

УДК 62–9

Резервирование компонентов крови и гемопоэтических клеток с использованием низких температур: состояние и перспективы внедрения в интересах обеспечения пострадавших в чрезвычайных условиях

Канд. мед. наук В. Н. ВИЛЬЯНИНОВ¹, канд. мед. наук С. П. КАЛЕКО,
д-р биол. наук Ш. М. БАГАУТДИНОВ², канд. мед. наук В. Н. СЕМЕЛЕВ,
канд. мед. наук Н. Н. ПОПОВА

¹Viljaninov@mail.ru, ²bagautdinovsh@mail.ru

Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова

194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

Д-р мед. наук С. В. СИДОРКЕВИЧ, Г. И. ПЕТРЕНКО

info@almazovcentre.ru

Федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова
197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

Рассмотрены ключевые этапы эволюции представлений об основных механизмах криоконсервирования клеток крови человека. Представлен анализ современных технологий криоконсервирования и применяемых криозащитных растворов. Перечислены разработки по криоконсервированию биообъектов, выполненные при участии специалистов ВМА им. С. М. Кирова. Сформулированы первоочередные вопросы развития низкотемпературного консервирования клеток крови и костного мозга, предложены оптимальные их решения. Накопленный опыт низкотемпературного консервирования клеток крови и костного мозга свидетельствует о реальной возможности создания и внедрения в практику высокоэффективных методов получения аллогенных и аутогенных компонентов крови, их резервирование путем замораживания при температуре $-150... - 196\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-65... - 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ и $-25... - 40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Авторами освещены современные направления поиска перспективных технологий криоконсервирования и криофилактиков, которые обеспечивают максимальную морфофункциональную сохранность и клиническую эффективность применения эритроцитосодержащих компонентов крови.

Ключевые слова: криоконсервирование, эритроциты человека, глицерин, тромбоциты.

Reserving components of the blood and hematopoietic cells using low temperatures: current status and prospects for implementation in the interests of victims in emergency situations

Ph. D. in medicine V. N. VILYANINOV¹, Ph. D. in medicine S. P. KALEKO,
Dr. biol. Sc. Sh. M. BAGAUTDINOV², Ph. D. in medicine V. N. SEMELEV,
Ph. D. in medicine N. N. POPOVA

¹Viljaninov@mail.ru, ²bagautdinovsh@mail.ru

Army medical college of MAUD RF

194044, Russia, St. Petersburg, Academician Lebedev St., 6

Dr. medical Sc. S. V. SIDORKEVICH, G. I. PETRENKO

info@almazovcentre.ru

Federal Almazov Medical Research Centre

2 Akkuratova street, St. Petersburg 197341 Russia

The basic stages of evolution of understanding of the basic mechanisms of human blood cell cryopreservation are discussed. Analysis of modern cryopreservation technologies and applied cryoprotective solutions is presented. Researches in the field of cryopreservation made with the help of specialists from Army medical college of MAUD RF are listed. Perspective directions of researches in the field of blood and bone marrow cell cryopreservation and optimal solutions are shown. There exist the possibility of creating and implementing high effective methods of producing allogeneic and autogenic blood parts and their reserving by freezing at $-150... - 196\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-65... - 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ and $-25... - 40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Modern trends for cryopreservation and cryophilactic research aiming to provide maximum morphofunctional preservation and clinical effectiveness of red blood cells application are shown.

Keywords: cryopreservation, human red blood cells, glycerol, platelets.

Введение. Исторический экскурс

Готовность к оказанию помощи пострадавшим, при возникновении чрезвычайной ситуации (ЧС) техногенного или антропогенного (локальный вооруженный конфликт) характера, напрямую связана с наличием запасов гемотранфузионных средств, а при лучевых поражениях и гемопоэтических клетках. Особенно актуальной такая постановка вопроса является в отношении социальных катастроф, перерастающих в локальные военные конфликты (Египет, Сирия и др.). Опыт локальных войн последних трех десятилетий свидетельствует о высокой доле (до 50%) среди пострадавших и раненых лиц с тяжелыми сочетанными и множественными травмами, сопровождающимися значительной или массивной кровопотерей. Это обстоятельство обусловлено применением воюющими сторонами современных видов минно-взрывного и высокоточного оружия, используемого для нанесения по стратегическим объектам и населенным пунктам. При этом санитарные потери включают как военнослужащих, так и гражданское население [1].

