

(19)



(10) **LT 6324 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patento numeris: **6324** (51) Int. Cl. (2016.01): **A61K 35/00**
- (21) Paraiškos numeris: **2016 506**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2016-04-08**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2016-09-26**
- (45) Patento paskelbimo data: **2016-10-10**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —
- (30) Prioritetas: —
- (72) Išradėjas:
Adas DARINSKAS, LT
Aurija KALASAUSKIENĖ, LT
Agnė VAITKEVIČIENĖ, LT
- (73) Patento savininkas:
Adas DARINSKAS, Turniškių g. 13-8, LT-10104 Vilnius, LT
Aurija KALASAUSKIENĖ, Bitininkų g. 53, LT-46356 Kaunas, LT
Agnė VAITKEVIČIENĖ, Gelvonų g. 39-18, LT-07137 Vilnius, LT
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Gediminas PRANEVIČIUS, Advokatų profesinė bendrija IP FORMA, Užupio g.30, LT-01203 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
Akių lašų gamybos būdas ir panaudojimas
- (57) Referatas:

Išradimas skirtas oftalmologijai, tiksliau – akių lašų gamybos iš autologinio arba alogeninio veninio kraujo arba virkštelės kraujo plazmos arba serumo arba iš trombocitais praturtintos plazmos ar jos krioprecipitato ar lizato (PRP) būdai ir jų panaudojimui akių paviršiaus susirgimų gydymui. Surinktą paciento veninį kraują arba donoro virkštelės kraują, arba praturtintą trombocitų faktoriais kraują centrifuguoja, išskiriant dvi kraujo frakcijas: viršuje – serumą arba plazmą, apačioje – eritrocitus ir kitas ląsteles. Akių lašų gamybai naudoja tik serumą arba plazmą. Serumą arba plazmą perfiltruoja per 0,2 mikrometrų filtrą, praskiedžia fiziologiniu tirpalu, pagaminant 10 % akių lašų tirpalą. Gautą akių lašų tirpalą išpilsto į sterilius mėgintuvėlius ir laiko užšaldytus iki -80 °C temperatūros iki 6 mėnesių. Prieš taikymą atšildo akių lašus iki +17 °C - +25 °C temperatūros. Šio išradimo akių lašai skirti panaudoti akių paviršiaus susirgimų, tokių kaip sausų akių sindromas, persistuojantys ragenos epitelio defektai, gydymui.

IŠRADIMO SRITIS

Išradimas skirtas oftalmologijai, tiksliau – akių lašų gamybos iš autologinio arba alogeninio veninio kraujo arba virkštelės kraujo plazmos arba serumo arba iš trombocitais praturtintos plazmos ar jos krioprecipitato ar lizato (PRP) būdui ir jų panaudojimui akių paviršiaus susirgimų gydymui.

TECHNIKOS LYGIS

Akies paviršius – ragena, akies obuolio junginė ir ašarų plėvelė – nuolat veikiami išorės veiksnių (UV spindulių, alergenų, mikroorganizmų, oro srovės, mechaninių traumų).

