

УДК 615.38-053.8-07: 614

МОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ РАЗЛИЧНЫХ КАТЕГОРИЙ ДОНОРОВ[©]

Г. А. Зайцева, М. Е. Ковтунова, О. И. Матрохина, Н. В. Исаева, И. Н. Данилова, М. М. Куликова, Е. П. Ивашкина*

Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови, г. Киров, Россия

HEALTH STATUS MONITORING OF DIFFERENT DONOR CATEGORIES

G. A. Zaitseva, M. E. Kovtunova, O. I. Matrokhina, N. V. Isaeva, I. N. Danilova, M. M. Kulikova, E. P. Ivashkina*

Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov, Russian Federation

Цель. Изучить состояние иммунитета, тромбоцитарного звена гемостаза, белкового обмена и метаболизма железа для комплексной оценки здоровья различных категорий доноров.

Материалы и методы. Иммунологические исследования проводили с помощью тестов 1-го и 2-го уровней, характеризующих состояние клеточного, гуморального звеньев иммунитета и неспецифической резистентности организма. Функциональную активность тромбоцитов оценивали турбидиметрическим методом. Содержание общего белка определяли колориметрическим методом. Показатели обмена железа изучали методами иммунорадиометрического и иммунохемилюминесцентного анализа.

Результаты. У доноров, награжденных нагрудным знаком «Почетный донор России», выявлены нарушения в иммунограмме, затрагивающие клеточный, гуморальный иммунитет и неспецифическую защиту, с частотой 7,4–18% обследованных. Повышение уровня интерлейкина 1-β и фактора некроза опухолей-α обнаружено у 7,5% доноров. Однако частота выявленных отклонений иммунологических показателей в группе почетных доноров не отличалась от таковой у первичных доноров. Понижение агрегационной способности тромбоцитов с разными индукторами наблюдалось у 20–25%. Число отклонений от нормативных значений показателей белкового обмена на 1 донора составило 0,865. Наилучшей группой для донорства плазмы для фракционирования следует считать мужчин и женщин в возрасте от 18 до 23 лет. У доноров, регулярно сдающих кровь и ее компоненты, при снижении уровня гемоглобина наблюдалась напряженность адаптивных механизмов, проявлявшаяся повышенной продукцией эритропоэтина и усилением экспрессии растворимых трансферриновых рецепторов.

Выводы. Необходим углубленный мониторинг здоровья активных доноров. Полученные данные позволяют в определенной степени судить о состоянии здоровья населения в регионе.

Ключевые слова. Доноры крови и ее компонентов, доноры плазмы для фракционирования, иммунитет, белковый обмен, метаболизм железа.

[©] Зайцева Г. А., Ковтунова М. Е., Матрохина О. И., Исаева Н. В., Данилова И. Н., Куликова М. М., Ивашкина Е. П., 2013
e-mail: mkovtunova@yandex.ru

тел. 8 (8332) 54 96 76

[Зайцева Г. А. – доктор медицинских наук, профессор, первый заместитель директора по НИР; Ковтунова М. Е. (*контактное лицо) – кандидат медицинских наук, доцент, ученый секретарь; Матрохина О. И. – врач-трансфузиолог; Исаева Н. В. – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуногематологии; Данилова И. Н. – младший научный сотрудник лаборатории иммунологии лейкозов; Куликова М. М. – кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии лейкозов; Ивашкина Е. П. – кандидат биологических наук, научный сотрудник центра патологии гемостаза].

Aim. To study the status of immunity, thrombocyte component of hemostasis, protein metabolism and iron metabolism for complex assessment of health status in different categories of donors.

Materials and methods. Immunological study was carried out using level 1 and 2 tests characterizing the status of cellular and humoral immunity components and nonspecific resistance of the body. Functional thrombocyte activity was estimated with turbidimetric method. The total protein content was determined using colorimetric method. Iron metabolism indices were studied with the methods of immunoradiometric and immunochemiluminescent analysis.