Прогнозирование высокой потребности в компонентах крови, в случае возникновения войны, предопределило создание в США хорошо оснащенных банков крови Красного Креста, каждый из которых мог хранить до 60000 доз крови. В 1970 г. было 59 таких банков [2]. На этой основе в США был создан стратегический запас донорской крови [3]. Замороженные эритроциты и свежезамороженная плазма использовались при оказании помощи раненым во Вьетнаме (на госпитальных судах «Рипоуз» и «Санкчуэри»).

В 1985 г. в США была утверждена программа снабжения кровью и ее компонентами вооруженных сил США, предусматривавшая резервирование в замороженном состоянии эритроцитов и свежезамороженной плазмы, их рассредоточение в странах НАТО, а также систему доставки этих средств в районы боевых действий. Во время боевых действий против Ирака (операции «Буря в пустыне» и «Щит в пустыне») замороженные компоненты крови использовались на госпитальных судах «USNS Comfort» и «USNS Mercy» [4, 5].

В СССР разработка и внедрение в практику низкотемпературного консервирования эритроцитов начата в шестидесятые годы по инициативе профессора А. Е. Киселева.

В 1980–1993 гг. разработка методов и технических средств для низкотемпературного консервирования эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, клеток костного мозга в интересах военно-медицинской службы и решения проблем военного времени была предметом постоянного внимания специальной союзной проблемной комиссии. В этот период НИЛ — Центр крови и тканей ВМедА им. С. М. Кирова приобрел статус «полигона» по разработке, доклиническому и клиническому изучению методов замораживания биологических объектов и предлагаемых технических средств. В планах НИР академии постоянными стали темы по разработке и совершенствовании организационных принципов внедрения в практику работы военно-медицинской службы различных методов консервирования клеток крови, костного мозга и тканевых трансплантатов, доклиническое и клиническое изучение их эффективности. В частности, была доказана высокая

лечебная эффективность криоконсервированных сред «омоложенных» эритроцитов, тромбоцитного концентрата с раствором «Тромбокриодмац», лейкоцитов и ядро-содержащих клеток костного мозга с растворами «Лейкокриодмац» и 10%-ного диметилсульфоксида. Последующее совершенствование методов низкотемпературного консервирования клеток крови имело целью поиск новых криофилактиков для замораживания эритроцитов материалов для изготовления одноразовых полимерных контейнеров для хранения биообъектов, новых, отвечающих современным условиям работы военно-медицинской службы в мирное время и при возникновении ЧС, медицинских технологий низкотемпературного консервирования клеточных суспензий. Данные направления научных исследований являются доминирующими в последние 30 лет.

Были предложены следующие высокоэффективные методы: низкотемпературное консервирование эритроцитов под защитой пропандиосахароля (ПДС) и комбинированного раствора на основе пропиленгликоля и диметилацетамида [6], замораживание тромбоцитов с 2,5% раствором диметилацетамида при -80°C в полимерных контейнерах [7], замораживание клеток костного мозга с диметилацетамида [8].

В Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова по материалам выполненных исследований защищены три докторские и пять кандидатских диссертаций. Кроме того, по результатам клинического изучения криоконсервированных компонентов крови у пациентов с онкологическими заболеваниями, болезнями органов груди и живота, ожоговой травмой, тяжелой сочетанной травмой защищены 20 диссертационных работ. Это свидетельствует о наличии в ВМедА им. С. М. Кирова значительного творческого потенциала, способного находить оптимальные решения по разработке и внедрению в практику современных высокотехнических криогенных медицинских технологий. Так, в 2007–2012 гг. были разработаны медицинские технологии по замораживанию эритроцитов с 25% раствором глицерина в полимерных контейнерах производства ОАО «Синтез» [9], по замораживанию тромбоцитного концентрата с 2,5% раствором диметилацетамида.

