

## Сроки хранения фильтрованных эритроцитов и посттрансфузионные осложнения (обзор)

В. В. Мороз<sup>1</sup>, Е. А. Шерстюкова<sup>1,2\*</sup>, Е. К. Козлова<sup>1,2</sup>, В. А. Сергунова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР, Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России, Россия, 119991, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4

## Storage Time of Filtered Red Blood Cells and Post-Transfusion Complications (Review)

Viktor V. Moroz<sup>1</sup>, Ekaterina A. Sherstyukova<sup>1,2\*</sup>, Elena K. Kozlova<sup>1,2</sup>, Victoria A. Sergunova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, 25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

<sup>2</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, 2-4 Bolshaya Pirogovskaya Str., 119991 Moscow, Russia

**Для цитирования:** В. В. Мороз, Е. А. Шерстюкова, Е. К. Козлова, В. А. Сергунова. Сроки хранения фильтрованных эритроцитов и посттрансфузионные осложнения (обзор). *Общая реаниматология*. 2021; 17 (1): 69–82. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-1-69-82> [На русск. и англ.]

**For citation:** Viktor V. Moroz, Ekaterina A. Sherstyukova, Elena K. Kozlova, Victoria A. Sergunova. Storage Time of Filtered Red Blood Cells and Post-Transfusion Complications (Review). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (1): 69–82. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-1-69-82> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

Эритроциты являются наиболее востребованным продуктом для переливания крови во всем мире. При этом вопрос безопасности и эффективности гемотрансфузии остается актуальным. Неясна причина и патогенез возникновения посттрансфузионных осложнений.

**Цель обзора** — обобщить данные клинических и научных исследований по эффективности гемотрансфузии эритроцитарной взвеси различных сроков хранения.

**Материал.** В базах данных Web of Science, Scopus и РИНЦ отобрали 76 источников, содержащих актуальные данные клинических и научных исследований по теме данного обзора, а также рекомендации по переливанию крови.

**Результаты.** Рассмотрели основные этапы заготовки и условия хранения фильтрованных эритроцитов; описали биохимические и структурные изменения, которые происходят во время ее хранения; привели клинические данные, касающиеся посттрансфузионных осложнений; проанализировали клинические последствия и нарушения молекулярной структуры эритроцитов в зависимости от срока их хранения.

**Заключение.** Во время длительного хранения эритроциты подвергаются значительным структурным и метаболическим изменениям. Использование в клинике относительно «старых» эритроцитов увеличивает риск возникновения посттрансфузионных осложнений. Однако остается неясно, в чем состоят патофизиологические отличия «молодых» и «старых» эритроцитов. Проведение больших клинических и научных исследований на молекулярном уровне в совокупности могут найти ответы на эти вопросы.

**Ключевые слова:** хранение эритроцитарной взвеси; гемотрансфузия; посттрансфузионные осложнения

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Summary

Red blood cells are the most required blood transfusion products worldwide. Safety and efficacy of blood transfusion are still relevant issues. Clarification of the causes and mechanisms of post-transfusion complications requires additional research.

**Aim of the review** is to summarize the data of clinical and research studies on transfusion of red blood cell suspension with various storage times.

Адрес для корреспонденции:

Екатерина Александровна Шерстюкова\*  
E-mail: orbf@mail.ru

Correspondence to:

Ekaterina A. Sherstyukova\*  
E-mail: orbf@mail.ru

**Material.** We selected 76 sources from Web of Science, Scopus, and RSCI databases containing pertinent clinical and scientific research data, as well as blood transfusion guidelines.

**Results.** We reviewed the main stages of preparation and storage of filtered red blood cells, described biochemical and structural alterations occurring during blood storage, summarized clinical data on post-transfusion complications, and analyzed clinical consequences and molecular structure abnormalities of red blood cells in relation to their storage time.

**Conclusion.** During long-term storage, red blood cells undergo significant structural and metabolic changes. The clinical use of relatively «old» red blood cells increases the risk of post-transfusion complications. However, the pathophysiological differences between «young» and «old» erythrocytes remain unclear. Large clinical and molecular research studies may add to our understanding of the complex issues related to blood transfusion.

**Keywords:** *storage of packed red blood cell; blood transfusion; post-transfusion complications*

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-1-69-82

## Введение

Уже на протяжении более 200 лет медицина критических состояний немислима без трансфузии крови. Ежегодно миллионы пациентов нуждаются в переливании крови и ее компонентов. Одним из самых востребованных компонентов крови для переливания являются эритроциты, осуществляющие доставку кислорода в ткани. Трансфузия эритроцитов необходима при массивной кровопотере, травмах, анемии, онкотерапии, сепсисе [1–5]. Однако, трансфузиологи все чаще сталкиваются с тем фактом, что переливание эритроцитов может оказать как полезное воздействие на организм пациента, так и негативное. Понимание соотношения пользы и риска гемотрансфузии эритроцитов является важным вопросом трансфузиологической медицины.

Помимо индивидуальных различий между донорами, на эффективность и безопасность переливания крови влияет качество длительно хранящихся эритроцитов. Первоначально эффективность гемотрансфузии оценивалась увеличением показателя гематокрита, а безопасность определялась типированием эритроцитов [6]. Современные рекомендации устанавливают, что в конце периода хранения эритроцитарной взвеси (ЭВ) уровень гемолиза не должен превышать 0,8% и выживаемость клеток должна быть больше 75% через 24 часа после переливания [7, 8].

Однако выполнение всех требований по переливанию не исключает риска возникновения у пациентов посттрансфузионных осложнений. В трансфузиологии обсуждаются проблемы использования «молодой» («fresh»; до 21 дня хранения) и «старой» («old»; более 21 дня хранения) ЭВ. В клинической практике показано, что при переливании эритроцитов, хранившихся более трех недель, то есть «старых» эритроцитов, посттрансфузионные осложнения возникают с большей вероятностью [9–12]. Вопрос о том, насколько эффективна и безопасна процедура гемотрансфузии при перели-

## Introduction

For more than 200 years, blood transfusion has been an essential part of critical care medicine. Every year millions of patients require transfusions of blood and its components. One of the most needed blood components for transfusion are red blood cells (RBC), which deliver oxygen to the tissues. Transfusion of erythrocytes is necessary in massive blood loss, trauma, anemia, cancer therapy, sepsis [1–5]. However, transfusion medicine specialists commonly come up against the fact that red blood cell transfusion can have both beneficial and adverse effects. Understanding the benefit-risk ratio of erythrocyte transfusion is an important challenge of transfusion medicine.

In addition to individual differences between donors, the efficiency and safety of blood transfusions are influenced by the quality of long-stored red blood cells. Originally, the efficacy of blood transfusion was assessed by an increase in hematocrit, and safety was determined by erythrocyte typing [6]. According to the current guidelines, the hemolysis rate should not exceed 0.8% at the end of the erythrocyte suspension (ES) storage period, and the cell survival rate should be more than 75% 24 hours after transfusion [7, 8].

