перел. крови, 1956, 32, стр. 121.
6. Гусейнов Ч. С. К методике получения и консервирования тромбоцитов. Пробл. гемат. и перел. крови, 1959, 8, стр. 43.
7. Копейкина А. А. Получение и консервирование тромбоцитной массы. Пробл. гемат. и перел. крови, 1963, 1, стр. 38.
8. Мачабели М. С. Теория свертывания крови. Тбилиси, 1960, стр. 143.
9. Розенберг Г. Я., Ульянова Н. Д. Выделение тромбоцитной массы в условиях комнатной температуры. Пробл. гемат. и перел. крови, 1961, 10, стр. 46.
10. Рутберг Р. А. и Абдуллаев Г. М. Выделение и консервирование жизнеспособной тромбоцитной массы. Пробл. гемат. и перел. крови, 1958, 6, стр. 41.
11. Теодорович В. И. Изучение функционального состояния тромбоцитов во взвесах тромбоцитов, переливаемых больным. Вопр. гемат. и консерв. крови тканей, Л., 1961, в. 12, стр. 115.
12. Теодорович В. И. и Хохлова К. А. Простой способ изготовления взвеси лейкоцитов. Пробл. гемат. и перел. крови, 1957, 4, стр. 27.
13. Creveld V., Paulsen M. H., Bartres H. Z. J. Clin. Path., 1953, v. 6, p. 41.
14. Hitzig N. H. Schweiz Med. wschr., 1954, 84, № 39, p. 1126.
15. Minor A. H., Burnett Zee. Blood, 1952, v. 77, p. 693.
16. Мечкарски Ст. Въпроси на хематологията и кръвопреливането, София, 1947, т. 4, стр. 29.
17. Stefanini M., Dameshek W. New English J. Med., 1953, v. 248, p. 797.
18. Stefanini M., Chatterjea J. B., Dameshek W. a others. Blood, 1952, v. 7, p. 53.
19. Tullis J. Z. Am. J. Med. Soc., 1953, v. 226, p. 191.