Ниже приведены разработки по криоконсервированию биообъектов, выполненные при участии специалистов ВМедА им. С. М. Кирова:

- криоконсервирование «омоложенных» эритроцитов;
- комплекс технических средств для замораживания и хранения компонентов крови и клеток костного мозга (биокомплекс 2);
- криоконсервирование тромбоцитов под защитой криоконсерванта «Тромбокриодмац»;
- криоконсервирование лейкоцитов под защитой криоконсерванта «Лейкокриодмац»;
- *криоконсервирование клеток костного мозга с раствором диметилацетамида;
- криоконсервирование эритроцитов с раствором ПДС;
- *низкотемпературное консервирование эритроцитов с комбинированным раствором пропиленгликоля (18,5%) и диметилацетамида (5%);
- *криоконсервирование роговицы и других тканевых аллотрансплантатов;

- низкотемпературное консервирование эритроцитов с 40% раствором глицерина в полимерных контейнерах;
- криоконсервирование эритроцитов с 20% раствором глицерина в полимерных контейнерах ОАО «Синтез».

* — самостоятельная разработка специалистов ВМедА им. С. М. Кирова.

Первоочередные вопросы развития низкотемпературного консервирования клеток крови и костного мозга

Как и при решении любого сложного вопроса, продвижение в практику низкотемпературных технологий резервирования компонентов крови и гемопозитических клеток предопределяется наличием:

- системы подготовки специалистов в этой области;
- налаженной системы выпуска отечественных технических средств такого назначения, криозащитных, отмывающих и ресуспендирующих растворов (в РФ криогенная техника трансфизиологического назначения и указанные растворы не производятся, законодательно этот вопрос не решен);
- нормативные и методические документы, регламентирующие медицинские технологии, утвержденные МЗ РФ, устарели и утратили свою силу.

Оптимальное решение этих вопросов возможно только в государственном масштабе, что соответствует целям и задачам укрепления обороноспособности страны и повышения готовности к оказанию помощи пострадавшим в техногенных и иных катастрофах мирного времени.

Оценка способов низкотемпературного консервирования клеток крови и костного мозга

Эффективность замораживания биологических объектов предопределяется рецептурой используемого криозащитного раствора, режимом и температурой замораживания, материалом и конструкцией гемоконтейнера, величиной и стабильностью температуры хранения, режимом размораживания [10].

Наилучшие показатели сохранности клеток крови и гемопозитических клеток, наибольшая продолжительность хранения в замороженном состоянии возможны при температурах, при которых полностью прекращается действие всех повреждающих факторов. В таком состоянии замороженный объект может сохранять свои функциональные свойства и морфологические характеристики бесконечно долго (при условии обеспечения стабильности показателей температуры). Следовательно, при прочих равных, для резервирования компонентов крови и клеток костного мозга наиболее приемлемыми являются методы криоконсервирования (температура хранения $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$ или ниже в зависимости от состава криозащитного раствора) [10, 11]. Не менее важным достоинством жидкоазотной технологии (хранения в жидком азоте) является надежность. В зависимости от конструкции хранилища, хранимые биообъекты в условиях

невозможности дозаправки жидким азотом остаются не поврежденными до 28 сут. При хранении замороженных биообъектов в электрическом морозильнике безопасное время для клеток после отключения электропитания составляет менее 24 ч. В связи с перечисленными выше причинами в отделениях низкотемпературного консервирования крови МЗ и Соцразвития РФ в 2010 г. было заморожено только 56700 доз эритроцитов, выдано 55000 доз декриоконсервированных эритроцитов, что составило 2,7% от общего объема заготовленных эритроцитных компонентов [12]. Во всех случаях замораживание осуществляли под защитой глицерина при температуре $-20\text{...}-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ по методике В. Н. Мельниковой, обеспечивающей сохранность клеток в течение от 6 мес ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) до 1,5 года ($-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) [13]. Этот метод не в полной мере отвечает требованиям и задачам резервирования эритроцитов для применения при возникновении чрезвычайных ситуаций. Оптимальное решение проблемы возможно при использовании методов ориентированных на хранение при $-150\text{...}-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ или при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Результаты выполненных нами научных исследований клеток крови и костного мозга, замороженных при $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ в алюминиевых контейнерах в жидком азоте с использованием в качестве криозащитных растворов 20% глицерина и 24,5% диметилацетамида (ЦНИИГПК 11₅), позволяют считать, что отвечающие требованиям морфологические характеристики и функциональные свойства эритроцитов сохраняются 20 лет (срок наблюдения, В. Н. Вильянинов), костного мозга — 33 года (срок наблюдения, исследования на облученных мышах выполнены д. м. н. Александровым В. Н.). В литературе имеются сведения о сохранении морфологической и функциональной полноценности эритроцитов в замороженном состоянии с 40% раствором глицерина при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 37 лет [14].