However, meeting all transfusion requirements does not eliminate the risk of post-transfusion complications. In transfusion medicine, the issue of using «fresh» (up to 21 days of storage) and «old» (more than 21 days of storage) RBC suspension has been debated. In clinical practice, post-transfusion complications were shown to be more likely in transfusions of red blood cells stored for more than three weeks (i. e., «old» ones) [9–12]. Efficacy and safety of blood transfusion with RBC suspension of specific shelf life are still unclear.

The aim is to summarize the clinical and research data on efficacy of transfusion of RBC suspension with various storage times.

## Preparation and Storage of Filtered Red Blood Cells

Guidelines on blood preparation and transfusion have been evolving for years. According to cur-

вании ЭВ определенных сроков хранения остаются открытым.

Цель работы — обобщить данные клинических и научных исследований по эффективности гемотрансфузии эритроцитарной взвеси различных сроков хранения.

### **Заготовка и хранение фильтрованных эритроцитов**

Рекомендации по заготовке и трансфузии крови формировались годами. Согласно современным протоколам, эритроциты для переливания получают путем центрифугирования цельной крови с последующим удалением плазмы и лейкотромбоцитарного слоя [5, 8]. Сбор и хранение эритроцитов осуществляется в стерильных герметично упакованных контейнерах с антикоагулянтом. После разделения цельной крови на компоненты добавляются взвешивающие растворы, обеспечивающие поддержание жизнеспособности эритроцитов в условиях, отличающихся от физиологических.

Продолжительность хранения эритроцитарной взвеси зависит от типа используемого антикоагулянта и добавочного раствора [5]. В 1917 году впервые удалось сохранить донорские эритроциты сроком до пяти дней, используя раствор цитрата и глюкозы [13]. Позже в начале 40-х годов прошлого века был разработан первый эффективный антикоагулянт-консервант ACD, в состав которого входили лимонная кислота, цитрат натрия и декстроза [14]. Такой раствор позволял сохранять эритроциты для трансфузии до трех недель. В последующие годы разрабатывались и применялись новые растворы, которые позволили увеличить срок хранения до пяти недель [15, 16]. Использование раствора CPD (цитрат, фосфат, декстроза) дало возможность хранить эритроциты в течение 28 дней, а использование CPDA-1 (цитрат, фосфат, декстроза, аденин) — в течение 35 дней.

В современных центрах заготовки крови используемые добавочные растворы состоят из различных комбинаций физиологического раствора хлорида натрия, аденина, глюкозы, декстрозы, фосфата и маннита [5]. Наиболее широко применяемым добавочным раствором является SAGM, в состав которого входят физиологический раствор хлорида натрия, аденин, глюкоза и маннитол. Так эритроциты в растворе SAGM могут храниться до 42 дней при температуре от +2 до +6°C [5, 8]. Продолжается разработка новых растворов, одним из которых является PAGGSM. В его состав входят физиологический раствор хлорида натрия, аденин, глюкоза, гуанозин и маннитол, позволяющие сохранить эритроциты до 49 дней. Отмечается, что хранение в таком рас-

rent protocols, RBCs for transfusion are obtained by centrifugation of whole blood, followed by removal of plasma and the layer of leucocytes and thrombocytes [5, 8]. Erythrocytes are collected and stored in sterile tightly closed containers with added anticoagulant. After separating whole blood into components, additive solutions are added to ensure the RBC viability under conditions different from physiological ones.

The storage time of the red blood cell suspension depends on the type of anticoagulant and additive solution used [5]. In 1917, the first successful attempt to preserve donor red blood cells for up to five days using a solution of citrate and glucose was made [13]. Later, in the early 1940s the first effective anticoagulant preservative ACD was developed, which included citric acid, sodium citrate and dextrose [14]. Such solution allowed preserving red blood cells intended for transfusion for up to three weeks. In subsequent years, new solutions were developed and used, which extended the storage period up to five weeks [15, 16]. The use of CPD solution (citrate, phosphate, dextrose) allowed to store red blood cells for 28 days, and the use of CPDA-1 (citrate, phosphate, dextrose, adenine) for 35 days.

In contemporary blood collection centers, the additive solutions include various combinations of normal saline solution, adenine, glucose, dextrose, phosphate, and mannitol [5]. The most commonly used additive solution is SAGM composed of normal saline solution, adenine, glucose, and mannitol. Thus, red blood cells in SAGM solution can be stored for up to 42 days at a temperature from +2 to +6°C [5, 8]. One of the novel solutions is PAGGSM containing normal saline solution, adenine, glucose, guanosine, and mannitol, which allows to save red blood cells for up to 49 days. Storing in this solution has been found to improve the metabolic performance of RBCs [16, 17].

### **Abnormal Changes in Red Blood Cells During Storage**

As RBCs are stored in an airtight container, they inevitably undergo abnormal changes at the molecular level. Rapid development of oxidative reactions and changes in cell metabolism are the main factors of erythrocyte dysfunction. Significant biochemical and biophysical alterations occurring during storage lead to damage of erythrocyte membranes [18]. This, in turn, significantly affects the viability of stored red blood cells.

The energy supply of all processes in RBCs is known to occur as a result of anaerobic glycolysis with production of adenosine triphosphate (ATP) and 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) [19]. ATP is a powerful source of energy for many processes in erythrocytes, it actively supports the functioning of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, which maintains the RBC mem-

творе улучшает метаболические показатели эритроцитов [16, 17].

### **Патологические изменения в эритроцитах во время хранения**

По мере хранения в герметичном контейнере эритроциты неизбежно подвергаются патологическим изменениям на молекулярном уровне. Стремительное развитие окислительных реакций и изменение метаболизма клеток являются основными факторами нарушения функциональной составляющей эритроцитов. Происходящие при этом значительные биохимические и биофизические изменения приводят к повреждению мембран эритроцитов [18]. Это, в свою очередь, существенно влияет на жизнеспособность хранящихся эритроцитов.

Известно, что энергетическое обеспечение всех процессов в эритроцитах происходит в результате анаэробного гликолиза. При этом образуются аденозинтрифосфат (АТФ), 2,3-дифосфоглицерат (2,3-ДФГ) [19]. АТФ является мощным источником энергии для многих процессов в эритроцитах, активно поддерживает функционирование  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азы, которая поддерживает мембранный потенциал эритроцитов. В результате гликолиза эритроцитов образуется 2,3-дифосфоглицерат, регулирующий сродство гемоглобина к кислороду [19].

Для поддержания жизнеспособности эритроцитов в условиях длительного хранения в раствор гемоконсерванта добавляют глюкозу. В норме концентрация глюкозы не превышает 100 мг/дл, однако во взвешивающих растворах ее концентрация составляет более 500 мг/дл [20]. С одной стороны, глюкоза необходима для поддержания гликолиза, а, следовательно, для выработки достаточного количества АТФ и 2,3-ДФГ во время хранения эритроцитов. Но, с другой стороны, в процессе хранения в растворе гемоконсерванта накапливается молочная кислота. Об этом свидетельствует увеличение уровня лактата до 20 мМ к концу срока хранения [20, 21] и снижения pH (меньше 6,5). В первую неделю хранения ЭВ концентрация 2,3-дифосфоглицерата снижается от 4 мМ до 0,5 мМ, а ко второй неделе — до нуля [21]. В то же время концентрация АТФ остается на уровне 5,5 мкмоль/гHb в течение первых трех недель хранения [16, 22].