Daugybė fiziologinių veiksnių saugo akies paviršių, todėl ragenos epitelio ląstelės regeneruoja, vyksta ragenos nervų ataugimas ir slopinama ragenos vaskuliarizacija (Chang J.-H. et al. *Corneal neovascularization: an Anti-VEGF therapy review*, 2012). Sveika ašarų plėvelė ypač svarbi akies paviršiaus homeostazės užtikrinimui: drėkina akies paviršių, plauna mechaniškai; ašarose yra augimo faktorių, vitaminų, fibronektino ir kitų aktyvių medžiagų, kurios veikia epitelio ląstelių proliferaciją, migraciją ir diferenciaciją, ašaros taip pat pasižymi ir antimikrobinėmis savybėmis (Geerling G. et al. *Autologous serum eye drops for ocular surface disorders*, 2004). Esant sausų akių ligai, sumažėja ar net išnyksta epiteliotrofinis ašarų plėvelės poveikis ir išsivysto tokios patologinės būklės kaip persistuojantys ragenos epitelio defektai ir sausasis keratokonjunktivitas. Epidemiologiniai tyrimai įrodė, kad sausų akių ligos dažnis įvairių tyrimų duomenimis svyruoja nuo 5 % iki daugiau nei 35 % populiacijos (*The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop*, 2007), o sausų akių ligos rizikos veiksniai yra vyresnis amžius ir moteriška lytis, taip pat kai kurie vaistai, autoimuniniai susirgimai, chirurginiai pažeidimai, cheminiai veiksniai ir kt. (Terry MA. *Dry eye in the elderly*, 2001; Ribelles A et al. *Ocular Surface and Tear Film Changes in Older Women Working with Computers*, 2015). Dėl ašarų plėvelės nepakankamumo ir įvairių ragenos susirgimų (neurotrofinis keratitas) ar pažeidimų (cheminiai, terminiai nudegimai, virusiniai, bakteriniai keratitai), kurie sutrikdo ragenos inervaciją, labiausiai nukenčia ragenos sluoksnių regeneracija ir gijimas. Šie pažeidimai gydomi vietinio veikimo medikamentais, į kurių sudėtį dažniausiai įeina konservantai, dirbtinėmis ašaromis, kontaktiniais lęšiais. Alternatyva – chirurginis gydymas (blefarorafija, amnion

membranos transplantacija), tačiau tai yra invaziniai gydymo metodai su savom kontraindikacijom ir komplikacijom. Nežiūrint gydymo metodų gausos, ragenos užgijimo problema išlieka, nes tai nėra etiopatogenetinis gydymas.

Autologinis arba alogeninis veninio kraujo serumas arba plazma bei virkštelės kraujo serumas arba plazma arba trombocitais praturtinta plazma ar jos krioprecipitatas ar lizatas yra puiki pradinė medžiaga natūralių akių lašų gamybai. Moksliniais tyrimais įrodyta, kad autologinis ir alogeninis veninio kraujo serumas ir plazma bei virkštelės kraujo serumas ir plazma savo sudėtyje turi vitamino A, epidermio augimo faktoriaus (EGF), neurotrofinio faktoriaus, citokinų, fibronektino, prealbumino ir aliejų (Yoon KC *Use of umbilical cord serum in ophthalmology*, 2014). Serumo augimo faktoriai (epidermio augimo faktorius (EGF), hepatocitų augimo faktorius (HGF) ir keratinocitų augimo faktorius (KGF)) stimuliuoja greitesnį ragenos žaizdų gijimą (Anitua E. et al. *Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates proliferation and migration of primary keratocytes and conjunctival fibroblasts and inhibits and reverts TGF- β 1-induced myodifferentiation*, 2011; Fini M. E., Stramer B. M. *How the cornea heals: corneaspecific repair mechanisms affecting surgical outcomes*, 2005; Peterson J. L. et al. *The role of endogenous epidermal growth factor receptor ligands in mediating corneal epithelial homeostasis*, 2014). Dėl šių medžiagų poveikio akių lašai, pagaminti iš serumo arba plazmos, efektyviai stabilizuoja ir pagerina tam tikromis ūmiomis ir lėtinėmis akių ligomis sergančių pacientų akių būklę (Costagliola C *Evaluation of the efficacy of 50 % autologous serum eye drops indifferent ocular surface pathologies*, 2014). Akių lašai, pagaminti iš autologinio ar virkštelės kraujo serumo, yra be konservantų, neturi alergenų ir pagal savo biomechanines ir biochemines savybes yra labai artimi natūralių ašarų sudėčiai (Pan Q. et al. *Autologous serum eye drops for dry eye*, 2013). Gydymas šiais akių lašais yra taikomas kartu su standartinė terapija. Trombocitais praturtinta plazma ar jos krioprecipitatas ar lizatas (PRP) savo sudėtyje turi aukštesnę augimo faktorių koncentraciją, lyginant su autologiniu serumu, todėl ragenos žaizdų gijimas yra greitesnis (Anitua E. *Plasma rich in growth factors (PRGF) eye drops stimulates scarless regeneration compared to autologouse seru min the ocular surface stromal fibroblasts* 2015; Alio JL. et al. *The role of „Eye platelet rich plasma“ (E-PRP) for wound healing in ophthalmology* 2012; Panda A. *Topical autologous platelet-rich plasma eyedrops for acute corneal chemical injury* 2012).