Установлено наличие факторов риска посттрансфузионных осложнений, свойственных, главным образом, с металлическими контейнерами для хранения клеток крови и костного мозга в замороженном состоянии. Эти факторы в сочетании с высокой стоимостью таких изделий стали непреодолимым препятствием их применения и стимулировали процесс создания таких изделий из полимерных материалов. Работы Valeri C. R. [3, 14], показали перспективность данного направления исследований. Выполненные нами в 1991–2000 гг. сравнительные комплексные исследования замораживания эритроцитов с 20% раствором глицерина (ЦНИИГПК 11₄) и ПДС показали, что оба метода по качеству конечного продукта не имеют достоверных различий. Вместе с этим выявлены определенные преимущества метода криоконсервирования эритроцитов с ПДС:

- ПДС в 1,7–3,3 раза менее токсичен, чем глицерин, скорость его проникновения в клетку и выхода из нее выше, чем у глицерина. Взвесь эритроцитов с глицерином более вязкая, как следствие этого более высокая трудоемкость процесса отмывания эритроцитов от глицерина;

- глицерин обладает более высокой, чем ПДС осмотической активностью, в результате чего суммарные потери эритроцитов в процессе замораживания, размораживания и отмывания более чем в 2 раза (12,5%) выше, чем при применении ПДС (5,5%);

- экспозиция эритроцитов с ПДС до замораживания и после размораживания может быть более продол-

жительной, чем с глицерином; размороженные эритроциты с ПДС могут сохраняться без отмывания несколько суток, что невозможно в случае применения глицерина в качестве криофилактика.

Можно предположить, что применение пропиленгликоля (криофилактика, входящего в состав ПДС) позволит решить проблему транспортировки криоконсервированных эритроцитов. Таким образом, с позиции оперативности решения вопроса доставки резервированных эритроцитов к месту их использования, предпочтение может быть отдано применению метода замораживания этих клеток с раствором ПДС.

Учитывая сложность и трудоемкость основных этапов криоконсервирования биологических объектов и высокий риск контаминации, был разработан и внедрен в практику аппарат Haemonetics ACP 215. Метод рассчитан на использование криоконтейнеров однократного применения, конечной концентрации глицерина 40% и температуры хранения $-65... -80$ °С. По данным источника [15], в день замораживания сохранность эритроцитов составила $83,7 \pm 2,6\%$, на 14 сут их хранения в растворе AS-3– $78,9 \pm 8,8\%$. Однако, несмотря на повышенный интерес к вопросу возможности хранения размороженных отмываемых эритроцитов в течение 2^х недель, к подобному решению на практике следует относиться критически, так как процесс биологического старения клеток отменить или остановить невозможно.

Авторами [6] разработана медицинская технология замораживания эритроцитов с использованием аппарата Haemonetics ACP 215 при $-150... -196$ °С в криоконтейнерах «Фрезениус» DF-1000 и DF-700 с использованием растворов фирмы «Haemonetics», предназначенных для замораживания таких клеток при температуре $-80... -65$ °С. В предлагаемой методике соблюдены основные требования к замораживанию эритроцитов при температуре $-150... -196$ °С: концентрация глицерина составляет 19–20%, высокая скорость теплоотвода обеспечивается прямым погружением криоконтейнеров с эритроцитами в жидкий азот в горизонтальном положении. Автоматические процедуры глицеринизации и деглицеринизации осуществляются при температуре 29...32 °С. Для отмывания используются 5,85% раствор натрия хлорида и 0,9% раствора NaCl с 0,2% раствором глюкозы. Проведены исследования 164 образцов эритроцитов. Установлено, что все исследованные образцы отвечают требованиям «Технического регламента ...» [16] (таблица).

