

Винахід відноситься до медицини, зокрема акушерству і гінекології.

Найбільш близьким до заявлюваного за своєю суттю є спосіб одержання препарату лейкоцитів для профілактики спонтанних викиднів [1]. Відповідно до способу у чоловіка вагітної забирають 100-150мл венозної крові у флакон із гепарином, розливають у пробірки по 20мл і на 30-45хв залишають у термостаті при 37°C у наклонному стані для осадження еритроцитів. Після цього плазму з лейкоцитами відсисають пастерівською піпеткою, вміщують у центрифужні пробірки і центрифугують протягом 10хв при 1500об/хв. Надосадову рідину видаляють, а осад лейкоцитів ресуспендують у 2мл стерильного фізіологічного розчину. Кількість лейкоцитів в одержуваному препараті складає 90-120млн, кількість живих клітин - 95%.

Однак даний спосіб має ряд недоліків.

Спосіб передбачає спонтанне осадження еритроцитів, що не забезпечує повного їх виділення і, отже, не дає можливості ефективно використовувати кров чоловіка. Кількість лейкоцитів у препараті складає одну лікувальну дозу. Однак у другій половині вагітності по медичним показникам може стати необхідним повторне введення препарату. У даному випадку здійснюють повторний забір крові у чоловіка і здійснюють всю процедуру одержання препарату.

Після одержання препарат придатний до використання тільки протягом першої години. Це не дає можливості перевірити його на бактеріологічну і вірусологічну чистоту.

Багаторазове переміщення клітинної суспензії із однієї посудини в іншу збільшує ризик втрати стерильності препарату, а також ускладнює процес виділення лейкоцитів.

В основу винаходу поставлена задача створити такий спосіб одержання препарату лейкоцитів для лікування невиношуваності вагітності, який дозволив би збільшити кількість виділених клітин у препараті, а також зменшити ризик втрати його стерильності у процесі виділення клітин.

Ця задача вирішується тим, що в способі одержання препарату лейкоцитів для лікування невиношуваності вагітності, який включає забір крові у чоловіка вагітної, осадження еритроцитів, відділення плазми з лейкоцитами, центрифугування, видалення надосадової рідини і ресуспендування лейкоцитів, відповідно до винаходу з метою осадження еритроцитів використовують плазмозамінник з м.м. не менше 70000Д, а ресуспендування здійснюють у криозахисному розчині, який містить такий же плазмозамінник із додаванням лактози і глюкози, після чого суспензію лейкоцитів розливають у дві кріопробірки і заморожують до -196°C. Забір крові, осадження еритроцитів, центрифугування і ресуспендування лейкоцитів здійснюють в одній фармакопейній формі для забору крові.

Спосіб, що заявляється, дає можливість одержати препарат із більш високим вмістом клітин (260-300млн), що дає змогу заготовити 2 дози препарату і зберігати їх у рідкому азоті (-196°C) до моменту використання. Зберігання в рідкому азоті забезпечує можливість проведення в повному об'ємі бактеріологічних і вірусологічних досліджень.

Використання однієї стандартної фармакопейної форми для проведення процедур від забору крові до ресуспендування лейкоцитів значно знижує ризик порушення стерильності матеріалу, а також спрощує процедуру виділення лейкоцитів.

Приклад здійснення способу.

Венозну кров чоловіка вагітної у кількості 150мл забирають у готову фармакопейну форму для забору крові, яка відповідає усім вимогам ВОЗ. Через верхній отвір додають плазмозамінник з м.м. не менше 70000Д, наприклад, гідроксиетиленовий крохмаль (ГЕК), у співвідношенні 1:4 до кількості крові. Залишають у вертикальному положенні при 37°C для осадження еритроцитів протягом 60хв.

Осаджені еритроцити зливають через нижній зливний отвір, перекривають його і фармакопейну форму, в якій залишилась плазма з лейкоцитами, вміщують у центрифугу. Центрифугують протягом 20хв при 1500об/хв. Після цього через верхній вхідний отвір форми видаляють надосадову рідину, а осад лейкоцитів, що залишився, ресуспендують з 5 мл криозахисного розчину, який містить плазмозамінник ГЕК (86%), лактозу (4%) і глюкозу (10%).

Одержану клітинну суспензію ділять на 2 рівні частини і розливають у стерильні кріопробірки типу NUNC, при цьому піпеткою Саллі забирають 0,02мл зависі для підрахунку кількості клітин та їх життєздатності і 0.8 мл для проведення бактеріологічного і вірусологічного контролю препарату. Обидві кріопробірки вміщують в програмний заморожувач і охолоджують зі швидкістю 3°C/хв до -70°C, після чого занурюють у рідкий азот і зберігають при -196°C до моменту використання. Після проведення бактеріологічного і вірусологічного контролю одну з кріопробірок відігрівають на водяній бані з температурою 39-40°C до зникнення твердої фази.

Готова до введення доза препарату містить 130-150млн лейкоцитів при 87-90% їхньої життєздатності.

Друга кріопробірка з препаратом зберігається в рідкому азоті і використовується при необхідності повторної імунізації вагітної.

Джерела інформації:

1. Говалло В.І., Сидельников В.М. - Акушерство і гінекологія. - 1983.- №2. - С.25-28.