

УДК 615.014.41 +611-018.51]:615.38+356.33

КРІОКОНСЕРВОВАНІ ЕРИТРОЦИТИ В СИСТЕМІ ВІЙСЬКОВОЇ ТРАНСФУЗІОЛОГІЇ

В.В.Орлик, доктор медичних наук, старший науковий співробітник, доцент кафедри гематології та трансфузіології ФПДО Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького

Резюме. *Метод кріоконсервування еритроцитів набув визнання у військовій трансфузіології. У Державній установі «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України» розроблено економічний і доступний спосіб кріоконсервування еритроцитів при -20°C . Цей простий, дешевий метод може бути впроваджений у підрозділах Служби крові Збройних Сил України. Організація мережі банків донорських і аутологічних еритроцитів на етапах медичної евакуації вирішить проблему оперативного забезпечення поранених та уражених необхідними об'ємами еритроцитвміщуючих гемотрансфузійних середовищ.*

Ключові слова: *військова трансфузіологія, кріоконсервовані еритроцити.*

Вступ. Сучасний розвиток бойових засобів ураження обумовив виникнення масових санітарних втрат, новий характер раньової патології. Необхідними стали зміни в організації військової виробничої і клінічної трансфузіології, яка є невід'ємною частиною медичної служби Збройних сил. Призначенням військової трансфузіології є заготівля крові, її компонентів і препаратів, накопичення плазмозамінників у необхідних кількостях, постачання цих лікувальних середників у військові медичні установи, а також, організація інфузійно-трансфузійної терапії на етапах медичної евакуації [9, 12, 27].

Ураження та поранення військовослужбовців, як правило, супроводжуються масивними крововтратами, які вимагають адекватної замісної терапії. Відкриття Карлом Ландштейнером групової приналежності крові, а також Луїсом Аготе простого і доступного консерванту крові - натрію цитрату зробили гемотрансфузії методом, доступним для військової медицини, і основним поштовхом для розуміння цього стала Перша світова війна [10]. Службу крові почали пристосовувати під мілітарні потреби. Військові медики оцінили можливість широкомасштабного застосування консервованої крові під час бойових дій. На західному фронті вперше масово застосували

переливання консервованої цільної донорської крові. Було визнано, що поранених, яким проводили гемотрансфузії, набагато швидше і частіше вдавалося вивести не тільки з геморагічного, але і з травматичного шоку. Таким чином, за допомогою консервованої донорської крові став реальним масовий порятунок уражених і поранених під час бойових дій. Медичні структури армій Другої світової війни стали полігоном застосування переливань крові для лікування травм воєнного часу, зокрема, з великими крововтратами. Військові події, які розгорнулися в 1939 році, і з яких особливо крупного масштабу для колишнього СРСР набули бої на фронті з Фінляндією, стали реальним випробуванням медичної військової Служби крові. За сто діб боїв з фінами в Радянській Армії було використано для переливань більше, ніж 8 т консервованої крові, в той час як медиками Іспанської республіканської армії за три роки війни було перелито всього 6 т крові. Досвід війни з Фінляндією виявив і недоліки у спроможності Служби крові колишнього СРСР надавати допомогу фронту [17]. Ці недоліки полягали в тому, що, по-перше, мобілізовані в діючу армію лікарі не були ознайомлені з методами переливання крові; по-друге, в системі військових санітарних структур були

відсутні організації, які б займалися постачанням крові для переливань на фронті; по-третє, від'ємно впливала на надання медичної допомоги пораненим відсутність плазмозамінників. Ці недоліки швидко було усунуто. Під час Великої Вітчизняної війни у період з 1941 по 1945 рр. Служба крові колишнього Радянського Союзу функціонувала достатньо ефективно. За даними А.А. Багдасарова, діюча Радянська Армія одержала в Другу світову війну більше ніж 1,7 млн. л консервованої крові. В тилу в донорстві брало участь понад 5,5 млн. осіб, у військових шпиталях було проведено біля 7 млн. гемотрансфузій [13, 18]. Позитивний досвід у справі лікувального застосування переливань крові під час Другої світової війни став потужним стимулом і вихідним рівнем до подальшого розвитку військової трансфузійної медицини. Так, під час війни у Кореї добре розвинена і організована Служба крові Збройних сил США постачала до театру бойових дій консервовану при +4°C цільну донорську кров не тільки в достатній кількості, а навіть з надлишком. Це гемотрансфузійне середовище пораненим американським воякам виконувалося строго у відповідності до термінів зберігання консервованої крові. Залишки протермінованої цільної крові пропонувалися для лікування поранених і уражених військовослужбовців союзницької для американців Корейської армії. Відповідно у реципієнтів-корейців часто відмічався розвиток післятрансфузійних реакцій та ускладнень [8].