В девяностые годы в ВМедА им. С. М. Кирова, В. Н. Вильяниновым предложен и апробирован метод

Показатели качества декриоконсервированных эритроцитов (с использованием аппарата Haemonetics ACP 215)

| Показатель | Средняя | Max | Min |
|--|---------|-------|-------|
| Общий гемоглобин в дозе, г | 53,2 | 58,56 | 36,7 |
| Свободный гемоглобин, г/л | 0,24 | 0,6 | 0,1 |
| Свободный гемоглобин в дозе, г | 0,038 | 0,08 | 0,014 |
| Осмолярность, мосм/кг H ₂ O | 348,6 | 0,6 | 0,1 |

низкотемпературного консервирования эритроцитов под защитой комбинированного криоконсерванта, содержащего ПДС и ДМАЦ в конечных концентрациях 18,5% и 5% соответственно, который обеспечивает сохранность до $94 \pm 3\%$ эритроцитов. В конечном размороженном продукте содержание общего гемоглобина составило $47,1 \pm 0,8$ г, свободного гемоглобина менее $0,69 \pm 0,04$ г/л. Коэффициент Бора — $0,31 \pm 0,003$ у. е. Эти показатели свидетельствуют о некотором преимуществе этого метода перед криоконсервированием эритроцитов под защитой ПДС.

В 2007–2011 гг. в РФ (НПО «Синтез») разработаны полимерные контейнеры ККП-500 для замораживания эритроцитов в жидком азоте и при -80 °С, которые прошли доклиническое изучение в ВМедА им. С. М. Кирова. Результаты испытания показали перспективность использования полимерных контейнеров по назначению.

Замораживание тромбоцитов в зарубежных странах практикуется с применением демитилсульфоксида (ДМСО). В ВМедА им. С. М. Кирова криоконсервирование концентратов тромбоцитов (КТ) практикуется с 1980 г. с применением криозащитного раствора «Тромбокриодмац», в состав которого в качестве криофилактика входит диметилацетамид (в 2,5% концентрации). Метод прошел доклиническое и клиническое изучение с отличным результатом. Первоначально замораживанию подвергли КТ, получаемый на аппарате Haemonetics M-30. Температура хранения клеток составляла -196 °С. Всего было изготовлено и перелито с положительным клиническим эффектом более 1000 доз КТ. Количество замораживаемых клеток в одной дозе составляло $>250 \times 10^9$ тромбоцитов с раствором «Тромбокриодмац». Замораживание в металлических контейнерах в жидком азоте обеспечивало сохранность 75–80% клеток, при этом их функциональная активность снижалась на 25–35%.

В 1996 г. в НИЛ — Центре крови и тканей ВМедА им. С. М. Кирова разработан метод низкотемпературного консервирования тромбоцитов при -80 °С под защитой 2,5% раствора диметилацетамида. Сопоставление результатов лабораторной оценки результатов свидетельствует о наличии некоторого преимущества метода замораживания тромбоцитов с 5% раствором диметилсульфоксида по отношению к 2,5% раствору ДМАЦ: сохранность клеток — соответственно $74,3 \pm 2,9\%$ и $70,23 \pm 2,4\%$; степень агрегации тромбоцитов индуцированный АДФ $17,22 \pm 1,06\%$ и $15,5 \pm 1,1\%$ соответственно, агристин индуцированный — $30,4 \pm 1,3\%$ и $23,97 \pm 0,94\%$ соответственно [7].

В настоящее время для замораживания используют КТ аппаратный. Объем КТ составляет 300 мл, количество тромбоцитов — 300×10^9 в полимерных контейнерах типа «Компопласт», криозащитный раствор «Тромбокриодмац».

