

К.Е. Матвеев, Е.С. Баева

АНАЛИЗ МЕЖДУНАРОДНЫХ ПРИНЦИПОВ ХРАНЕНИЯ ДОНОРСКОЙ КРОВИ: КРИТЕРИИ ПРИГОДНОСТИ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ГЕМОТРАНСФУЗИЙ

ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, каф. нормальной физиологии

Резюме. Проведен анализ международных принципов хранения донорской крови. Показано, что в мировой медицинской практике большинство стран опираются на стандартизированные подходы к вопросам переливания и хранения донорской крови. В большинстве государств регламентированные сроки сводятся к 35-40-дневному промежутку времени. Для первичного сбора донорской крови страны в основном используют единую систему цитратных антикоагулянтов, кислую цитрат-декстрозную форму для ее афереза. Как правило, к эритроцитарной массе осуществляется прибавление состава «физиологический раствор-аденин-глюкозаманнит». Компоненты плазмы хранятся в замороженном состоянии, а тромбоцитарные – при комнатной температуре при непрерывном помешивании. В большинстве стран распространен процесс лейкоредукции перед хранением, при этом преобладающий тип фильтра лейкодеплеции зависит от страны. Активно развиваются технологии редукции патогенов, однако очистка эритроцитарных клеток находится в стадии разработки.

Ключевые слова: донорская кровь, эритроциты, плазма, переливание крови, хранение крови.

Практика переливания крови в терапевтических целях возникла сравнительно недавно, хотя общая концепция переливания имеет гораздо более длительную историю. История трансфузионной медицины – это непрерывный прогресс от примитивной, инвазивной, вредной и часто смертельной процедуры к профессионально организованной [1]. К примеру, сегодня Соединенные Штаты используют около 14 миллионов единиц цельной крови, взятой у 8 миллионов доноров. Часть этой крови и ее исходной плазмы далее перерабатываются в производные продукты. Повышение безопасности кровоснабжения и увеличение затрат, связанных с трансфузионной терапией, привели к переоценке клинической практики переливания крови и ее хранения. Сегодня кровь и ее производные играют решающую роль в мировых системах здравоохранения. За последние несколько лет всемирные организации, включая ВОЗ, внесли ряд существенных улучшений, поэтому процедуры сбора и хранения крови в настоящее время являются стандартизированными процессами [1,2]. Переливание крови может потребоваться человеку при ряде патологических состояний. Как правило, быстро найти подходящего донора очень трудно, а промедление снижает эффективность проводимых мер и вероятность восстановления здоровья больного. В связи с этим очень важно иметь запасы донорской крови заблаговременно. Изучение международных принципов переливания и хранения донорской крови и ее компонентов показало, что система мирового здравоохранения, в основном, придерживается базовых принципов хранения и переливания крови, однако имеются и некоторые различия [3].

При написании настоящей работы нами проанализировано большое количество источников отечественной и зарубежной литературы касательно вопросов хранения крови и ее компонентов. Анализ критериев их пригодности проводился с учетом

международных принципов хранения и обработки, а также очистки компонентов крови.

Анализ литературных данных показал, что в Австралии, например, кровь безвозмездно сдают добровольные доноры. Они проходят тщательный процесс скрининга, который включает в себя анкетирование и собеседование для выявления соответствующих историй болезни и факторов риска [1]. Каждая единица донорской крови проходит скрининг на различные инфекции; порядка 1% продуктов крови подвергается дополнительному контролю качества, включая учет объема и количества клеток, уровня гемолиза и гематокрита, рН для концентратов тромбоцитов и факторам свертывания для продуктов плазмы.