Снижение уровня АТФ (до 2 мкмоль/гHb) к шестой неделе хранения ЭВ может коснуться всех метаболических процессов, в том числе понизить антиоксидантную защиту эритроцитов и нарушить целостность мембран [16, 22]. Снижение концентрации 2,3-дифосфоглицерата может уменьшить эффективность газотранспортной функции эритроцитов [18, 23].

brane potential. As a result of erythrocyte glycolysis, 2,3-diphosphoglycerate is produced, which regulates hemoglobin affinity to oxygen [19].

Glucose is added to the blood preservation solution to maintain the viability of erythrocytes under long-term storage conditions. Normally, the concentration of glucose does not exceed 100 mg/dL, but in suspending solutions it exceeds 500 mg/dL [20]. On the one hand, glucose is necessary to maintain glycolysis and, therefore, to produce a sufficient amount of ATP and 2,3-DPG during erythrocyte storage. But, on the other hand, lactic acid accumulates in the blood preservation solution during storage. This is indicated by an increase in lactate level up to 20 mM by the end of storage [20, 21] and a decrease in pH (less than 6.5). The concentration of 2,3-diphosphoglycerate decreases from 4 mM to 0.5 mM during the first week of the RBC suspension storage, and to zero by the second week [21]. At the same time, ATP concentration remains at the level of 5.5  $\mu\text{mol/g}$  Hb during the first three weeks of storage [16, 22].

A decrease in ATP level (down to 2  $\mu\text{mol/g}$  Hb) by the sixth week of RBC suspension storage can affect all metabolic processes, i.e. reduce the antioxidant protection of erythrocytes and compromise membrane integrity [16, 22]. A decrease in 2,3-diphosphoglycerate concentration can reduce the efficiency of erythrocyte gas-transport function [18, 23]. In transfusion, 2,3-DPG levels in transfused erythrocytes return to 50% of normal after 7 hours and to almost 95% after 72 hours. ATP levels also recover reversibly to normal levels within three days after transfusion [23, 24].

Low temperature storage of RBCs and reduced metabolic processes in cells impair the functioning of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pump. Normally, the extracellular concentration of potassium is 3.8–5.4 mM, while that of sodium is 132–150 mM [19, 23]. During storage, the concentration of extracellular potassium increases 5-fold, and the one of sodium decreases by 10 mM [25]. Increased potassium in the blood preservation solution may cause hyperkalemia after a massive blood transfusion [26].

Activation of oxidation, particularly that of iron in hemoglobin, is another pathological effect. Under normal conditions, iron in the hemoglobin molecule exists in the  $\text{Fe}^{2+}$  form. During oxidation,  $\text{Fe}^{2+}$  converts into  $\text{Fe}^{3+}$ , and methemoglobin is formed, which is unable to carry oxygen [27]. Glutathione peroxidase protects erythrocytes from oxidative damage, with the reduction of methemoglobin into oxyhemoglobin.  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  supplies  $\text{H}^+$  to regenerate reduced glutathione from glutathione disulfide via glutathione reductase [19]. However, in prolonged storage there is depletion of NADH and, consequently, decreased production of reduced glutathione [23]. This leads to increased formation of methemoglobin and superoxide anion. Methemo-

При трансфузии уровень 2,3-ДФГ в перелитых эритроцитах возвращается к 50% от нормы через 7 часов и почти к 95% через 72 часа. Уровень АТФ также в течение трех дней после переливания обратимо восстанавливается до нормального значения [23, 24].

Гипотермическое хранение эритроцитов, а также снижение метаболических процессов в клетках нарушает функционирование натрий-калиевого насоса. В норме концентрация внеклеточного калия составляет 3,8–5,4 мМ, а натрия 132–150 мМ [19, 23]. Во время хранения концентрация внеклеточного калия возрастает в 5 раз, а концентрация натрия уменьшается на 10 мМ [25]. Увеличение калия в растворе гемоконсерванта может быть причиной гиперкалиемии после массивной гемотрансфузии [26].

Другим патологическим эффектом является активация окислительных процессов, в частности, окисление железа в гемоглобине. В нормальных условиях железо в молекуле гемоглобина находится в форме  $Fe^{2+}$ . В процессе окисления  $Fe^{2+}$  трансформируется в форму  $Fe^{3+}$ , при этом образуется метгемоглобин, который не способен переносить кислород [27]. Глутатионпероксидаза защищает эритроциты от окислительного повреждения, при этом происходит восстановление метгемоглобина в оксигемоглобин. НАДФН+ $H^+$  поставляет  $H^+$  для регенерации восстановленного глутатиона из глутатиондисульфида с помощью глутатионредуктазы [19]. Но в условиях длительного хранения происходит истощение НАДФН, а, следовательно, снижается выработка восстановленного глутатиона [23]. Это приводит к увеличению образования метгемоглобина и супероксид-аниона. Известно, что метгемоглобин нестабилен и денатурирует в глобин и гемин (окисленный гем) [28, 29].

Немаловажным является то, что в процессе окисления кислород, покидающий молекулу гемоглобина, несет с собой электрон, образуя активные формы кислорода и опасные гидроксильные радикалы, которые способны вызвать перекисное окисление липидов и повреждение белков мембраны эритроцита [27, 30]. В норме скорость окисления низкая, и срабатывает собственная антиоксидантная система эритроцитов, защищающая клетки [30]. Однако во время хранения в герметичном контейнере защитные механизмы нарушаются. Это приводит к увлечению спонтанного окисления молекулы гемоглобина до метгемоглобина, а также увеличению скорости реакции окисления во время хранения.

Механические свойства мембран и их структурная организация определяют функциональное состояние клеток. Метаболические изменения и развитие окислительных процессов в условиях длительного хранения эритро-

globin is known to be unstable and denature into globin and hemin (oxidized heme) [28, 29].

Importantly, during oxidation, oxygen leaving the hemoglobin molecule carries an electron, forming reactive oxygen species and dangerous hydroxyl radicals, which can cause lipid peroxidation and damage to the red blood cell membrane proteins [27, 30]. Normally, the oxidation rate is low, and the erythrocytes' own antioxidant system, which protects the cells, is triggered [30]. However, during storage in an airtight container, the protective mechanisms are disrupted. This leads to the increased spontaneous oxidation of the hemoglobin molecule to methemoglobin, as well as an accelerated oxidation rate during storage.

Mechanical properties of membranes and their structural organization determine the functional state of cells. Metabolic changes and oxidative processes during prolonged storage of erythrocytes in an airtight container at  $4\pm 2^\circ C$  have a damaging effect on erythrocyte membranes [16, 23].