Температура замораживания и хранения -80 °С. Транспортировка в термозащитном контейнере, охлажденном до -80 °С (обеспечивается стабильность температуры на уровне -30 °С в течение 3-х часов), размораживание — непосредственно перед переливанием — в аппарате для размораживания и подогревания компонентов крови. Готовый к переливанию КТ: объем — 180 мл, количество тромбоцитов $>190 \times 10^9$ (допустимая величина 120×10^9), функциональная харак-

теристика: агрегация ристомидином — 31,7%, агрегация АДФ — 15,5%. Доступность запасов 100%. Время реализации заявки 50–75 мин. Клиническое изучение показало достаточную лечебную эффективность метода при условии увеличения в 2–2,5 раза количества переливаемых тромбоцитов на одну трансфузию. Переносимость трансфузий КТ с ДМАЦ существенно лучше, нежели при использовании КТ с ДСМО.

Замораживание клеток костного мозга

В настоящее время для трансплантации больным используют их собственные (аутогенные) стволовые клетки, получаемые путем фракционирования костно-мозговой взвеси и из периферической крови пациента. Доказана целесообразность резервирования аутогенного костного мозга лиц, чья деятельность связана с высоким риском лучевой травмы [19]. В течение многих десятилетий основным способом сохранения костного мозга было его криоконсервирование 7,5–10% раствора диметилсульфоксида [17, 18]. Опыт работы специалистов ВМедА им. С. М. Кирова включает использование криоконсервированного с 7,5% раствором ДМСО костного мозга у 160 пациентов с приживлением его в 100% случаев. Однократный объем получаемой у пациентов костно-мозговой взвеси, приготовленной к замораживанию составляет 310–340 г, абсолютное количество мононуклеаров $5,88 \times 10^9$, CD_{34+} — $560,8 \times 10^6$ клеток. Из костного мозга выделяется 90% мононуклеаров, из концентрата стволовых клеток костного мозга — 94,2%. Показатель сохранности жизнеспособных гемопоэтических клеток (CD_{34+} , CD_{45+}) после размораживания составляла 93% (костный мозг) и 92% (стволовая клетка периферической крови — СКПК). Используемая нами медицинская технология заготовки и криоконсервирования клеток костного мозга и СКПК имеет сходство с такими технологиями, применяемыми в стране и за рубежом, которые считаются «методом выбора». Вместе с этим, мы располагаем значительным опытом использования в качестве криозащитного раствора 3% раствора ДМАЦ, который обеспечивает морфологическую сохранность $67,5 \pm 5\%$ клеток (ДМСО — $66,0 \pm 4,0\%$), колониеобразующую способность: КОС, ед. — $20,0 \pm 4$ (ДМСО — $19,0 \pm 3,5\%$); КлОС, ед. — 47 (ДМСО — 56). Таким образом, в обоих методах после размораживания содержание мононуклеаров не изменялось.

В 1978 г. и 1984 г. метод криоконсервирования клеток костного мозга использован для его резервирования с целью последующего применения для аутооттрансплантации (в случае возникновения катастрофы или серьезной аварии, сопровождающийся облучением личного состава). Исследования образцов через 33 года показало сохранность 93% замороженных клеток.

Заключение

Разработка отечественных методов низкотемпературного консервирования клеток крови и костного мозга является высокоактуальной научно-практической проблемой, решение которой имеет важное оборонное значение. Накопленный опыт научных и опытно-конс-

трукторских работ в РФ свидетельствует о реальной возможности создания и внедрения в практику высокоэффективных методов получения аллогенных и аутогенных компонентов крови, их резервирование путем замораживания при температуре $-150 \dots -196$ °С, $-65 \dots -80$ °С и $-25 \dots -40$ °С в полимерных контейнерах отечественного производства.

Перспективными криозащитными растворами являются рецептуры на основе глицерина, ПДС, пропиленгликоля в сочетании с ДМАЦ (для эритроцитов), ДМАЦ и ДМСО — для тромбоцитов и клеток костного мозга.

Оптимальное решение анализируемой проблемы возможно при ее рассмотрении как общегосударственной задачи. Вместе с этим имеется потенциал для выполнения прикладных исследований на основе разработки и утверждения медицинских технологий для использования в интересах пациентов, пострадавших в чрезвычайных условиях.