Согласно Европейскому Комитету по переливанию крови, компоненты крови – это те терапевтические компоненты, которые могут быть получены центрифугированием, фильтрацией и замораживанием [2]. Цельная кровь может быть показана в ограниченных клинических условиях. Однако в целом пациенты должны получать только тот компонент, который необходим для коррекции их специфического дефицита. Оптимальные условия хранения и, следовательно, сроки годности различаются для разных компонентов. Эритроциты сохраняют оптимальную функциональную способность при охлаждении. Качество компонентов плазмы лучше всего поддерживать в замороженном состоянии, в то время как хранение тромбоцитов является оптимальным при комнатной температуре при непрерывном перемешивании. Использование в Европейской странах пластиковых пакетов для хранения крови значительно облегчило подготовку высококачественных компонентов. Их получают либо из цельной донорской крови, либо с использованием технологии афереза. Параметры, необходимые для оценки качества хранимых продуктов крови, представлены на данном слайде. В связи с потенциальным ухудшением активности и функциональности лабильных компонентов крови условия хранения имеют жизненно важное значение для получения высококачественных компонентов крови [2,4].

В различных странах мира донорская кровь, отобранная для хранения, подвергается центрифугированию для отделения эритроцитарной массы, лейкоцитов и тромбоцитов. Изолированные эритроциты ресуспендируются в добавочном растворе с кислым значением рН до уровня гематокрита в 60 %. Для первичного сбора донорской крови в основном используется единая система цитратных антикоагулянтов, кислая цитрат-декстрозная форма для ее афереза. Как правило, к эритроцитарной массе осуществляется прибавление состава «физиологический раствор-аденин-глюкозаманнит». Для выделения тромбоцитов используются фракция антикоагулированной пробы крови, которая содержит большую часть лейкоцитов и тромбоцитов после центрифугирования в градиенте плотности. Для дальнейшего хранения применяется специальная суспендирующая среда для тромбоцитов. В большинстве стран распространен процесс лейкоредукции перед хранением, при этом преобладающий тип фильтра лейкодеплеции зависит от страны: некоторые страны используют фильтрацию цельной крови [1,2].

В настоящее время активно развиваются технологии редукции патогенов, которые могут присутствовать в донорской крови. Технология очистки эритроцитарной массы находится всё еще в стадии разработки. Для очистки объединенной плазмы использует комбинацию моющих средств, растворителей, пастеризации и/или нанофльтрации для инактивации патогенов. Очистка однократной донорской плазмы и тромбоцитов проводится в присутствии комбинации фотоактивирующего агента, такого как рибофлавин или псорален, и ультрафиолетового света или метиленового синего для разрушения нуклеиновой кислоты патогена, предотвращая его реплицирование. Такая обработка неизбежно вызывает изменения белковых и клеточных элементов [1].

Постановление Правительства РФ от 26.01.2010 № 29 регламентирует температуру и максимальное время хранения компонентов крови. В России придерживаются мировых стандартов хранения крови и ее компонентов. Как и в других странах, в хранимой крови рекомендуется поддерживать равновесие между АТФ, 2,3 дифосфоглицератом, глюкозой и рН. Одним из наиболее широко используемых антикоагулянтов также является цитрат-фосфат-декстроза с аденином [1].

Согласно рекомендациям ВОЗ, цельная кровь до переработки или переработанная кровь может храниться до 35 дней, а свежемороженая плазма, в зависимости от температурного диапазона, до 7 лет (таблицы 1, 2).

Таблица 1.

Условия хранения и транспортировки цельной крови и эритроцитов согласно ВОЗ

Условия	Температурный диапазон	Максимальное время хранения
Транспортировка крови до переработки	От +20 до +24 °С	6 часов
Хранение крови до переработки или переработанной крови	От +2 до +6 °С	35 дней
Транспортировка переработанной крови	От +2 до +10 °С	24 часа

Таблица 2.