Results. In donors awarded by the breastplate "Honorary Donor of Russia", there were observed disorders in immunogram regarding cellular, humoral immunity and nonspecific protection with the frequency of 7,4–18% of the examined patients. Increase in interleukin 1- β and tumor necrosis factor- α was revealed in 7,5% of donors. However, frequency of the detected deviations of immunological indices in the group of Honorary Donors did not differ from that of primary donors. Reduction of aggregation platelet ability with different inductors was observed in 20–25% of the observed persons. The number of deviations from the standard values of protein metabolism indices per 1 donor was 0,865. Men and women aged 18–23 should be considered the best group of plasma donors for fractionation. Among regular donors of blood and its components, decrease in hemoglobin level caused tension of adaptive mechanisms displayed by elevated production of erythropoietin and strengthening of expression of soluble transferring receptors.

Conclusion. A deepened monitoring of active donors' health is necessity. The obtained data will permit to judge about health status of the population in the region.

Key words. Donors of blood and its components, plasma donors for fractionation, immunity, protein metabolism, iron metabolism.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важнейших задач донорства крови и ее компонентов является поддержание здоровья доноров. Только от здорового человека могут быть получены качественные гемоконпоненты и только здоровому человеку участие в донациях не причинит вреда. Между тем предусмотренные нормативными документами методы медицинского обследования различных категорий доноров не всегда позволяют выявить у них имеющиеся функциональные отклонения. В связи с этим весьма актуален углубленный мониторинг состояния здоровья как доноров компонентов крови, так и доноров плазмы для фракционирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Иммунологические исследования проводили с помощью тестов 1-го и 2-го уровней, характеризующих состояние клеточного, гуморального звеньев иммунитета и не-

специфической резистентности организма. При этом использовали унифицированные методы, рекомендованные Институтом иммунологии МЗ РФ для оценки иммунного статуса при массовых обследованиях [5].

Функциональную активность тромбоцитов оценивали турбидиметрическим методом с помощью анализатора агрегации тромбоцитов «Биола» (модель ЛА 230- α). В качестве индукторов агрегации использовали реагенты фирмы ООО «Технология – Стандарт» (г. Барнаул).

Содержание общего белка определяли колориметрическим методом на биохимическом анализаторе HITACHI 902 Automatic Analyzer и ARCHITECT 8000 компании Abbott, USA. Уровни белковых фракций исследовали с использованием аппарата электрофореза сыворотки крови УЭФ-01-«Астра», а также анализатора CAPILLARYS 2, Sebia, France.

Показатели обмена железа изучали методами иммунорадиометрического и иммунохемилюминесцентного анализа с тест-системами фирмы Immunotech (Чехия) и Beckman Coulter (США) на радиоиммуно-

химической установке «Ариан» и иммунохимическом анализаторе Access 2.

Статистическую обработку проводили по программе Microsoft Office Excel 2007, Statistica. За достоверность принимали результаты с $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Отдельный интерес представляет состояние лиц, награжденных нагрудным знаком «Почетный донор России». Они являются наиболее дисциплинированным донорским контингентом, вносящим неоценимый вклад в развитие безвозмездного донорства, и своим примером способствуют пропаганде этого добровольного гуманного акта. Обследовали 321 донора этой группы в возрасте от 23 до 61 года (медиана возраста у мужчин – 36,6 г., у женщин – 40,9 г.). Количество донаций у них варьировалось от 40 до 266.

При определении иммунологических показателей было установлено, что у некоторых доноров отклонения от нормы названных параметров превышали 35–40%, то есть по существующим правилам могли рассматриваться как иммунные нарушения. В частности, лейкопения выявлена у 11,8%, относительная лимфопения – у 7,4% доноров. Снижение содержания CD3-, CD4-лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса обнаружено у 11,2% обследованных, ослабление фагоцитарной активности нейтрофилов – у 15,8%. Изменения в иммунограмме, которые могли быть расценены как проявления хронической инфекции или воспаления, такие как повышение уровня IgG в сыворотке крови, активация кислородзависимого киллинга нейтрофилов, отмечались у 18% доноров. Уровень сывороточного интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), который является ключевым провоспалительным цитокином, варьировался от 0 до 78 пг/мл, при этом у 92,5% обследованных он не превышал 11 пг/мл, указанных производителем реагентов как верхний

предел значений (0–11 пг/мл) у здоровых людей. У 7,5% доноров концентрация ИЛ-1 β составила 12,5–75,0 пг/мл, то есть была выше нормальных значений. Фактор некроза опухолей (ФНО- α) – плеотропный провоспалительный цитокин, по своей биологической активности близкий к ИЛ-1 β , превышал диапазон нормы у 7,4% обследованных. Следует подчеркнуть, что частота выявленных отклонений иммунологических показателей в группе почетных доноров не отличалась от таковой у первичных доноров, а по некоторым параметрам (повышение уровня ИЛ-1 β и ФНО- α) была ниже.