Налаживание работ по резервированию компонентов крови и гемопоэтических клеток костного мозга, стволовых клеток периферической крови самым тесным образом связано:

- с внедрением в практику работы ВЛУ современных технологий производственной трансфузиологии;
- с решением вопроса карантинизации всех компонентов крови;
- с расширением перечня антигенов эритроцитов, типирование которых является целесообразным, так как замороженные компоненты могут оказаться единственным источником получения эритроцитного компонента с редковстречающимся набором клинически значимых антигенов;
- с необходимостью расширения перечня типированных в обязательном порядке маркеров гемотрансмиссивных вирусных инфекций, приобретающих актуальность для пациентов с тяжелыми иммунодефицитными состояниями;
- с решением организационных вопросов планового аутодонорства среди групп населения, чья профессиональная деятельность связана с высоким риском серьезных (тяжелых) повреждений, лечение которых предопределяет необходимость использования аутогемотрансфузий.

Список литературы

1. Чиж И. М. Военная медицина и медицина катастроф. // Военно-медицинский журнал. 2010. Т. СССXXI, №9, 17 с.
2. Сидоркевич С. В. Совершенствование производственной деятельности службы крови ВС РФ в мирное время: дисс. докт. мед. наук. — СПб., ВМедА им. С. М. Кирова. 2002. — 566 с.
3. Valeri C. R. et al. An integrated Liguist — Frozen Blood Balking System. // Vox. Sangvinis, Basel, 1983, vol. 45/1, p. 25–39.
4. Lelkens Ch. stuij j. New missions, renewed attention for blood supply// International review of the armed forus medical services. 1995. Vol. LXVIII, №4/5/6. — p. 120–123.
5. Blood program NATO, 1985.
6. Калеко С. П., Сидоркевич С. В., Петренко Г. И., Вильянинов В. Н., Багаутдинов Ш. М. Замораживание эритроцитов до -80 °С под защитой пропиленгликоля и диметилацетонида. // Трансфузиология. 2001. №3.