Допустимое время хранения в зависимости от температурного режима свежемороженой плазмы и криопреципитата согласно ВОЗ

Продукт	Температурный диапазон хранения	Максимальное время хранения
Свежемороженая плазма	Ниже -65 °С	7 лет
Свежемороженая плазма или криопреципитат	От -64 до -40 °С	24 месяца
Свежемороженая плазма или криопреципитат	От -39 до -30 °С	12 месяцев
Свежемороженая плазма или криопреципитат	От -29 до -25 °С	6 месяцев
Свежемороженая плазма или криопреципитат	От -24 до -20 °С	3 месяца

Кровь и ее производные хранятся в специализированном холодильном оборудовании. Однако основную угрозу представляет несоблюдение техники хранения крови – изменение температуры холодильных камер, нарушение целостности упаковок крови, остатки лейкоцитарных клеток и видимый гемолиз [1, 3, 5].

Поэтому возникает закономерный вопрос: насколько безопасны и эффективны хранящиеся длительное время компоненты крови, и в особенности эритроцитарные клетки?

Во многих исследованиях разные авторы отмечают риски развития серьезных осложнений, связанных с переливанием [1, 6]. Трансфузии сопряжены с высокой частотой смертности, инфекционных заболеваний, воспалительных процессов, тромбозов. Механизмы, лежащие в основе подобных процессов, до конца не изучены. Хранимые эритроциты повреждаются накоплением собственных отходов, ферментативными и окислительными процессами. Происходит выделение лизофосфолипидов, которые могут спровоцировать острое повреждение легких, высвобождение свободного железа, что вызывает воспаление, а выделение микровезикул с оксидом азота – тромбоз. Наличие лейкоцитарных клеток в хранящейся длительное время крови также оказывает влияние на мембранную поверхность эритроцитов: снижается их способность транспортировать кислород [6, 7].

Установлено, что у эритроцитов, хранящихся в банке крови в течение 3-4 недель, изменяются не только морфология, но и размер. Помещение эритроцитов в среду, обогащенную фосфатом, способствует более длительному хранению крови *in vitro* и *in vivo*, а промывание их раствором альбумина частично восстанавливает их прежнюю форму [7, 8]. К сожалению, не все измененные эритроциты способны к обратимому восстановлению.

Российскими учеными показано, что при хранении донорской крови существует критический период, приходящийся на 20-26 сутки, когда происходит переход клеток в необратимые формы [5,7]. Молекулы гемоглобина находятся в тетрамерной форме в течение 25 сут, а кислородсвязывающая способность остается неизменной только 2 сут. Поэтому качественная оценка эритроцитов различного времени хранения вызывает дискуссию в научном сообществе. В соответствии с рекомендациями ВОЗ красные клетки крови для переливания можно хранить при 4 °С в течение 42 дней. В ряде европейских стран этот период ограничен 35 днями, согласно другим исследователям – не более 21-24 дней [7].

Кровь, хранящаяся при температурах 1–6 °С вплоть до 7 недель, постепенно подвергается деструктивным изменениям. Критериями пригодности эритроцитов являются низкий уровень гемолиза (не более 0,8 %), процент эритроцитов, который удаляется в течение 24 часов после переливания (не более 25 %) и восстановление показателей *in vivo* в течение 24 часов [1-3,5,9].

Качество эритроцитарных клеток определяется их формой и структурой мембран. Учеными установлено, что на 16-21 дни хранения в мембранах эритроцитов

появляются одиночные углубления, а также домены с внутренней зернистой структурой. На 26-й-33-й день большинство клеток составляют сфероэритроциты с крупными спикулами. К 40-му дню форма 50 % эритроцитов трансформируется в сфероцитарную, происходит редукция спикул, а размер клеток увеличивается до 12 мкм [4,5,10]. Появление подобных форм клеток, вероятно, связано с процессами агрегации и кристаллизации гемоглобина внутри них. Кластеризация белка полосы 3 вызывает приток IgG к клеткам, что приводит к реакции иммунной системы в отношении эритроцитарных мембран как чужеродных: эти эритроциты первыми удаляются из кровотока при переливании крови. Перед переливанием крови зачастую проводят предварительную промывку крови гипотоническими растворами для удаления поврежденных клеток [11].