Агрегационную активность тромбоцитов исследовали у 120 человек данной группы. Снижение активности пластинок при индукции адреналином обнаружено у 25% доноров, при индукции АДФ – у 22%, при индукции коллагеном и ристомисином – у 20%. Полученные результаты согласуются с литературными данными, в соответствии с которыми понижение агрегационной способности тромбоцитов наблюдается у 20% доноров [2].

В соответствии с национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52249–2004 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств» обеспечение качества компонентов и препаратов крови распространяется на все этапы производства – от заготовки исходного материала до получения готового продукта [1]. Плазма, полученная от здорового донора, в соответствии с рекомендациями Совета Европы, должна содержать не менее 50 г/л общего белка. На основании «Инструкции по применению компонентов крови» количество белка в дозе свежезамороженной плазмы должно быть не менее 60 г/л [3].

Содержание общего белка в порции плазмы зависит от такового в сыворотке крови донора. Получение препаратов из плазмы должно производиться из сырья с полноценным белковым составом. В связи

с этим оценка функциональных показателей доноров, характеризующих белковый обмен, приобретает особую актуальность.

Оценили уровень общего белка и белковые фракции у 400 доноров плазмы для фракционирования (ПДФ) в возрасте от 18 до 65 лет (медиана возраста – 29 лет), в том числе 207 мужчин и 193 женщин. Количество плазмотах у доноров варьировалось от 1 до 60. Исследования включали определение уровня общего белка и его фракций: альбумина, суммы глобулинов, α_1 -глобулинов, α_2 -глобулинов, β_1 -глобулинов, β_2 -глобулинов и γ -глобулинов.

При оценке белкового состава сыворотки крови доноров ПДФ в зависимости от пола и возраста выявлено, что наименьшее значение общего белка, как у мужчин, так и у женщин, зарегистрировано в возрастной группе от 24 до 39 лет. Отклонения от нормальных значений содержания альбумина носили неоднозначный характер: ниже нормы в 13,75% случаев, преимущественно у женщин, выше – в 20,5%, чаще у мужчин. Анализ этого показателя в зависимости от возраста и пола выявил, что низкий уровень альбумина имели в основном доноры-женщины в возрасте от 40 до 60 лет – 44%, тогда как среди мужчин того же возраста – только 9%. Повышенное содержание альбумина встречалось у мужчин возрастной группы 18–23 лет (32%).

Оценили параметры белкового обмена у доноров ПДФ из разных социальных групп, включавших студентов (медиана возраста – 20 лет), безработных и пенсионеров (медиана возраста – 37 лет), служащих (медиана возраста – 36 лет), а также рабочих (медиана возраста – 37 лет). Низкие значения показателей обнаружены во всех социальных группах (отклонения выходили за нижнюю границу нормы), но достоверных различий между ними не выявлено. Следовательно, социальный статус не являлся значимым фактором, влияющим на уровень общего белка и его фракций у доноров, однако по

ряду характеристик установлены достоверные отличия.

Показано, что в первой группе за верхний предел нормативных значений выходило содержание альбумина (интервал $59,5 \pm 2,7$ выше верхней границы у 61,5%) – данный показатель достоверно отличался от такового у рабочих и безработных. В этой социальной группе установлена наименьшая концентрация β_2 -глобулинов, достоверно отличающаяся от аналогичных значений в других социальных группах (этот факт подтверждает прямую корреляционную зависимость содержания β_2 -глобулинов от возраста). Превышение содержания альбумина в группе студентов происходило за счет более высокого его значения у мужчин (37%), особенно в возрастной группе 18–23 лет. Студенты-мужчины имели наименьшее значение суммы глобулинов (в пределах нормы).

В группе безработных и пенсионеров выявлено достоверно увеличенное содержание α_2 -глобулинов, в группе служащих, наоборот, – наиболее низкая их концентрация. У рабочих установлено значимое повышение суммы глобулинов – высокий уровень зарегистрирован у 23 (18%) доноров. Группа безработных отличалась от других только наличием более высокого уровня α_2 -глобулинов у мужчин (7,5%). Наименьшее содержание α_2 -глобулинов выявлено у служащих, а внутри группы показатели у мужчин и женщин достоверно различались по содержанию β_1 - и γ -глобулинов.