Akių lašai gali būti naudojami esant neefektyviam standartiniam gydymui. Visgi ne visi pacientai gali donuoti kraują dėl amžiaus (vaikai), medicininių priežasčių (virusinių infekcijų nešiotojai, autoimuninėmis ligomis sergantys asmenys), todėl akių lašų gamybai gali būti naudojamas alogeninis veninis kraujo serumas arba plazma, arba alogeninis virkštelės kraujas, kuriame yra didesnė augimo faktorių koncentracija, ir dėl to vyksta greitesnis ragenos epitelio gijimas (Erdem E et al *Umbilical cord blood serum therapy for the management of persistent corneal epithelial defects*, 2014). Atliktame prospektyviniame atvejo kontrolės tyrime palygintas autologinio ir virkštelės kraujo serumo akių lašų panaudojimo efektyvumas sunkių sausų akių sindromo gydymui ir nustatyta, kad tiek autologinio, tiek ir virkštelės kraujo serumo akių lašai sumažino sausų akių sindromo simptomus, prailgino ašarų plėvelės sutrūkinėjimo laiką, sumažino keratoepiteliopatijos simptomus ir impresinės citologijos duomenis jau per mėnesį laiko nuo vartojimo pradžios, tačiau virkštelės kraujo serumo akių lašai efektyviau sumažino sunkaus sausų akių sindromo simptomus ir keratoepiteliopatiją bei padidino junginės taurinių ląstelių tankį Sjogreno sindromo atveju, lyginant su autologinio kraujo serumo akių lašais (Yoon KC. et al. *Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome*, 2007). 2015 metų J Ophthalmology Maria Rosaria De Pascale su bendraautorais išnagrinėjo 2010-2014 metų publikacijas apie žmogaus kraujo serumo akių lašų panaudojimą akių ligų gydymui ir pateikė išvadas, kad keletas randomizuotų (cituoti 7 šaltiniai) tyrimų pritaria, kad žmogaus kraujo serumo akių lašai pagerino ašarų plėvelės stabilumą ir subjektyvius jautimus dėl greitesnio epitelio gijimo be ragenos vaskuliarizacijos ir fibrozės atsiradimo; be to keletas tyrimų patvirtino šių akių lašų saugumą, visišką netoksiškumą ir pašalinių reiškinių nebuvimą (ypač sergant sunkia sausų akių liga ir persistuojančiais ragenos epitelio defektais (De Pascale MR et al. *Human Serum Eye Drops in Eye Alterations: An Insight and a Critical Analysis*, 2015).

TRUMPAS IŠRADIMO APRAŠYMAS

Skirtingai nuo analogų, kuriuose kalbama apie akių lašų paruošimą ir panaudojimą medicinoje, konkrečiai oftalmologijoje, šiame išradime aprašyta akių lašų gamyba, naudojant skirtingas pirmines medžiagas: autologinį paciento veninio kraujo serumą/plazmą (1), alogeninį veninio kraujo serumą/plazmą (2), alogeninį virkštelės kraujo serumą/plazmą (3) arba autologinę ar alogeninę trombocitais praturtintą plazmą ar jos krioprecipitatą ar lizatą (PRP). Gamybos procese nėra

ženklių skirtumų kuri – (1), (2), (3) ar (4) – pirminė medžiaga yra naudojama. Pirminės medžiagos parinkimas priklauso nuo akių lašų taikymo. Autologinio serumo/plazmos pagrindu pagaminti akių lašai gali būti naudojami tik to paties paciento gydymui. Tuo tarpu akių lašai pagaminti, naudojant alogeninį veninio kraujo serumą/plazmą arba virkštelės kraujo serumą/plazmą kaip pirminę medžiagą, gali būti naudojami bet kurio paciento gydymui pagal indikacijas.