Ученый Tatsuro Y. [12] в 2019 систематизировал результаты многочисленных исследований по выявлению первопричин и последствий развития нарушений, связанных с переливанием крови. Согласно ему, изменения в длительно хранящихся эритроцитах имеют последствия и для иных физиологических систем организма: снижение циркулирующей способности эритроцитов может привести к воспалительным реакциям и активации системы комплемента, потенциальные клинические осложнения могут индуцировать множественную органную дисфункцию вплоть до смерти человека [12]. По Tatsuro Y., во время хранения эритроциты подвергаются воздействию пластификаторов хранения, а также кислорода, диффундирующего из окружающего воздуха, при этом накапливаются метаболические отходы. Поскольку эритроциты никогда не подвергались эволюционному давлению, они не могут справиться с таким стрессовым воздействием. Почти во всех случаях ущерб, наносимый эритроцитам при гипотермическом хранении, определяется генетическим составом и, возможно, воздействием рациона питания и окружающей среды каждого донора [9,10,12].

Выводы. Даже при нынешнем относительном обилии данных переливание крови остается непростой процедурой, т.к. существует широкая генетическая изменчивость показателей эритроцитов в условиях гипотермического хранения. Опубликованные крупномасштабные исследования касательно возраста клеток не дают объективных доказательств безопасности переливаемых эритроцитов, имеющих различные повреждения, разным группам пациентов [1,4,5,9,12]. В связи с этим необходимо проведение дальнейших исследований по улучшению качества переливаемой крови с целью повышения ее терапевтической эффективности.

Литература.

1. David W. Greeninga, Kristen M. Glenisterb, Rosemary L. Sparrowb, Richard J. Simpsona. International blood collection and storage: Clinical use of blood products. *Journal of proteomics*. – 2010. – Vol. 73. – P. 386 – 395.
2. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components / edited by S. Keitel. – EDQM, 20th edition, 2020. – 441 pp.
3. Ruby N.I. Pietersz, Pieter F. van der Meer. Processing and storage of blood components: strategies to improve patient safety. *International Journal of Clinical Transfusion Medicine*. – 2015. – Vol. 3. – P. 55–64.

4. Hess J. R. Measures of stored red blood cell quality / J. R. Hess // *Vox. Sang.* – 2014. – Vol. 107. – P. 1–9.
5. Kozlova E. Morphology, membrane nanostructure and stiffness for quality assessment of packed red blood cells / E. Kozlova, A. Chernysh, V. Moroz [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 7846.
6. Баева Е.С. Биофизические и клинично-диагностические основы морфофункциональной организации эритроцитов : монография / Е.С. Баева, В.Г. Артюхов ; Воронежский государственный университет. – Воронеж : Издательский дом ВГУ, 2020. – 142 с.: ил.
7. Биологические мембраны: структурная организация, функции, модификация физико-химическими агентами / В. Г. Артюхов, М. А. Наквасина. – Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2000. – 296 с.
8. Walter H. Washing stored red blood cells in an albumin solution improves their morphological and hemorheological properties / H. W. Reinharta, N.Z. Pietyb, J. W. Deuelc, A. Makhrod, T. Schulzka [et al.] // *Transfusion.* – 2015. – Vol. 55, № 8. – P. 1872–1881. – Vol.17, № 1. – P. 27-52.
9. Gmerek K. Potentially pathogenic changes in red blood cells during their storage / K. Gmerek, J. Fabijańska-Mitek // *Pol. Merkur. Lekarski.* – 2011. – Vol. 30, № 177. – P. 224-227.
10. Yoshida T. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences / T. Yoshida, M. Prudent, A. D'alessandro // *Blood Transfus.* – 2019.
11. Cancelas J. A. Additive solution-7 reduces the red blood cell cold storage lesion / J.A. Cancelas, L.J. Dumont, L.A. Maes [et al.] // *Transfusion.* – 2015. – Vol. 55. – P. 491-498.
12. Tatsuro Y. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences / Y. Tatsuro, M. Prudent, A. D'Alessandro // *Blood Transfus.* – 2019. – Vol. 17. – P. 27-52.

Abstract.