The RBC membrane is a complex structure based on a lipid bilayer, peripheral and integral proteins, and carbohydrates. Lipids play an important role in ensuring the integrity of erythrocyte membranes and their selective permeability to various particles and ions. One of the important components of the lipid bilayer is phosphatidylserine, which appears on the external side of the membrane during erythrocyte aging [23]. Phosphatidylserine on the cell surface represents a biomarker of cell aging that triggers dying cell clearance by macrophages [31, 32]. A large part of the RBC membrane surface consists of proteins, which play a key role in various cellular processes. Spectrin and actin proteins form the basis of the inner layer of the membrane, the membrane cytoskeleton. Spectrin binds to actin microfilaments and lipids of the inner membrane surface to form the erythrocyte skeleton, the spectrin matrix. The spectrin matrix is a pseudo-hexagonal network formed by two  $\alpha$ - and  $\beta$ -helices linked into tetramers [33]. Binding of the spectrin cytoskeleton to the membrane is mediated by ankyrin and protein 4.1R via band 3 protein [33, 34]. The spectrin matrix is important for the mobility of proteins and the integrity of RBC membranes.

Lipid peroxidation processes could underlie the reorganization of protein structures, pore formation in the lipid bilayer, increased concentration of malondialdehyde, and increased vesiculation during storage [23, 24, 35]. The spectrin matrix is also susceptible to the damaging effect of radicals. As a result, the spectrin-actin-4.1R complex and the bond between the spectrin and the band 3 protein can be disrupted. The weakened bond between the lipid bilayer and the spectrin matrix reduces the stability of the membrane cytoskeleton, alters the shape of cells and the nanostructure of their membranes [34, 36].

цитов в герметичном контейнере при температуре  $4\pm 2^\circ\text{C}$  оказывают повреждающее действие на мембраны эритроцитов [16, 23].

Мембрана эритроцита представляет собой сложную структуру, основу которой составляют липидный бислой, периферические и интегральные белки и углеводы. Липиды играют важную роль в обеспечении постоянства структуры мембран эритроцитов, а также в избирательной проницаемости для различных частиц и ионов. Одним из важных компонентов липидного бислоя является фосфатидилсерин, который при старении эритроцитов появляется на наружной стороне мембраны [23]. Это может являться индикатором старения и удаления клетки макрофагами [31, 32]. Большую часть поверхности мембраны эритроцитов составляют белки, играющие ключевую роль во многих процессах жизнедеятельности клетки. Основу внутреннего слоя мембраны, так называемый мембранный цитоскелет, составляют белки спектрина и актина. Спектрин, связываясь с микрофиламентами актина и липидами внутренней поверхности мембраны, формирует скелет эритроцита – спектриновый матрикс. Спектриновый матрикс представляет собой псевдогексагональную сеть, которую образуют две  $\alpha$  и  $\beta$  спирали, связанные в тетрамеры [33]. Связывание спектринового цитоскелета с мембраной осуществляется с помощью анкирина и белка 4.1R через белок полосы 3 [33, 34]. Состояние спектринового матрикса играет важную роль в подвижности белков и целостности структуры мембран эритроцитов.

Процессы перекисного окисления липидов могут быть основным механизмом реорганизации белковых структур, образования пор в липидном бислое, повышения концентрации малонового диальдегида, увеличения процесса везикуляции во время хранения [23, 24, 35]. Спектриновый матрикс также подвержен повреждающему воздействию радикалов. В результате может произойти нарушение комплекса спектрин — актин — 4.1R и связи между спектрином и белком полосы 3. Ослабление связи между липидным бислоем и спектриновым матриксом влияет на уменьшение стабильности мембранного цитоскелета, изменение формы клеток и наноструктуры их мембран [34, 36]. Кроме того, вследствие денатурации гемоглобина может произойти кластеризация белков полосы 3. Фактически, кластеры белков полосы 3 появляются на мембране во время старения как *in vivo*, так и *in vitro* и являются сигналом для «удаления» клетки посредством притока IgG на клетки [38–40]. Сложные необратимые мембранные изменения приводят к трансформации дискоцитов в плохо деформируемые сфероэритроциты с повышенной адгези-

В addition, the denaturation of hemoglobin results in clustering of band 3 proteins. In fact, clusters of band 3 proteins appear on the membrane during aging both *in vivo* and *in vitro* and can trigger cell «elimination» through influx of IgG on cells [38–40]. Complex irreversible membrane changes lead to the transformation of normally shaped RBCs into poorly deformable spherocytes and burr cells with increased adhesion to the endothelium [41] and susceptibility to phagocytosis [42].

### Clinical Research

In clinical practice, blood transfusion is performed to restore the gas-transport function of red blood cells. Storage time and quality of the donor RBC suspension can significantly affect the frequency of post-transfusion complications. It is clear that «young» RBCs function better than «old» RBCs, since the storage is associated with severe damage to red blood cells due to oxidative processes.

Various animal models (e.g., mice, guinea pigs, dogs, sheep) have been used to study the molecular disorders of red blood cells and the causes of complications in relation to storage times [42–49]. Studies in rats have shown that transfusion of red blood cells stored for more than 21 days («old») impaired tissue oxygenation, while transfusion of RBCs stored for only 3 days increased oxygen delivery to tissues [46, 47]. In a study of stored murine erythrocytes, a decrease in the proportion of surviving cells depending on storage time was found [48]. Thus, the mean 24-hour survival rates of transfused erythrocytes were 99%, 91%, 64%, 54%, 30%, and 18% after 0, 7, 14, 21, 28, and 35 days of storage, respectively. Dong Wang et al. demonstrated that transfusion of «old» RBCs to dogs increased lung damage and mortality [49]. The authors suggest that this was due to increased hemolysis *in vivo* and elevated free hemoglobin levels. Nevertheless, observations on animal models provide more insight into abnormalities developing during storage of erythrocytes but cannot be fully extrapolated to humans.

Diverse complications and reactions after blood transfusion of «old» RBCs have been reported in clinical studies. The first thing that can be affected by the transfusion of «old» RBCs is tissue oxygenation. In a study of blood transfusion of RBCs stored for more than 15 days, Marik et al. observed a reduction in gastric pH in 23 patients with sepsis [50]. The authors suggested that transfusion of «old» RBCs with reduced deformability can cause severe adverse consequences associated with microcirculatory disorders and subsequent tissue ischemia. A study by Kiraly et al. showed that patients transfused with RBCs stored for more than 21 days had reduced tissue oxygenation [51].

ей к эндотелию [41] и повышенной восприимчивостью к фагоцитам [42].

### Клинические исследования

В клинической практике гемотрансфузия проводится с целью восстановления газотранспортной функции эритроцитов. При этом следует отметить, что срок хранения и качество донорской эритроцитарной взвеси оказывают существенное влияние на возникновение посттрансфузионных осложнений. Понятно, что «молодые» эритроциты могут функционировать лучше, чем «старые» эритроциты, поскольку процесс хранения связан со серьезными нарушениями эритроцитов из-за окислительных процессов.