Akių lašų gamybai naudojamos pirminės medžiagos gaunamos, surenkant kraują (veninį arba virkštelės kraują) į sterilų mėgintuvėlį, skirtą serumui arba plazmai išskirti, arba į specialų virkštelės kraujo surinkimo maišą. Surinktas kraujas yra centrifuguojamas.

Po centrifugavimo atskiriami du sluoksniai: viršutiniame – plazma arba serumas, apatiniame – eritrocitai ir kitos ląstelės. Akių lašų gamybai naudojamas serumas arba plazma. PRP akių lašų gamybai naudojama trombocitų masė išskirta iš veninio kraujo.

Serumas/plazma yra filtruojamas ir skiedžiamas fiziologiniu tirpalu, pagaminant 10 % tirpalą. Filtravimui naudojamas 0,2 mikrometrų filtras, filtruotas ir skiestas tirpalas išpilstomas į sterilius mėgintuvėlius po 1 ml.

Alternatyviai, serumas/plazma yra pirmiausia skiedžiami fiziologiniu tirpalu, pagaminant 10 % tirpalą, o pastarasis filtruojamas per 0,2 mikrometrų filtrą ir išpilstomas į sterilius mėgintuvėlius po 1 ml.

Paruošti mėgintuvėliai užšaldomi ir laikomi -80 °C temperatūroje iki 6 mėnesių.

Akių lašai taikymui naudojami tik atšildyti iki kambario temperatūros (+17 °C - +25 °C) ir galioja 24 valandas, skaičiuojant nuo atšildymo laiko pradžios.

IŠSAMUS IŠRADIMO APRAŠYMAS

I. Kraujo paėmimas, pakavimas ir transportavimas

Pirminių medžiagų, būtinų akių lašų gamybai, paėmimas atliekamas, vadovaujantis galiojančiais LR teisės aktais. Prieš kraujo paėmimą vykdoma donoro (autologinio ar alogeninio (virkštelės kraujo atveju, motinos (gimdyvės)) atranka: atliekami infekcinių ligų tyrimai (žmogaus imunodeficito viruso I ir II antikūnų nustatymas; hepatito B viruso HBsAg, anti-HBcor ir anti-HBS antikūnų nustatymas; hepatito C viruso anti-HCV antikūnų nustatymas; RPR kokybinės reakcijos

nustatymas; TPHA kokybinės hemaglutinacijos reakcijos su *Treponemapallidum* antigenų nustatymas), bei pokalbio su gydytoju metu pildoma donoro anketa. Atlikus donoro ištyrimą ir apklausą, vykdomas donoro atitikties kriterijų įvertinimas. Kraujo paėmimas vykdomas tik patvirtinus donoro atitiktį nustatytiems kriterijams.

Autologinių akių lašų gamybai naudojamas paciento veninis kraujas, surinktas į 5 ml sterilius mėgintuvėlius (vakutainerius), skirtus serumo/plazmos išskyrimui. Alogeninių akių lašų gamybai naudojamas donoro veninis kraujas arba virkštelės kraujas iš virkštelės venos, surinktas *ex utero*, gimus kūdikiui, į 5 ml sterilius mėgintuvėlius (vakutainerius), skirtus serumo arba plazmos išskyrimui, arba į specialų virkštelės arba veniniam kraujui surinkti ir apdoroti pritaiktą maišą. Virkštelės kraujas imamas, gimus kūdikiui, nukirpus virkštelę, prieš arba po placentos gimimo.