Концепція сучасної військової трансфузійної медицини передбачає обмеження переливань цільної донорської крові у зв'язку з високою імовірністю виникнення у реципієнтів посттрансфузійних гемолітичних і негемолітичних реакцій, зараження гемотрансмісійними інфекціями [7, 12]. Надається перевага компонентній гемотерапії. І тому переливання клітинних елементів крові займає важливе місце серед методів лікування в трансфузійній медицині. Переконаливо доведена ефективність унікальних лікувальних середників – клітин алогенної крові, а

гіпотетична альтернатива гемоінженерних аналогів формених елементів крові ще знаходиться в перспективі. На даний час не знайдено адекватної заміни для еритроцитів, які мають найбільший попит у практичній військовій медицині. Замісну терапію еритроцитами застосовують для надання допомоги пораненим і ураженим з крововтратою понад 15-20 % ОЦК [12, 14].

Згідно з сучасними даними, безпечним для реципієнта гемотрансфузійним еритроцитвміщуючим середовищем є розморожені відмиті еритроцити. Успіхи в галузі кріобіології дозволяють вважати заморожування доступним методом довготривалого зберігання клітин крові [3, 6, 16, 19, 21]. Розморожені еритроцити мають низку переваг перед цільною кров'ю, нативною еритросумішшю, а також нативними відмитими еритроцитами. В процесі заморожування, зберігання та розморожування еритроцитна суміш звільняється від старих, нестійких, нежиттєздатних клітин. Значну перевагу розмороженим еритроцитам надає процес відмивання кріофіліактика, зокрема, гліцерину. Разом з гліцерином під час відмивання виводяться із суміші вільний гемоглобін, позаклітинний калій, лейкоцити, тромбоцити, антитіла, цитрат, вазоактивну речовину, плазма. Це дозволяє при переливанні розморожених еритроцитів запобігти виникненню негемолітичних гемотрансфузійних реакцій, виключити імунізацію реципієнтів лейкоцитарними, тромбоцитарними антигенами або білками плазми, уникнути розвитку синдромів «масивних трансфузій» і «гомологічної крові» [11]. Існують дані, що застосування розморожених еритроцитів значно зменшує небезпеку зараження реципієнтів гемотрансмісійними інфекціями, тому що в процесі відмивання відбувається переміщення збудників інфекційних захворювань через мембрану клітин і їх механічне виведення з промивною рідиною [4]. За допомогою кріоконсервування еритроцитів може бути вирішена проблема забезпечення замісною терапією потерпілих у вогнищах

масового ураження під час військових конфліктів, стихійних лих, катастроф, радіаційних негараздів. У світі використовують дві технологічні можливості кріоконсервування еритроцитів. Швидке заморожування і довготривале зберігання еритроцитів при ультранизькій температурі (-196°C). Досвід клінічного застосування еритроцитів, кріоконсервованих при -196°C , довів їхню високу ефективність при лікуванні хворих з анеміями різної етіології [2]. У свій час на основі наукових розробок як в США, так і в СРСР було створено мережу потужних банків кріоконсервованих при ультранизькій температурі (-196°C) еритроцитів. Виявилось, що недоліком цієї системи є неможливість оперативного транспортування заморожених еритроцитів до театру бойових дій у зв'язку з використанням складного громіздкого обладнання (ємності типу дюарів) і необхідності постійного постачання рідкого азоту. Також лімітуючим фактором для впровадження в практику військової медицини ультранизькотемпературного консервування еритроцитів був короткий термін морфофункціональної придатності еритроцитів після їх розморожування. На початку військової кампанії у В'єтнамі Служба крові американських збройних сил намагалася налагодити постачання кріоконсервованих при -196°C еритроцитів з Америки до В'єтнаму повітряним шляхом, але стикнулася з серйозними організаційними, технічними і матеріальними труднощами.