Одним из методов изучения молекулярных нарушений эритроцитов и причин возникновения осложнений в зависимости от сроков хранения являются различные модели на животных (например, мыши, морские свинки, собаки, овцы) [42–49]. Исследования на крысах показали, что переливание эритроцитов, хранившихся более 21 дня («старых»), ухудшает оксигенацию тканей, тогда как переливание эритроцитов, хранившихся только 3 дня, увеличивало доставку кислорода в ткани [46, 47]. При исследовании хранившихся мышечных эритроцитов было установлено снижение доли выживших клеток в зависимости от времени хранения [48]. Так, средняя 24-часовая выживаемость перелитых эритроцитов составила 99, 91, 64, 54, 30 и 18% после 0, 7, 14, 21, 28 и 35 дней хранения, соответственно. Dong Wang и соавт. продемонстрировали, что переливание более старых эритроцитов собакам увеличило повреждение легких и летальность [49]. Авторы предполагают, что это было связано с увеличением гемолиза *in vivo* и увеличением уровня свободного гемоглобина. Тем не менее, наблюдения на животных моделях не могут полностью быть экстраполированы на человека и служат для установления новых знаний о патологических процессах, возникающих при хранении эритроцитов.

Описываемые в клинических исследованиях осложнения и реакции после гемотрансфузии «старых» эритроцитов разнообразны. Первое, на что может оказать влияние переливание «старых» эритроцитов — оксигенацию тканей. В исследовании гемотрансфузии эритроцитов, хранившихся более 15 дней, у 23 пациентов с сепсисом Marik и соавт. наблюдали снижение pH в желудке [50]. Авторы предположили, что переливание «старых» эритроцитов со сниженной их деформируемостью может вызвать тяжелые патологические последствия, связанные с нарушениями микроциркуляции, что, в свою оче-

Several studies have found an association between transfusion of relatively «old» RBCs and clinical outcomes in trauma patients. Zallen et al. studied 63 trauma patients, 23 of whom developed multiple organ failure [52]. These patients were transfused from 6 to 20 RBC units older than 14 and 21 days of storage in the first 12 hours after the trauma. The authors concluded that the storage time of transfused RBCs is an independent risk factor for the development of multiple organ failure. Weinberg et al. noted that trauma patients who received transfusions of «old» RBCs (more than 14 days of storage) had acute renal dysfunction within 24 hours of admission [53]. In another retrospective analysis of 202 patients, transfusion of RBCs stored for more than 28 days resulted in deep vein thrombosis and death from multiple organ failure [54]. A study of 678 patients with severe trauma requiring massive blood transfusions showed that transfusion of RBCs (older than 22 days of storage) resulted in death within 24 hours [12]. It was noted that the number of transfused red blood cell units was more than 10, therefore not only the age of transfused erythrocyte suspension, but also its volume should be considered. Other authors suggest to take into account the age of each RBC unit and the number of transfused units [55], as they also noted mortality rates after massive blood transfusion using «old» red blood cells. Some studies have reported in-hospital mortality, impaired lung, heart and kidney function after transfusion of RBCs in patients with cardiovascular disease or post cardiac surgery [56–59].

Another randomized study evaluated pulmonary artery pressure and pulmonary vascular resistance index in relation to the age of RBCs used for transfusion [60]. As a result, both pulmonary artery pressure and pulmonary vascular resistance index were higher when transfusing erythrocytes stored for 21 days than when using «young» erythrocytes (less than 14 days). The researchers also reported that damage to the glycocalyx may contribute to pulmonary vasoconstriction associated with transfusion of stored red blood cells.

In patients with such diseases as sickle cell anemia, thalassemia, myelodysplasia or aplastic anemia, blood transfusion is the mainstay of treatment, aiming not only to increase the oxygen-carrying capacity of the blood but also to reduce the complications of vasoconstriction. However, RBC transfusion itself can cause acute and chronic complications, including iron overload, hypercoagulation or delayed alloimmunization [61, 62]. Transfusion of «young» RBCs has been shown to be more effective in patients with sickle cell anemia [63, 64].

Blood transfusion in patients with sepsis was accompanied by the nosocomial infections, acute lung and kidney injury [65, 66]. Studies [67, 68] have shown that increased concentrations of non-transferrin bound iron after blood transfusion increased

редь, может привести к ишемии тканей. Исследование Kiraly и соавт. показало, что у пациентов, которым переливали эритроциты, хранившиеся более 21 дня, снижалось насыщение тканей кислородом [51].

В ряде работ установлена связь между переливанием относительно более «старых» эритроцитов и клиническими исходами у пациентов с травмами. Zallen и соавт. исследовали 63 пациента с травмами, у 23 из которых возникла полиорганная недостаточность [52]. Этим пациентам переливали от 6 до 20 единиц эритроцитов возрастом старше 14 и 21 дней хранения в первые 12 часов после травмы. Авторы констатировали, что срок хранения переливаемых эритроцитов является независимым фактором риска развития полиорганной недостаточности. В работе Weinberg и соавт. отмечено, что у пациентов с травмой, перенесших переливание «старых» эритроцитов (более 14 дней хранения), в течение 24 часов после прибытия в больницу появлялась острая почечная дисфункция [53]. В другом ретроспективном анализе 202 пациентов при трансфузии эритроцитов больше 28 дня хранения наблюдался тромбоз глубоких вен и наступила смерть от полиорганной недостаточности [54]. Исследование 678 пациентов с тяжелой травмой, которым требовалось массивное переливание крови, показало, что переливание эритроцитов (старше 22 дней хранения) приводило к смерти в течение 24 часов [12]. При этом отмечалось, что количество перелитых единиц эритроцитов было больше 10, поэтому следует учитывать не только возраст переливаемой ЭВ, но также ее объем. Другие авторы при трансфузии предлагают учитывать возраст каждой единицы эритроцитов и количество перелитых единиц [55], поскольку они также отмечают высокий уровень смерти пациентов после массивной геотрансфузии с использованием «старых» эритроцитов. В ряде исследований сообщалось о внутрибольничной летальности, нарушении функции легких, сердца и почек после переливания эритроцитов пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями или перенесших операции на сердце [56–59].

Другое рандомизированное исследование было направлено на оценку давления в легочной артерии и индекс сопротивления легочных сосудов в зависимости от срока используемых эритроцитов для трансфузии [60]. В результате как давление в легочной артерии, так и индекс сопротивления легочных сосудов становились больше при переливании эритроцитов, хранившихся в течение 21 дня, чем при использовании «молодых» эритроцитов (менее 14 дней). При этом оценивалось состояние гликокаликса.

proliferation of certain bacterial species *in vitro*. Consequently, circulating non-transferrin bound iron from the transfusion of «old» RBCs may increase the risk of infections. Another study pointed out vascular constriction in patients with sepsis suggesting that poorly deformable RBCs entering the microcirculation could cause tissue hypoxia and patient's deterioration [69, 70].

During open-heart blood transfusion in children, the incidence of postoperative infection was significantly higher in those who received «old» blood (25–38 days) compared with children who received «young» RBCs (7–15 days) [71, 72]. Transfusion of RBCs stored for more than four weeks significantly increased the concentration of free hemoglobin, serum iron, and non-transferrin bound iron [73].

### Clinical Consequences of RBC Molecular Structure Disorders

Most molecular changes that occur in erythrocytes during their storage are well known and include metabolic alterations accompanied by reduced ATP and 2,3-diphosphoglycerate concentrations, decreased pH, impaired membrane ion permeability, formation of pores in the lipid bilayer, vesiculation, and abnormal erythrocyte morphology [18, 24].