Atlikus kraujo paėmimą, surinktas kraujas paruošiamas transportavimui. Kraujas transportuojamas specialiai kraujo, skirto akių lašų gamybai, transportavimui skirtame rinkinyje, kurį sudaro temperatūrą palaikančios medžiagos (šaldomasis maišas arba temperatūrą stabilizuojantis blokas), temperatūrą registruojantis daviklis, lydintieji dokumentai. Iki transportavimo kraujas laikomas rinkinyje +2 °C - +25 °C temperatūroje.

Kraujas turi būti pristatytas į laboratoriją akių lašų gamybai ne vėliau nei per 48 valandas. Akių lašų gamybai iš PRP naudojama Kraujo banko paruošta trombocitų masė, išskirta iš paciento arba donoro veninio kraujo. Trombocitų masė yra transportuojama į laboratoriją akių lašų gamybai ne vėliau nei per 48 valandas +2 °C - +25 °C temperatūroje.

II. Akių lašų paruošimas taikymui

Laboratorijoje, kurioje bus gaminami akių lašai, pristatytas rinkinys su krauju ar trombocitų mase yra registruojamas, tikrinama ar nebuvo pažeista transportavimo dėžė, laikymo sąlygos (registruojami temperatūros daviklio duomenys) bei transportavimo trukmė. Akių lašus gaminant iš trombocitų masės, pirmiausiai paruošiama PRP. PRP paruošimo metu maišas su trombocitais yra užšaldomas iki -80 °C ir atšildomas iki +37 °C ne mažiau nei 5 kartus.

Akių lašų gamyba atliekama atitinkamo švarumo laboratorijoje. Mėgintuvėlis (-iai) arba kraujo maišas su krauju arba paruošta gamybai trombocitų masė (užšaldyta arba ne) yra centrifuguojami prie 200-2500 G nuo 1 iki 60 minučių. Centrifugavimo

trukmė gali būti nustatyta ilgesnė. Po centrifugavimo išsiskiria dvi frakcijos: viršuje – serumas/plazma, apačioje – eritrocitai ir/ar kitos ląstelės. Naudojant pipetę, atsargiai nuimamas viršutinis serumo/plazmos ar praturtintas trombocitų faktoriais plazmos sluoksnis ir perkeliamas į vieną sterilų mėgintuvėlį. Vėl atliekamas aukščiau aprašytas centrifugavimas, siekiant pašalinti eritrocitų ir kitų ląstelių likučius.

Atlikus kraujo serumo arba plazmos atskyrimą, surinktas serumas arba plazma yra filtruojami per 0,2 mikrometrų sterilų filtrą. Po filtracijos serumas arba plazma perpilami į mėgintuvėlį su fiziologiniu tirpalu. Paruošiama 10 % galutinė kraujo serumo arba plazmos koncentracija fiziologiniame tirpale. Alternatyviai, serumas arba plazma pirmiausia gali būti skiedžiamas, gaunant 10 % koncentracijos tirpalą, po to gautasis tirpalas filtruojamas per 0,2 mikrometrų sterilų filtrą.

Paruošti akių lašai išpilstomi į mėgintuvėlius šaldymui arba gali būti paruošiami sterilūs švirkštai arba lašintuvai, jei akių lašai bus taikomi 24 valandų bėgyje, o šaldymas ir saugojimas nebus atliekamas. Išpilstymas atliekamas steriliai. Vienas mėgintuvėlis su baigtiniu produktu yra atidedamas kokybės tyrimams (sterilumo vertinimui).

Nešaldyti ir taikymui paruošti akių lašai yra transportuojami gydymui į gydymo įstaigą. Nešaldytų akių lašų transportavimas atliekamas +2 °C - +25 °C temperatūroje ne ilgiau nei per 24 valandas nuo akių lašų paruošimo pradžios.