K. Ye. Matveyev, Ye.S. Bayeva

***ANALYSIS OF THE INTERNATIONAL PRINCIPLES OF DONORS' BLOOD STORAGE:
CRITERIA OF SUITABILITY AND PHYSIOLOGICAL CONSEQUENCES OF BLOOD
TRANSFUSION***

Voronezh State Medical University, Dep.of Normal Physiology

The analysis of the international principles of storage of donor blood is carried out. It is shown that in the world medical practice, most countries rely on standardized approaches to the issues of transfusion and storage of donated blood. In most states, the regulated time limits are reduced to a 35–40-day period of time. For the primary collection of donated blood, countries mainly use a single system of citrate anticoagulants, an acidic citrate-dextrose form for its apheresis. As a rule, the composition "saline solution-adenine-glucose-mannitol" is added to the red blood cell mass. Plasma components are stored in a frozen state, and platelet components are stored at room temperature with continuous stirring. In most countries, the process of leucoreduction before storage is common, with the prevailing type of leucodepletion filter depending on the country. Pathogen reduction technologies are being actively developed, but the purification of red blood cells is still under development.

Keywords: donor blood, red blood cells, plasma, blood transfusion, blood storage.

References.

1. David W. Greeninga, Kristen M. Glenisterb, Rosemary L. Sparrowb, Richard J. Simpsona. International blood collection and storage: Clinical use of blood products. *Journal of proteomics.* – 2010. – Vol. 73. – P. 386 – 395.
2. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components / edited by S. Keitel. – EDQM, 20th edition, 2020. – 441 pp.
3. Ruby N.I. Pietersz, Pieter F. van der Meer. Processing and storage of blood components: strategies to improve patient safety. *International Journal of Clinical Transfusion Medicine.* – 2015. – Vol. 3. – P. 55–64.
4. Hess J. R. Measures of stored red blood cell quality / J. R. Hess // *Vox. Sang.* – 2014. – Vol. 107. – P. 1–9.
5. Kozlova E. Morphology, membrane nanostructure and stiffness for quality assessment of packed red blood cells / E. Kozlova, A. Chernysh, V. Moroz [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 7846.

6. Bayeva Ye.S. Biophysical and clinical-diagnostic bases of morphofunctional organization of erythrocytes: monograph / Ye.S. Bayeva, V.G. Artyukhov ; Voronezh state University. – Voronezh: VSU Publishing House, 2020. – 142 p.: il.

7. Biological membranes: structural organization, functions, modification by physico-chemical agents / V. G. Artyukhov, M. A. Nakvasina. – Voronezh : VSU Publishing House, 2000. – 296 p.

8. Walter H. Washing stored red blood cells in an albumin solution improves their morphological and hemorheological properties / H. W. Reinharta, N.Z. Pietyb, J. W. Deuelc, A. Makhrod, T. Schulzki [et al.] // Transfusion. – 2015. – Vol. 55, № 8. – P. 1872–1881. – Vol.17, № 1. – P. 27-52.

9. Gmerek K. Potentially pathogenic changes in red blood cells during their storage / K. Gmerek, J. Fabijańska-Mitek // Pol. Merkur. Lekarski. – 2011. – Vol. 30, № 177. – P. 224-227.

10. Yoshida T. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences / T. Yoshida, M. Prudent, A. D'alessandro // Blood Transfus. – 2019.

11. Cancelas J. A. Additive solution-7 reduces the red blood cell cold storage lesion / J.A. Cancelas, L.J. Dumont, L.A. Maes [et al.] // Transfusion. – 2015. – Vol. 55. – P. 491-498.

12. Tatsuro Y. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences / Y. Tatsuro, M. Prudent, A. D'Alessandro // Blood Transfus. – 2019. – Vol. 17. – P. 27-52.

Сведения об авторах: Баева Елена Сергеевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, galaxy1985@mail.ru; Матвеев Кирилл Евгеньевич – студент лечебного факультета ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, kirill.matveev120120@yandex.ru.