Earlier we have shown [74, 75] that the nanosurface parameters of erythrocyte membranes can be used as a criterion for evaluating the quality of donor blood for transfusion. Local defects in erythrocyte membranes resulting from storage were found to alter cell morphology. Particularly severe membrane nanosurface changes were observed after 19 days of storage. The detected nanosurface abnormalities provided the basis for the idea [74] to study the spectrin matrix alterations during RBC suspension storage.

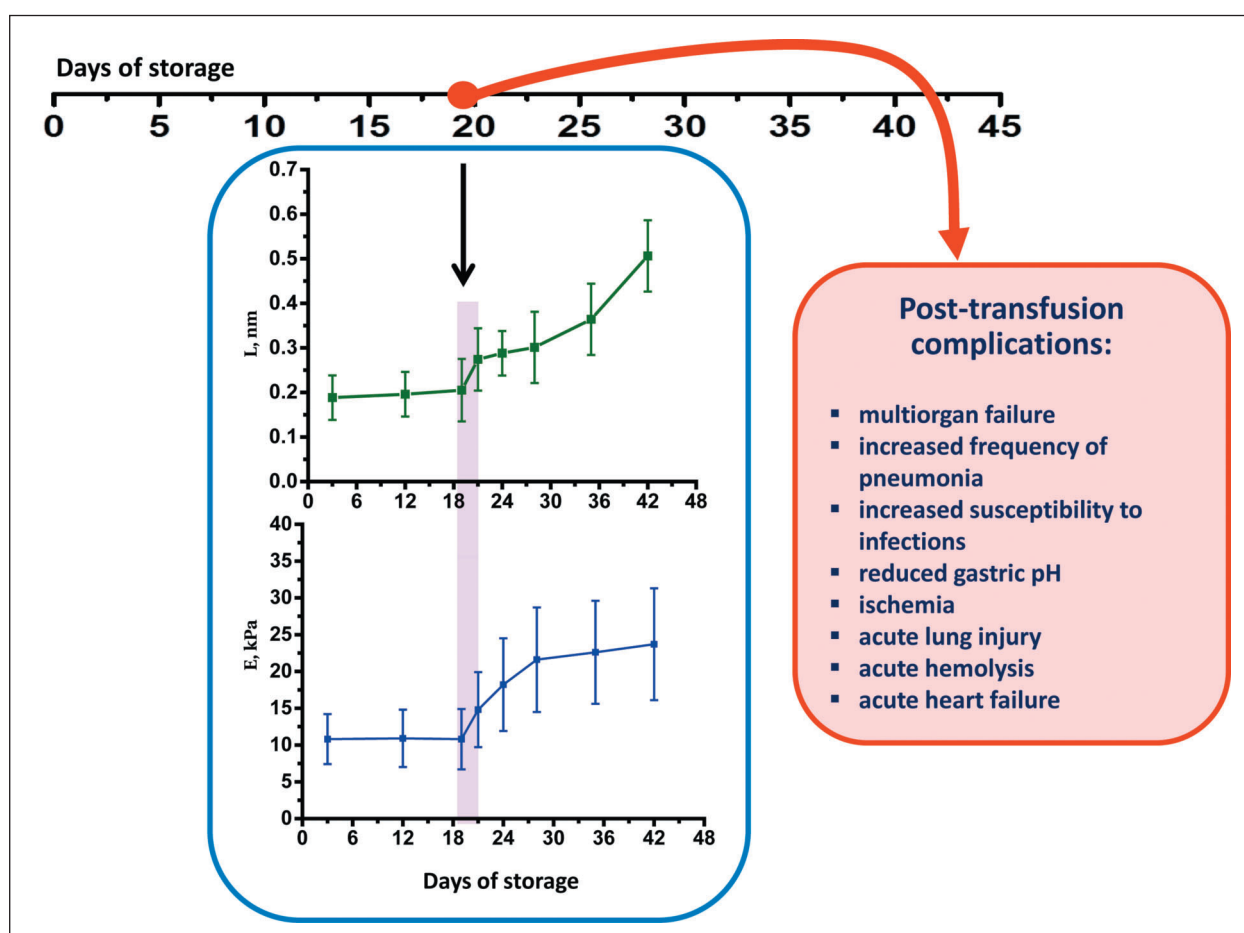
During the storage of the erythrocyte suspension for 42 days, the conformation of the spectrin matrix changes [76]. By the end of the storage period the pore size of the spectrin matrix increased more than twofold. At the same time the pore size of the spectrin matrix was observed to sharply increase after 19–21 days.

A study [76] has already noted a transition period (20–26 days), in which the authors observed a 1.6-2-fold increase in the Young's modulus of membranes and irreversible morphological changes. Exactly in this period, the separation of red blood cells into «young» and «old» ones has been shown in clinical studies.

Figure shows the storage period when the structural changes in spectrin and Young's modulus were observed, highlights the timing of post-transfusion complications in the clinic and lists the complications that occurred in patients.

The duration of blood storage period, after which post-transfusion complications in the clini-





Ассоциация структурных изменений размера (L) спектринового матрикса и механических свойств (E) мембран эритроцитов, появившихся после 19–21-го дня хранения, с посттрансфузионными осложнениями, возникающими в этот период.

Association of structural changes in size (L) of spectrin matrix and mechanical properties (E) of RBC membranes which developed after 19–21 days of storage, and post-transfusion complications during this period.

**Примечание.** nm — нм; kPa — кПа; days of storage — дни хранения; post-transfusion complications — посттрансфузионные осложнения; multiorgan failure — полиорганная недостаточность; increased frequency of pneumonia — увеличение частоты пневмонии; increased susceptibility to infections — повышенная восприимчивость к инфекциям; reduced gastric pH — снижение желудочного pH; ischemia — ишемия; acute lung injury — острое повреждение легких; acute hemolysis — острый гемолиз; acute heart failure — острая сердечная недостаточность.

Повреждение гликокаликса может способствовать легочной вазоконстрикции, связанной с гемотрансфузией хранящихся эритроцитов.

У пациентов с такими заболеваниями как серповидноклеточная анемия, талассемия, миелодисплазия или апластическая анемия переливание крови является основой лечения, направленного не только на увеличение способности крови переносить кислород, но и на уменьшение осложнений вазоокклюзии. Однако само переливание эритроцитов может вызвать острые и хронические осложнения, включая перегрузку организма железом, гиперкоагуляцию или развитие аллоиммунизации с течением времени [61, 62]. Отмечается, что переливание «молодых» эритроцитов может быть более эффективным для пациентов с серповидноклеточной анемией [63, 64].

cal setting and changes in biomechanical properties of erythrocyte membranes increase, can be used as a biomarker of intensive pathological processes in donor blood during its storage.

## Conclusion

Blood transfusion is one of the most common procedures in critically ill patients. However, available scientific evidence shows that during long-term storage RBCs undergo significant structural and metabolic alterations, which can eventually lead to their functional impairment. The use of relatively «old» RBCs in the clinic increases the risk of post-transfusion complications. Although there are obvious differences between the «young» and «old» blood, the pathophysiological distinctions remain unclear. Large clinical and scientific molecular research may throw light on these issues.