7. Захаров В. В. Консервирование тромбоцитов замораживанием до -80°C под защитой диметилацетонида. — СПб., 1996. 115 с.
8. Калеко С. П., Петренко Г. И., Агеев А. К., Багаутдинов Ш. М. Эффективность трансплантаций костного мозга, криоконсервированного с ДМАЦ в эксперименте // Матер. II Украинского съезда гематологов и трансфузиологов. — Киев, 1986. 39с.
9. Четкин А. В., Пелешок С. А., Багаутдинов Ш. М. и др. Криоконсервирование клеток крови в полимерных контейнерах на станциях (в отделениях) переливания крови военных лечебных учреждениях // Метод. рек. — М., 2012. — 27 с.
10. Пушкарь Н. С. Физико-химические основы метода низкотемпературной консервации биологических объектов. Механизмы криоповреждения и криопротекции биологических структур (Сб. матер. семинара, Харьков, 1974). — Киев, 1976. — 160 с.
11. Meryman H. T., Horublower M. A method for freezing and washing RBCs using a high glycerol concentration. // *Transfusion*. 1972. No 12. P. 145–156.
12. Селиванов Е. А., Четкин А. В., Григорьян М. Ш., Макеев А. Б. Состояния и перспективы развития криоконсервирования эритроцитов в службе крови РФ // *Трансфузиология*. 2012. №2, (Т. 13). С. 14–20.
13. Инструкция по криоконсервированию клеток крови. — М., 1995. — 41 с.
14. Valeri C. R., Rango G., Privacek L. E. An experiment with glycerol-frozen red blood cells stored at 80°C in excess at -80°C degress C up to 37 years // *Vox Sang.* 2000. Vol. 79. №3. P. 168–174.
15. Jung O. J., Kim M. J., Chung H. R. et al. The cryopreservation and thawing of red blood cells using halmonetics ASP 215 // *Vox Sang.* 2005. Vol. 89, Suppl I.-p. 171.
16. Технический регламент о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезамещающих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии. Утв. постановлением Правительства РФ от 26.01.2010 г., №29.
17. Холодный А. Я., Филев Л. В., Турбина И. Л. и др. Криоконсервирование костного мозга доноров с использованием криопротектора ДМАЦ // *Труды ВМА*, 1986. Т. 222. С. 34–40.
18. Стандартизация производства, применения и контроля качества криоконсервирующих, отмывающих и ресуспендирующих растворов в военно-медицинских учреждениях // Метод. рек. — М., 2010. — 55 с.
19. Селиванов Е. А., Белов Е. В., Данилова Т. Н. Состояние и перспективы развития производственной трансфузиологии в России // *Проблемы гематологии и переливания крови*. 1998. №4. С. 26–28.
20. Багаутдинов Ш. М., Вильянинов В. Н., Ващенко В. И. и др. Влияние глубокого замораживания на клеточную структуру эритроцитов человека. // *Вестник Международной академии холода*. 2014. №2. С. 41–44.
3. Valeri C. R. et al. An integrated Liguist — Frozen Blood Banking System. *Vox. Sangvinis*, Basel, 1983, vol. 45/1, p. 25–39.
4. Lelkens Ch. stuij j. New missions, renewed attention for blood supply. *International review of the armed forus medical services*. 1995. Vol. LXVIII, №4/5/6. — p. 120–123.
5. Blood program NATO, 1985.
6. Kaleko S. P., Sidorkevich S. V. et al. Freezing of erythrocytes to -80°C under protection of propylene glycol and a dimetilasetomid. *Transfusiology*. 2001. No 3. (in Russian)
7. Zakharov V. V. Conservation of platelets freezing to -80°C under protection of a dimetilasetomid. St. Petersburg, 1996. 115 p. (in Russian)
8. Kaleko S. P., Petrenko G. I. et al. Effektivnost of transplantations of the marrow cryopreserved with DMATs in experiment. Materials II of the Ukrainian congress of hematologists and transfuziolog. — Kiev, 1986. 39p. (in Russian)
9. Chechetkin A. V., Peleshok S. A., Bagautdinov Sh. M. etc. Kriokonservirovaniye of blood cells in polymeric containers at stations (in separations) blood transfusions military medical institutions. — Moscow, 2012. 27 p. (in Russian)
10. Pushkar N. S. Physical and chemical bases of a method of the low-temperature conservation of biological objects. Mechanisms of cryodamage and cryoprotection of biological structures. Kiev, 1976. 160 p. (in Russian)
11. Meryman H. T., Horublower M. A method for freezing and washing RBCs using a high glycerol concentration. *Transfusion*. 1972. No 12. P. 145–156.
12. Selivanov E. A., Chechetkin A. V. et al. Statuses and perspectives of development of cryoconservation of erythrocytes in service of Russian Federation blood. *Transfusiology*. 2012. No. 2, (T. 13). P. 14–20. (in Russian)
13. Instruction on cryoconservation of blood cells. Moscow, 1995. 41 p.
14. Valeri C. R., Rango G., Privacek L. E. An experiment with glycerol-frozen red blood cells stored at 80°C in excess at -80°C degress C up to 37 years. *Vox Sang.* 2000. Vol. 79. No 3. P. 168–174.
15. Jung O. J., Kim M. J., Chung H. R. et al. The cryopreservation and thawing of red blood cells using halmonetics ASP 215. *Vox Sang.* 2005. Vol. 89, Suppl I.-p. 171.
16. The technical rules about safety requirements of blood, its products, the krovezameshchayushchikh of the solutions and technical means used in transfusion and infusional therapy. 2010. No. 29. (in Russian)
17. Kholodnyi A. Ya., Filev L. V., Turbina I. L. Kriokonservirovaniye of marrow of donors with use of a cryoprotector of DMATs. 1986. T. 222. P. 34–40. (in Russian)
18. Standardization of production, the application and quality control cryopreserving, washing and the resuspendiruyushchikh of solutions in military-medical establishments. Moscow, 2010. 55 p. (in Russian)
19. Selivanov E. A. Belov E. V., Danilova T. N. Perspective of development of production transfusiology in Russia. *Problemy gematologii i perelivaniya krovi*. 1998. No 4. p. 26–28. (in Russian)
20. Bagautdinov Sh. M., Vilyaninov V. N., Vashchenko V. I. et al. Influence of deep freezing on cellular structure of the human red blood cells. *Vestnik Mezhdunarodnoi akademii kholoda*. 2014. No 2. p. 41–44. (in Russian)

References