Интересным представляется факт наличия более высокой концентрации общего белка у женщин-рабочих по сравнению с мужчинами-рабочими. Среди мужчин этой группы общий белок ниже нормы имели 24 (31,6%) человека, среди женщин – 12 (23,5%), что можно отнести к внутригрупповому отличию, поскольку значимых различий по данному показателю в других социальных группах не установлено. Выявлено, что у женщин-рабо-

чих, по сравнению с мужчинами-рабочими, более низкий уровень альбумина. В данной группе у 20 (39,2%) доноров отмечен его наименьший показатель. Различия относительно других возрастных групп достоверны. Следует также отметить существенные отличия суммы глобулинов у данной группы от остальных, а внутри нее – между женщинами и мужчинами (у 39,2% женщин-рабочих установлен наивысший показатель суммы глобулинов).

Расчет числа отклонений от нормативных значений показателей белкового обмена на донора каждой группы выявил, что их общее число на одного донора составляет 0,865. У мужчин и женщин отмечены следующие нарушения показателей белкового обмена на одного донора: у студентов – 0,85; у безработных – 0,89; у служащих – 0,73; у рабочих – 0,94. Число отклонений у мужчин различных социальных групп составило соответственно: 0,8; 0,94; 0,84; 0,7 на одного донора, у женщин: 0,9; 0,85; 0,6; 1,29. Однако достоверных различий между группами не установлено. Следовательно, полученные результаты по числу отклонений в социальных группах можно отнести только к групповой выборке, не распространяя их на всю генеральную совокупность.

Таким образом, в результате проведенного анализа можно сделать заключение о том, что предпочтительными группами для донорства ПДФ являются мужчины и женщины в возрасте от 18 до 23 лет. При этом женщины-рабочие имеют больше отклонений в показателях белкового обмена, чем доноры других групп. Наилучшей для донорства ПДФ группой женщин могут считаться служащие с наименьшим числом отклонений показателей белкового обмена.

Регулярные кроводачи у доноров крови и ее компонентов могут приводить к истощению запасов железа в организме и возникновению железодефицитной анемии. Поэтому одной из причин временного отво-

да доноров от донаций крови и ее компонентов является снижение уровня гемоглобина (Hb) для мужчин менее 130 г/л, для женщин – менее 120 г/л [4]. Однако содержание Hb в крови не всегда может характеризовать статус железа в организме. Оценить его запасы и выявить скрытый дефицит железа позволяет исследование сывороточного ферритина (СФ). Проведенные нами ранее анализы показали, что запасы железа в организме доноров, регулярно сдающих кровь и ее компоненты, значительно снижены, что подтверждалось низкими уровнями сывороточного ферритина у 50% из числа обследованных. При этом показатели Hb и трансфертного железа у них не были снижены.

Поскольку СФ является белком острой фазы, его концентрация не всегда достоверно отражает запасы железа. Дать точную оценку обмена железа и дифференцировать истинный его дефицит от анемических состояний, обусловленных другими причинами, позволяет исследование содержания растворимых рецепторов трансферрина (рТфР) и эритропоэтина (ЭПО) в сыворотке крови.

Наиболее ранним информативным дифференциальным показателем, не зависящим от возраста, пола, воспалительных реакций и наличия инфекции, является концентрация растворимых трансферриновых рецепторов. Исследуя концентрацию рТфР, возможно выявить дефицит железа на клеточном уровне. В норме сыворотка крови содержит небольшое их количество (до 21 нмоль/л). Уровень рТфР коррелирует со степенью тяжести анемии: чем ниже значение Hb, тем значительно повышена концентрация рТфР. Исходя из этого, комбинация показателей рТфР и уровня СФ дает наиболее высокую информативность и специфичность при ранней диагностике дефицита железа.

Отношение количественного содержания рТфР к логарифму ферритина, именуемое как индекс рТфР, выявляет общее содер-

жание железа в организме. Согласно инструкции компании Beckman Coulter по определению рТфР, показатели индекса рТфР, равные или превышающие значение 14, характеризуют дефицит железа либо железодефицитную анемию. Для уточнения степени гипоксии при диагностике железодефицитной анемии исследуют содержание эритропоэтина в сыворотке крови. Физиологические границы концентрации ЭПО в крови варьируются от 2,59 до 18,5 мМЕ/мл. При железодефицитной анемии вследствие снижения оксигенации тканей наблюдается повышенный уровень ЭПО.