Згодом був розроблений інший метод кріоконсервування еритроцитів – повільне охолодження і довготривале зберігання червоних клітин при помірно низьких температурах від -60°C до -90°C . Використання для цієї мети низькотемпературних електроохолодильників має суттєву перевагу в порівнянні з апаратурою для ультранизьких температур. На відміну від консервації в рідкому азоті цей метод передбачає можливість коливань температур зберігання, які не впливають негативно на якість еритроцитів, навіть при їх короткочасному

повторному розмороженні в процесі кріоконсервування. Наприклад, при технічних ушкодженнях рефрижераторів та при транспортуванні, що є важливим фактором для військово-польових умов [1]. Суттєвою перевагою є те, що метод повільного заморожування дозволяє здійснювати охолодження еритроцитів безпосередньо в пластикатних мішках або скляних пляшках, в яких заготовлюють кров [20]. Тому у військовій медицині пріоритет надали більш економічному і простому методу заморожування та зберігання еритроцитів при помірно низьких температурах. Використовуючи цей метод американські військові медики в повному обсязі забезпечили потреби діючої у В'єтнамі армії донорськими кріоконсервованими при помірно низькій температурі -700°C – -900°C еритроцитами, здійснюючи транспортування цього гемотрансфузійного середовища морським шляхом кораблями-рефрижераторами.

Метод кріоконсервування відкриває нові перспективи для використання у військовій трансфузіології аутогемотрансфузій, тому що дозволяє заздалегідь накопичувати необхідну кількість аутокрові для заміщення передбачуваних значних крововтрат шд час військових операцій. Виявилось доцільним застосовувати методологію аутодонацій для груп військовослужбовців, які виконують свої обов'язки в умовах небезпеки для стану їх здоров'я: на атомних підводних човнах, у бойових військових підрозділах. Існує досвід такого забезпечення власною кров'ю солдатів в передбачуваних ситуаціях загрози їх поранень з масивними крововтратами. Прикладом може бути організація медичного забезпечення учасників військових кампаній в складі підрозділів армії США в Іраку в 1999 і 2003 рр.

Трансфузії розморожених відмитих еритроцитів можуть зайняти значне місце в практиці військової медицини. Тому питання розробки та впровадження економічних простих методів заморожування та зберігання еритроцитів залишаються актуальними для сучасної військової трансфузіології.

В Державній установі «Інститут патології крові та трансфузійної медицини АМН України» (ДУ «ІПКТМ АМНУ») розроблено два методи кріоконсервування еритроцитів при помірно низьких температурах. Перший передбачає заморожування та зберігання еритроцитів при -40°C з кінцевою концентрацією кріофілактика-гліцерину 39,6% [5]. Метод може бути впроваджений на станціях переливання крові, які забезпечені відповідним електрохолодильним обладнанням. Однак, по-перше, з практичним застосуванням цього методу кріоконсервування еритроцитів можуть виникнути труднощі у зв'язку з тим, що імпортоване електрохолодильне устаткування з вказаним температурним режимом виробило свій ресурс, а його оновлення в найближчій перспективі з економічних причин малоймовірне. По-друге, велика концентрація гліцерину в захисному розчині значно ускладнює процеси обробки еритроцитів під час відмивання. Враховуючи вищенаведене, в ДУ «ІПКТМ АМНУ» був розроблений інший метод кріоконсервування еритроцитів у побутових електричних рефрижераторах (морозильниках) вітчизняного виробництва з температурою -20°C . При цьому застосовано кріозахисний розчин з кінцевою концентрацією гліцерину в суміші до 20%, що дозволяє спростити процеси гліцеринізації та дегліцеринізації еритроцитів, зменшити витрати часу, реактивів і праці.