Гемотрансфузия пациентам с сепсисом сопровождалась возникновением внутрибольничной инфекции, острого повреждения легких и почек [65, 66]. В исследованиях [67, 68] было показано, что повышенные концентрации не связанного с трансферрином железа после гемотрансфузии усиливало пролиферацию некоторых видов бактерий *in vitro*. Следовательно, циркулирующее не связанное с трансферрином железо, полученное в результате переливания «старых» эритроцитов, может усиливать риск возникновения инфекций. В другом исследовании отмечено, что у пациентов с сепсисом сужены сосуды, а значит плохо деформирующиеся эритроциты, попавшие в микроциркуляторное русло, приведут к гипоксии тканей и ухудшат состояние пациентов [69, 70].

При проведении трансфузии на открытом сердце у детей частота послеоперационной инфекции была значительно выше у тех, кто получил «старую» кровь (25–38 дней), по сравнению с детьми, получающими «молодые» эритроциты (7–15 дней) [71, 72]. Переливание эритроцитов, хранившихся в течение более четырех недель, значительно увеличило концентрацию свободного гемоглобина, сывороточного железа и не связанного с трансферрином железа [73].

### Клинические последствия нарушений молекулярной структуры эритроцитов

С молекулярной точки зрения большинство изменений, происходящих в эритроцитах при их хранении, хорошо известны и включают изменения метаболических процессов, сопровождающихся уменьшением концентрации АТФ и 2,3-дифосфоглицерата, снижением уровня рН, нарушением ионной проницаемости мембран, образованием пор в липидном бислое, возникновением везикуляции, изменением морфологии эритроцитов [18, 24].

Ранее в наших работах [74, 75] было показано, что параметры наноповерхности мембран эритроцитов могут быть использованы как критерий оценки качества донорской крови для трансфузии. Были отмечено, что возникавшие в процессе хранения локальные дефекты мембран эритроцитов приводили к изменению морфологии клеток. Особенно интенсивное развитие изменений наноповерхности мембран наблюдалось после 19 дней хранения.

Зафиксированные изменения наноповерхности были положены в основу идеи [74] изучения динамики изменения спектринового матрикса при хранении ЭВ.

Во время хранения эритроцитарной взвеси на протяжении 42 дней происходит изменение конформации спектринового матрикса [76]. К концу срока хранения размеры пор спектринового матрикса возрастали более чем в 2 раза. В то же время было замечено, что после 19–21-го дня размер пор спектринового матрикса начинал резко увеличиваться.

В работе [76] уже отмечалось, что существует переходный период (20–26 дни), в котором авторы наблюдали увеличение модуля Юнга мембран в 1,6–2 раза и переход клеток в необратимые формы. Именно в эти сроки в клинических исследованиях показано разделение эритроцитов на «молодые» и «старые».

На рисунке показан период хранения, в который наблюдались структурные изменения спектрин и модуля Юнга, а также отмечен период возникновения посттрансфузионных осложнений в клинике и перечислены возникающие осложнения у пациентов.

Численное совпадение периода хранения крови, после которого усиливаются посттрансфузионные осложнения в клинике и изменения биомеханических свойств мембран эритроцитов, может использоваться как биомаркер интенсивного развития патологических процессов в донорской крови при ее хранении.

### Заключение

Гемотрансфузия является одной из самых распространенных процедур у пациентов, находящихся в критическом состоянии. Однако имеющиеся научные данные показывают, что во время длительного хранения эритроциты подвергаются значительным структурным и метаболическим изменениям, которые в итоге могут привести к нарушению их функциональных свойств. Использование в клинике относительно «старых» эритроцитов увеличивает риск возникновения посттрансфузионных осложнений. Ответ на вопрос о том, есть ли разница между «молодой» и «старой» кровью, кажется однозначным «да», однако остается неясно, в чем состоят патофизиологические отличия. Проведение больших клинических и научных исследований на молекулярном уровне в совокупности могут найти ответы на эти вопросы.

#### Литература

1. Jiao C., Zheng L. Blood transfusion-related immunomodulation in patients with major obstetric haemorrhage. *Vox Sang.* 2019; 114 (8): 861–868. PMID: 31587289. DOI: 10.1111/vox.12845.
2. Culp-Hill R., Srinivasan A.J., Gehrke S., Kamyszek R., Ansari A., Shah N., Welsby I., D'Alessandro A. Effects of red blood cell (RBC) transfusion on sickle cell disease recipient plasma and RBC metabolism.

#### References

1. Jiao C., Zheng L. Blood transfusion-related immunomodulation in patients with major obstetric haemorrhage. *Vox Sang.* 2019; 114 (8): 861–868. PMID: 31587289. DOI: 10.1111/vox.12845.
2. Culp-Hill R., Srinivasan A.J., Gehrke S., Kamyszek R., Ansari A., Shah N., Welsby I., D'Alessandro A. Effects of red blood cell (RBC) transfusion on sickle cell disease recipient plasma and RBC metabolism.