У 74 доноров (62 женщины и 12 мужчин) в возрасте от 19 до 55 лет (медиана – 35 лет) с низким уровнем Hb, регулярно сдающих кровь и ее компоненты, проведено комплексное исследование анемических факторов, включая определение СФ, рТфР и ЭПО. Содержание Hb у женщин варьировалось от 97 до 119 г/л (медиана – 113 г/л), у мужчин – от 116 до 128 г/л (медиана – 123 г/л). Снижение СФ было выявлено у 55 (74%) из 74 доноров, среднее значение его у женщин составляло $7,1 \pm 3,3$ нг/мл, у мужчин – $8,3 \pm 4,7$ нг/мл ($M \pm \sigma$), при норме соответственно от 15 до 90,5 нг/мл и от 30 до 237 нг/мл. Концентрация рТфР превышала пороговое значение, равное 21 нмоль/л, у 47 (64%) доноров, при медиане 26,8 нмоль/л. Высокое значение ЭПО отмечено в 38% случаев, медиана составила 27,4 мМЕ/мл, что в 1,5 раза выше верхней пороговой величины нормы.

Сниженные уровни СФ в 40 (73%) из 55 наблюдений сочетались с повышенными величинами рТфР, в 21 (38%) случае одновременно зарегистрировано увеличение концентрации ЭПО, что свидетельствовало о напряженности адаптивных метаболических реакций, характеризующих восстановление обмена железа. У 5 доноров наблюдалось увеличение только содержания ЭПО.

В 18% случаев при низких значениях СФ уровни рТфР и ЭПО были нормальными. У 19 доноров с нормальным содержанием СФ при низких значениях Hb в 16% были выявлены нормальные уровни рТфР и ЭПО, что предполагает отсутствие у них истинного дефицита железа. Значительное повышение концентрации рТфР обнаружено у 7 доноров, что в 2 случаях сочеталось с высоким уровнем ЭПО.

Подсчет индекса рТфР выявил, что у 60 (81%) обследованных его значение превышало 14, что свидетельствовало о наличии у них истинного дефицита железа. В 38% случаев высокое значение индекса рТфР сочеталось с повышенной концентрацией ЭПО.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют, что у доноров, регулярно сдающих кровь и ее компоненты, при снижении уровня Hb наблюдается напряженность адаптивных механизмов, проявляющаяся повышенной продукцией ЭПО и усилением экспрессии рТфР для адекватного обеспечения эритропоэза железом.

Выводы

Мониторинг состояния здоровья различных категорий доноров выявил отклонения со стороны иммунной системы, тромбоцитарного звена гемостаза, показателей белкового обмена и метаболизма железа. Особое внимание необходимо уделять донорам, многократно сдающим кровь и ее компоненты, включая такую группу, как лица, награжденные нагрудным знаком «Почетный донор России». Предпочтительной для отбора доноров плазмы для фракционирования следует считать возрастную группу мужчин и женщин в возрасте от 18 до 23 лет. Полученные данные позволяют в определенной степени судить о состоянии здоровья населения в регионе.

Библиографический список

1. ГОСТ Р 52249–2009. Национальный стандарт Российской Федерации Правила производства и контроля качества лекарственных средств. Консультант Плюс.
2. Козлов А.А., Иевская К.Н., Сидоров М.А. Исследование функций тромбоцитов у доноров. Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины. Киров 2008; 33–34.
3. Об утверждении инструкции по применению компонентов крови: приказ Минздрава РФ № 363 от 25 ноября 2002 г. М. 2002; 32.
4. Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов: приказ Минздрава РФ № 374 от 14 сентября 2001 г. (в ред. приказов Минздравсоцразвития РФ от 16.04.2008 № 175н, от 06.06.2008 № 261н). М. 2001; 10.
5. Петров Р.В., Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Орадовская И.В., Еремина О.Ф., Саидов М.З. Оценка иммунной системы при массовых обследованиях: метод. рекомендации для научных работников и врачей практического здравоохранения. Иммунология 1992; 6: 51–62.

Материал поступил в редакцию 12.01.2013