

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ  
Первый заместитель Министра

\_\_\_\_\_ Р.А. Часнойть  
23 марта 2007 г.  
Регистрационный № 121-1005

**УНИФИЦИРОВАННЫЙ СПОСОБ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ  
ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ТЕРАПИИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-  
практический центр гематологии и трансфузиологии»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, проф. В.В. Кирковский, В.И. Левин, В.Н.  
Гапанович, Е.Д. Чумакова, Л.С. Луц, Н.П. Митьковская, В.С. Пилотович,  
Э.А. Янович

Минск 2007

В комплексной терапии заболеваний широкое распространение в Республике Беларусь нашли методы экстракорпорального воздействия на кровь, позволяющие удалять из организма пациента промежуточные и конечные продукты нарушенного метаболизма, токсины, продукты клеточного распада и микробные тела.

Известно, что во всех случаях эндогенной интоксикации в независимости от этиопатогенеза ее развития наряду с нарушениями метаболизма белков и липидов, происходит нарушение в клеточных мембранах форменных элементов крови вследствие либо непосредственного вовлечения в патологический процесс, либо сорбции на них избыточного количества метаболитов и продуктов нарушенного обмена веществ.

Инструкция по применению метода предназначена для оценки эффективности сеансов экстракорпорального воздействия на кровь, используемых в комплексной терапии различных заболеваний, сопровождающихся развитием синдрома эндогенной интоксикации.

Инструкция может быть использована в учреждениях здравоохранения в отделениях интенсивной терапии и др., где используются экстракорпоральные методы детоксикации организма.

## **ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ**

### *Оборудование:*

1. Прибор для определения электрофоретической подвижности (ЭФП) клеток (например, микрокамера Абрамсона в модификации С.С. Харамоненко, цитоферометр и др.).

2. Микроскоп.

3. Центрифуга с горизонтальным ротором типа ОПН-3.

4. Автоматические пипетки объемом 0,25; 1,0; 5,0 мл и наконечники к ним.

5. Центрифужные пробирки объемом 10,0 мл.

6. Пробирки химические объемом 20,0 мл.

7. Пипетки Пастера.

8. Штативы для пробирок на 20 гнезд.

### *Реактивы:*

1. М/15 фосфатный буфер (рН = 7,4).

### *Приготовление:*

Раствор «А»: 9,480 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  безводного растворить в 1 л дистиллированной воды.

Раствор «Б»: 9,073 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  растворить в 1 л дистиллированной воды.

Растворы «А» и «Б» смешиваются в пропорции: 77,7 мл раствора «А» и 22,3 мл раствора «Б».

2. 6% раствор глюкозы (6 г глюкозы растворить в 100 мл дистиллированной воды).

3. Физиологический (0,85-0,9%) раствор NaCl (возможно использование растворов 0,9% NaCl изотонического промышленного производства).

4. Катафоретическая среда (среда измерения): содержит 3 части 6% раствора глюкозы и 1 часть фосфатного буфера.

5. Антикоагулянт (например, гепарин).

### **ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ**

Оценка терапевтической эффективности в комплексной терапии различных заболеваний сеансов экстракорпорального воздействия на кровь.

### **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ**

Гемолиз образцов крови, а также представленных для анализа.

### **ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПОСОБА**

Определяется состояние мембраны эритроцитов, о котором судят по величине электрофоретической подвижности красных кровяных клеток.

Эритроциты для исследований выделяют из крови больного дважды: один раз – до, а второй – после сеанса экстракорпорального воздействия на кровь. Могут использоваться эритроциты:

1) третьей фракции крови, образующейся после ее свертывания (красные кровяные клетки, не включенные в кровяной сгусток, располагающийся на дне пробирки);

2) эритроциты периферической крови, заготовленной с использованием антикоагулянта.

Определение электрофоретической подвижности эритроцитов производится на любом приборе, предназначенном для этих целей, в катафоретической среде. Измерение электрофоретической подвижности образца клеток осуществляется не позднее 24 ч после его получения.

Эритроциты непосредственно перед анализом дважды отмываются раствором 0,9% натрия хлорида и один раз катафоретической средой.

При проведении исследования клетки помещают в катафоретическую среду (конечная концентрация – 0,05% суспензия), и для каждого образца определяется подвижность не менее 20 эритроцитов в одну и другую стороны. На основании этих измерений высчитывается среднее значение электрофоретической подвижности для образца эритроцитов в целом.

Электрофоретическая подвижность эритроцитов выражается в  $\text{мкмс}^{-1}\text{V}^{-1}\text{см}$  и рассчитывается по формуле:

$$V=S/ET, \quad (1)$$

где S – фиксированное расстояние, на которое передвигаются эритроциты (в мкм);

E – напряженность электрического поля (V/см) – постоянная при заданных условиях величина, рассчитываемая по формуле:

$$E=I/qk, \quad (2),$$

где  $I$  – сила тока;

$q$  – поперечное сечение камеры;

$k$  – удельная электропроводность среды.

Передвижение клеток в электрическом поле регистрируется визуально с помощью микроскопа.

### **ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ**

Измерение электрофоретической подвижности образца клеток осуществляется не позднее 24 ч после его получения.

#### **Трактовка результатов**

Физиологические значения ЭФП составляют  $1,17 \pm 0,004$  мкм  $\text{с}^{-1} \text{V}^{-1}$  см.

На основании изучения уровня ЭФП эритроцитов установлена ее величина при различных нозологиях: у больных ишемической болезнью сердца –  $1,08 \pm 0,01$  мкм  $\text{с}^{-1} \text{V}^{-1}$  см; хронической почечной недостаточностью –  $1,13 \pm 0,009$ ; первичным синдромом Шегрена –  $1,07 \pm 0,02$ ; с ревматоидным артритом –  $1,09 \pm 0,06$ ; системной красной волчанкой –  $1,10 \pm 0,01$ ; системным склерозом –  $1,11 \pm 0,01$ .

Рост величины электрофоретической подвижности красных кровяных клеток, выделенных из периферической крови, взятой у больного после сеанса экстракорпорального воздействия на кровь, по сравнению с таковой образца эритроцитов, взятого у него же до сеанса, свидетельствует об эффективности лечебного воздействия. Неизменность показателя, равно как и его снижение, указывает на неэффективность выполненной процедуры.

В качестве примера приводятся данные обследования двух больных с хронической почечной недостаточностью, в комплексной терапии которых использовался гемодиализ:

*I больной:* до процедуры ЭФП аутоэритроцитов равнялась  $1,09$  мкм  $\text{с}^{-1} \text{V}^{-1}$  см; после процедуры –  $1,14$  мкм  $\text{с}^{-1} \text{V}^{-1}$  см. Делается вывод об эффективности выполненной процедуры;

*II больной:* до процедуры ЭФП аутоэритроцитов –  $1,13$  мкм  $\text{с}^{-1} \text{V}^{-1}$  см; после процедуры –  $1,13$  мкм  $\text{с}^{-1} \text{V}^{-1}$  см. Делается вывод о неэффективности гемодиализа.

Предлагаемый способ на основании определения динамики величины электрофоретической подвижности эритроцитов в процессе проведения сеансов экстракорпорального воздействия на кровь позволяет дать оценку терапевтической эффективности выполненной процедуры.