Матеріали та методи дослідження. Об'єктом дослідження були розморожені відмиті еритроцити кріоконсервовані при помірно низькій температурі (-20°C), а також хворі з анемічним синдромом, який виник на ґрунті масивних крововтрат різної етіології: хірургічні хворі під час травматичних, розширених, перебігаючи в анатомічно ускладнених умовах операцій, хворі у невідкладних станах (травма, шок, кровотеча). Всього обстежено 124 особи. У крові хворих, яким переливали розморожені еритроцити, визначали кількість еритроцитів, величину гематокриту, вміст загального гемоглобіну, аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) –

показника життєздатності еритроцитів, 2,3-дифосфогліцерату (2,3-ДФГ) – показника киснево-транспортної функції еритроцитів. Отримані дані обробляли методом варіаційної статистики.

Результати дослідження та їх обговорення. У обстежених хворих з анемічним синдромом, що розвинувся на ґрунті масивних крововтрат, до гемотрансфузійної терапії кількість еритроцитів була знижена до $2,0 \pm 0,1 \cdot 10^{12}/\text{л}$, вміст гемоглобіну і показник гематокриту в крові були зменшені відповідно до $52,0 \pm 4,3$ г/л і $0,33 \pm 0,03$ л/л. Як показали спостереження, одноразові і повторні (до 4 раз) переливання розморожених еритроцитів в дозах 200,0 – 250,0 мл не супроводжувалися розвитком посттрансфузійних реакцій та ускладнень. В результаті проведених досліджень встановлено, що в крові пацієнтів, переважно після повторних гемотрансфузій, значно збільшувалась кількість еритроцитів до $3,9 \pm 0,3 \cdot 10^{12}/\text{л}$ ($p < 0,05$), вірогідно зростали вміст загального гемоглобіну до $109,0 \pm 4,1$ г/л ($p < 0,05$) і показник гематокриту до $0,49 \pm 0,03$ л/л ($p < 0,05$). Така динаміка змін показників червоної крові свідчила про виражену замісну протианемічну дію перелитих кріоконсервованих при -20°C еритроцитів. Одночасно з усуненням анемії після трансфузій розморожених еритроцитів в крові хворих спостерігалось значне підвищення вмісту АТФ від $2,2 \pm 0,2$ до $3,6 \pm 0,1$ мкмоль/гHb ($p < 0,05$) і 2,3-ДФГ від $9,2 \pm 0,8$ до $13,1 \pm 0,6$ мкмоль/гHb ($p < 0,05$). Позитивна динаміка змін цих фосфорорганічних сполук свідчила, що після застосованих трансфузій збільшувався енергетичний потенціал еритроцитів крові реципієнтів, понижувалось споріднення гемоглобіну до кисню, відповідно підвищувалась киснево-транспортна функція крові хворих.

Висновки

Метод кріоконсервування донорських аутологічних еритроцитів набув визнання у військовій трансфузіології. На відміну від раніше розроблених способів зберігання еритроцитів при помірно низьких температурах у ДУ

«ШКТМ АМНУ» створено економічний і доступний для впровадження метод криоконсервування еритроцитної маси при -20°C . В результаті проведених лабораторно-клінічних досліджень встановлено, що розморожені відмиті еритроцити, криоконсервовані при -20°C , є арактогенним, функціонально повноцінним гемотрансфузійним середовищем, ефективним для

лікування анемічних станів, спричинених крововтратами. Цей простий, доступний, дешевий метод може бути впроваджений у підрозділах Служби крові Збройних сил України. Таким чином, організація мережі банків донорських і аутологічних еритроцитів безпосередньо на етапах медичної евакуації може вирішити гостру проблему оперативного забезпечення.