Jei akių lašai po paruošimo ir išpilstymo netaikomi 24 valandų bėgyje, jie yra šaldomi. Mėgintuvėliai su akių lašais šaldomi iki -20 °C - -80 °C temperatūros. Paruošti ir užšaldyti akių lašai, laikomi -80 °C temperatūroje, galioja iki 6 mėnesių. Taikymui naudojami tik atšildyti mėginiai.

III. Akių lašų taikymo indikacijos ir gydymo pavyzdžiai

Indikacijos autologinio ar alogeninio kraujo serumo akių lašų vartojimui:

1. Sausų akių liga (sausasis keratokonjunktyvitas, Sjogreno sindromas, "donorinio audinio prieš šeiminingą" ligos atveju atsiradusio sausų akių sindromo gydymui, po persirgto virusinio keratokonjunktivito, po ragenos transplantacijos operacijos);

2. Persistuojantys ragenos epitelio defektai (potrauminė atsikartojanti ragenos erozija, ragenos epitelio bazinės membranos-Baumano sluoksnio distrofijos,

reumatoidinio artrito sukelti ragenos epitelio defektai, neurotrofinis keratitas, sutrikusi ragenos epitelizacija po terminių ir cheminių nudegimų, sutrikęs ragenos transplantato epitelizavimas).

Serumo akių lašai skiriami nuo 3 kartų per dieną iki kasvalandinio lašinimo (ypač sunkiais atvejais). Gydomo trukmė įvairi, priklausanti nuo proceso eigos: gali būti nuo 2 savaičių iki 4 mėnesių.

Ligoniams taikyto gydymo akių lašais pavyzdžiai ir jų rezultatai

Pavyzdys Nr. 1. 68 metų vyras, patyręs abiejų akių apatinių vokų ir akies obuolio junginės bei ragenos ir limbo srities terminį nudegimą liepsna, į akių gydytojus kreipėsi tik po 10 dienų po patirto nudegimo. Apžiūrint rasta apie 90 laipsnių kairės akies ir apie 60 laipsnių dešinės akies limbo srities išemija, kairės akies ragenos epitelio taškiniai defektai, dešinės ragenos pakitimų nerasta. Keturias dienas gydytas stacionare konservatyviai, vėliau tęstas gydymas ambulatoriškai, tačiau po 2 savaičių progresavo imuniniai procesai, prasidėjo junginių nekrozė, kairioji ragena su plačiu defektu. Atlikta abiejų akių nekrektomija ir junginės plastika amniono membrana, kiek vėliau atsirado platus dešinės ragenos defektas, o kairės akies gresianti perforacija, ragenos defektas gydytas pakartotina amniono membranos transplantacija. Akių būklė prastėjo, nekrozė progresavo, todėl buvo atlikta abiejų akių ragenos ir skleros plastika donorinio perkardo lopu ir amnion membrana. Nežiūrint taikyto konservatyvaus ir chirurginio gydymo, kairės akies išsaugoti nepavyko. Dešinės ragenos išopėjimas progresavo link centro. Procesas truko 6 mėnesius.

Po 6 mėnesių buvo nuspėsta panaudoti autologinio kraujo serumo akių lašus. Pacientas juos lašino 3 kartus per dieną ir po 1 mėnesio grėsmingas ragenos opėjimas buvo sustabdytas: susiformavo randas su jaugusiomis kraujagyslėmis. Po šio užgijimo pacientas stebimas jau 8 mėnesiai, recidyvo nėra. Gydymą autologinio kraujo serumo akių lašais pacientas toleravo labai gerai, tuo tarpu kai įprastinių akių lašų netoleravo, nuolat skųsdavosi graužimu ir paraudimu.