Література

1. Виноградов В.Л., Азовская С.А., Семенова Н.В. и др. Криоконсервирование эритроцитов при умеренно низких температурах с имитацией транспортировки // Гематол. и трансфуз.- 1995.- № 3.- С. 26-29.
2. Виноград-Финкель Ф.Р., Федорова Л.И., Семенова Н.В. и др. Криоконсервирование концентрата эритроцитов при -196°C // Пробл. гематол. – 1982. – № 6. – С. 16-18.
3. Выдыборец С.В., Гайдукова С.М., Ковалкина Л.А. Состояние использования криоконсервированных трансфузионных способов в клинической практике как зеркало проблем современной трансфузиологии, криобиологии в Украине // Проблемы криобиологии.- 2005.- Т. 15, № 3.- С. 524-526.
4. Гайдукова С.М., Выдыборец С.В., Ковалкина Л.А. и др. Вирусологическая опасность гемотрансфузиологических средств как проблема криобиологии и трансфузиологии // Проблемы криобиологии.- 2005.- Т. 15, № 3.- С. 546-551.
5. Гланц Р.М., Качоровский Б.В., Криворучко Р.А. и др. Метод медленного замораживания эритроцитов при умеренно низкой температуре (-40°C) в рефрижераторах // Метод. рекомендации.- Львов, 1984.- 17 с.
6. Грищенко В.И. Достижения и перспективы развития криобиологии в Украине // Проблемы криобиологии.- 2005.- Т. 15, № 3.- С. 231-241.
7. Дашкова Н.Г. Обеспечение инфекционной безопасности гемотрансфузий // Вестник службы крови России.- 2006.- № 3.- С. 12-16.
8. Бфименко Н.А., Онуфриевич А.Д., Лазаренко М.И. и др. Современные особенности и проблемы трансфузиологического обеспечения локальных военных конфликтов // Трансфузиология и служба крови: Мат. всерос. конф. (Москва, 17-19 нояб. 1998) Проблемы гематологии.- 1998.- № 4.- С. 16-18.
9. Жибурт Б.Б., Рыжков С.В., Калеко С.П. и др. Переливание крови в Вооруженных Силах Российской Федерации (к 80-летию отечественной трансфузиологии) // Проблемы гематологии.- 1999.- № 1.- С. 5-9.
10. Зотиков Б.А. Карл Ландштейнер и его наследие // Гематология и трансфузиология.- 2001.- № 5.- С. 25 - 28.
11. Зубов П.М., Зубова О.Л. Криоконсервирование эритроцитов кордовой крови: влияние на структурно-функциональное показатели // Нове в гематології та трансфузіології.- 2006.- Вип. 5.- С. 38-43.
12. Инфузионно-трансфузионная терапия // Указания по военно-полевой хирургии.- М.: М-во обороны Рос. Фед.- 2000.- С. 111-123.
13. Кнопов М.Ш., Клясов А.В. Переливание крови в системе лечения раненых в годы Великой Отечественной

войны // Гематология и трансфузиология.- 2005.- № 1. – С. 41-46.

14. Колосков А.В. Современное представление о показаниях для трансфузии эритроцитарных компонентов крови // Гематология и трансфузиология.- 2004.- № 3.- С. 38-40.

15. Попова Н.Н., Кузьмин Н.С, Вечерко А.В., Бараташвили Г.Г. Актуальные проблемы трансфузиологии (по материалам конференции, посвященной 40-летию Центра крови и тканей Военно-медицинской академии) // Трансфузиология.- 2003. – т. 4, № 4.- С. 97-102.

16. Фуллер Б., Грин К., Грищенко В.И. Криоконсервирование для создания банка клеток: современные концепции на рубеже

XXI столетия // Проблемы криобиологии. – 2003.- № 2. - С. 62-84.

17. Шамов В.В. Уроки из опыта применения переливания крови на фронте войны с белофиннами // Воен. мед. журнал.- 1953.- № 4.- С. 17-19.

18. Шамов В.Н. Переливание крови в период Великой Отечественной войны. – Л., 1947. - 185 с.

19. Hess J.R., Greenwalt TG. Storage of red blood cells: new approaches // Transfus. Med. Rev.- 2002.- V. 16, № 4.- P.- 283-295.

20. Hess J.R. Red cell freezing and its impact on the supply chain // Transfus. Med.- 2004.- V. 14, № 1.- P. 1-8.

21. Valeri C.R. Status report on the quality of liquid and frozen red blood cells // Vox Sang.- 2002.- V. 83, Suppl 1.- P. 193-196.

Науковий рецензент доктор медичних наук, професор Заруцький Я.Л.