Pavyzdys Nr. 2. 36 metų vyras, patyręs vienos akies ragenos sumušimą ir cheminį nudegimą (sprogus petardai), gydytas konservatyviai stacionare, vėliau ambulatoriškai, dėvėjo kontaktinį lęšį. Nežiūrint skiriamo gydymo (regeneraciją gerinantys akių lašai, geliai ir tepalas), stebėta užsitęsusi sutrikusi ragenos epitelizacija ir po penkių savaičių nutarta paskirti virkštelės serumo akių lašus.

Virkštelės serumo akių lašai skirti lašinti 3 kartus per dieną. Jau po savaitės laiko akivaizdžiai sumažėjo ragenos defektas, o po dviejų ragena užsiepitelizavo. Atvykus kontrolei po 1 mėnesio, ragena pilnai užgijusi. Pacientas gydymą toleravo gerai.

Pavyzdys Nr. 3. 51 metų vyras, patyręs vienos akies ragenos cheminį nudegimą (sprogus petardai), gydytas konservatyviomis priemonėmis stacionare, vėliau tęstas gydymas ambulatoriškai, dėl mišraus traumos mechanizmo sutrikęs ragenos gijimas. Pacientui buvo paskirti virkštelės kraujo serumo akių lašai. Jau per pirmą savaitę po paskirto gydymo ragenos gijimo procesas pastebimai suaktyvėjo. Atvykus kontrolei po dviejų savaitių gydymo, likęs tik nedidelis ragenos epitelio defektas. Gydymas dar tęsiamas. Virkštelės serumo akių lašus lašinasi 3 kartus per dieną. Gydymą toleruoja gerai, greta virkštelės serumo akių lašų pacientas nakčiai vartoja antibiotikų tepalą.

Apibrėžtis

1. Akių lašų gamybos būdas, apimantis veninio kraujo arba virkštelės kraujo plazmos arba serumo išskyrimą ir akių lašų tirpalo paruošimą, besiskiriantis tuo, kad

a) surinktą paciento veninį kraują arba donoro virkštelės kraują patalpina į sterilius mėgintuvėlius arba į specialų virkštelės kraujo surinkimo maišą, skirtus serumo arba plazmos išskyrimui;

b) centrifuguoja mėgintuvėlius arba kraujo maišą su krauju prie 200-2500 G nuo 1 iki 60 minučių, išskiriant dvi kraujo frakcijas: viršuje – serumą arba plazmą, apačioje – eritrocitus;

c) nuima viršutinį serumo arba plazmos sluoksnį ir perkelia jį į vieną sterilų mėgintuvėlį;

d) centrifuguoja mėgintuvėlį su serumu arba plazma prie 200-2500 G nuo 1 iki 60 minučių, tokiu būdu pašalina eritrocitų likučius ir atskiria kraujo serumą arba plazmą;

e) perfiltruoja surinktą kraujo serumą arba plazmą per 0,2 mikrometrų sterilų filtrą;

f) perpila kraujo serumą arba plazmą į mėgintuvėlį su fiziologiniu tirpalu ir paruošia 10 % koncentracijos akių lašų tirpalą, kurį išpilsto į sterilius mėgintuvėlius;

g) jei akių lašai nėra skirti nedelsiamam taikymui, užšaldo mėgintuvėlius su akių lašais iki -20 °C - -80 °C temperatūros;

h) prieš taikymą atšildo akių lašus iki +17 °C - +25 °C temperatūros.

2. Būdas pagal 1 punkto e) ir f) stadijas, besiskiriantis tuo, kad, pirmiausia, perpila kraujo serumą arba plazmą į mėgintuvėlį su fiziologiniu tirpalu ir paruošia 10% koncentracijos akių lašų tirpalą, po to gautą tirpalą perfiltruoja per 0,2 mikrometrų sterilų filtrą ir išpilsto į sterilius mėgintuvėlius.

3. Akių lašai, gauti būdu pagal 1 punktą, skirti panaudoti akių paviršiaus susirgimų, tokių kaip sausų akių sindromas, persistuojantys ragenos epitelio defektai, gydymui.