- Transfusion*. 2018; 58 (12): 2797–2806. PMID: 30265764. DOI: 10.1111/trf.14931.
3. Hood A.M., King A.A., Fields M.E., Ford A.L., Williams K.P., Hulbert M.L., Lee J.M., White D.A. Higher executive abilities following a blood transfusion in children and young adults with sickle cell disease. *Pediatr. Blood Cancer*. 2019; 66 (10): e27899. PMID: 31267645. DOI: 10.1002/psc.27899.
  4. Thurn L., Wikman A., Westgren M., Lindqvist P.G. Massive blood transfusion in relation to delivery: incidence, trends and risk factors: a population-based cohort study. *BJOG*. 2019; 126 (13): 1577–1586. PMID: 31483935. DOI: 10.1111/1471-0528.15927.
  5. Аксельрод Б.А., Балашова Е.Н., Баутин А.Е., Баховадинов Б.Б., Бирюкова Л.С., Буланов А.Ю., Быстрых О.А., Виноградова М.А., Галстян Г.М., Гапонова Т.В., Головкина Л.Л., Гороховский В.С., Еременко А.А., Жибурт Е.Б., Журавель С.В., Кохно А.В., Кузьмина Л.А., Кулабухов В.В., Купряшов А.А., Лубнин А.Ю., Мазурок В.А., Меньшугин И.Н., Минева Н.В., Михайлова Е.А., Никитин Е.А., Оловникова Н.И., Ошоров А.В., Певцов Д.Э., Попцов В.Н., Рогачевский О.В., Салимов Э.Л., Титков К.В., Трахтман П.Е., Троцкая В.В., Федорова Т.А., Фидарова З.Т., Цветаева Н.В., Чжао А.В., Шестаков Е.Ф. Клиническое использование эритроцитосодержащих компонентов донорской крови. *Гематология и трансфузиология*. 2018; 63 (4): 372–435. DOI: 10.25837/HAT.2019.62.39.006.
  6. Wardrop K.J., Owen T.J., Meyers K.M. Evaluation of an additive solution for preservation of canine red blood cells. *J. Vet. Intern. Med.* 1994; 8 (4): 253–257. PMID: 7983619. DOI: 10.1111/j.1939-1676.1994.tb03228.x.
  7. Dumont L.J., AuBuchon J.P. Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Evaluation of proposed FDA criteria for the evaluation of radiolabeled red cell recovery trials. *Transfusion*. 2008; 48 (6): 1053–1060. PMID: 18298603. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.01642.x.
  8. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care of the Council of Europe). *Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components*. 2017.
  9. Lacroix J., Hébert P.C., Fergusson D.A., Timmouth A., Cook D.J., Marshall J.C., Clayton L., McIntyre L., Callum J., Turgeon A.F., Blajchman M.A., Walsh T.S., Stanworth S.J., Campbell H., Capellier G., Tiberghien P., Bardiaux L., van de Watering L., van der Meer N.J., Sabri E., Vo D.; ABLE Investigators; Canadian Critical Care Trials Group. Age of transfused blood in critically ill adults. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (15): 1410–1418. PMID: 25853745. DOI: 10.1056/NEJMoa1500704.
  10. Garraud O. Effect of «old» versus «fresh» transfused red blood cells on patients' outcome: probably more complex than appears. *J. Thorac. Dis.* 2017; 9 (2): E146–E148. PMID: 28275500. DOI: 10.21037/jtd.2017.02.03.
  11. García-Roa M., Del Carmen Vicente-Ayuso M., Bobes A.M., Pedraza A.C., González-Fernández A., Martín M.P., Sáez I., Seghatchian J., Gutiérrez L. Red blood cell storage time and transfusion: current practice, concerns and future perspectives. *Blood Transfus.* 2017; 15 (3): 222–231. PMID: 28518049. DOI: 10.2450/2017.0345-16.
  12. Jones A.R., Patel R.P., Marques M.B., Donnelly J.P., Griffin R.L., Pittet J.F., Kerby J.D., Stephens S.W., DeSantis S.M., Hess J.R., Wang H.E. PROPPR Study Group. Older blood is associated with increased mortality and adverse events in massively transfused trauma patients: secondary analysis of the PROPPR Trial. *Ann. Emerg. Med.* 2019; 73 (6): 650–661. PMID: 30447946. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2018.09.033.
  13. Hess J.R. An update on solutions for red cell storage. *Vox Sang.* 2006; 91: 13–19. PMID: 16756596. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2006.00778.x.
  14. García-Roa M., Del Carmen Vicente-Ayuso M., Bobes A.M., Pedraza A.C., González-Fernández A., Martín M.P., Sáez I., Seghatchian J., Gutiérrez L. Red blood cell storage time and transfusion: current practice, concerns and future perspectives. *Blood Transfus.* 2017; 15 (3): 222–231. PMID: 28518049. DOI: 10.2450/2017.0345-16.
  15. Cancelas J.A., Dumont L.J., Maes L.A., Rugg N., Herschel L., Whitley P.H., Z.M. Szczepiowski, A.H. Siegel, J.R. Hess, M. Zia. Additive solution-7 reduces the red blood cell cold storage lesion. *Transfusion*. 2015; 55 (3): 491–498. PMID: 25233911. DOI: 10.1111/trf.12867.
  16. D'Alessandro A., Reisz J.A., Culp-Hill R., Korsten H., van Bruggen R., de Korte D. Metabolic effect of alkaline additives and guanosine/glucosinate in storage solutions for red blood cells. *Transfusion*. 2018; 58 (8): 1992–2002. PMID: 29624679. DOI: 10.1111/trf.14620.
  17. Lagerberg J. W., Korsten H., Van Der Meer P.F., De Korte D. Prevention of red cell storage lesion: a comparison of five different additive solutions. *Blood Transfus.* 2017. 15 (5): 456–462. PMID: 28488968. DOI: 10.2450/2017.0371-16.
  18. Hoehn R.S., Jernigan P.L., Chang A.L., Edwards M.J., Pritts T.A. Molecular mechanisms of erythrocyte aging. *Biol. Chem.* 2015; 396 (6–7): 621–631. PMID: 25803075. DOI: 10.1515/hsz-2014-0292.
  19. Северин Е.С. Биохимия: учебник. М.: ГЭОТАР-МЕД; 2015: 768. ISBN 978-5-9704-2029-4.
  20. Wongsari M.H., Rachmawati M., Mansyur A. Glucose level analysis on stored packed red cells. *Indonesian journal of clinical pathology and medical laboratory*. 2018. 24 (2): 117–121. DOI: 10.24293.ijcpml.v24i2.1308.
  21. Xiong Y., Xiong Y., Wang Y., Wang Z., Zhang A., Zhao N., Zhao D., Yu Z., Wang Z., Yi J., Luan X. Inhibition of Glutathione Synthesis via Decreased Glucose Metabolism in Stored RBCs. *Cell Physiol. Biochem.* 2018; 51 (5): 2172–2184. PMID: 30537727. DOI: 10.1159/000495864.
  3. Hood A.M., King A.A., Fields M.E., Ford A.L., Williams K.P., Hulbert M.L., Lee J.M., White D.A. Higher executive abilities following a blood transfusion in children and young adults with sickle cell disease. *Pediatr. Blood Cancer*. 2019; 66 (10): e27899. PMID: 31267645. DOI: 10.1002/psc.27899.
  4. Thurn L., Wikman A., Westgren M., Lindqvist P.G. Massive blood transfusion in relation to delivery: incidence, trends and risk factors: a population-based cohort study. *BJOG*. 2019; 126 (13): 1577–1586. PMID: 31483935. DOI: 10.1111/1471-0528.15927.
  5. Akselrod B.A., Balashova E.N., Bautin A.E., Bakhovadinov B.B., Biryukova L.S., Bulanov A.Y., Bystrykh O.A., Vinogradova M.A., Galstyan G.M., Gaponova T.V., Golovkina L.L., Gorokhovskiy V.S., Eremenko A.A., Zhiburt E.B., Zhuravel S.V., Kokhno A.V., Kuzmina L.A., Kulabukhov V.V., Kupryashov A.A., Lubnin A.Y., Mazurok V.A., Menshugin I.N., Mineeva N.V., Mihailova E.A., Nikitin E.A., Olovnikova N.I., Oshorov A.V., Pevtsov D.E., Poptsov V.N., Rogachevskiy O.V., Salimov E.L., Titkov K.V., Trakhtman P.E., Troitskaya V.V., Fedorova T.A., Fidarova Z.T., Tsvetaeva N.V., Chzhao A.V., Shestakov E.F. Clinical guidelines for red blood cell transfusion. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2018; 63 (4): 372–435. [In Russ.] DOI: 10.25837/HAT.2019.62.39.006.
  6. Wardrop K.J., Owen T.J., Meyers K.M. Evaluation of an additive solution for preservation of canine red blood cells. *J. Vet. Intern. Med.* 1994; 8 (4): 253–257. PMID: 7983619. DOI: 10.1111/j.1939-1676.1994.tb03228.x.
  7. Dumont L.J., AuBuchon J.P. Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Evaluation of proposed FDA criteria for the evaluation of radiolabeled red cell recovery trials. *Transfusion*. 2008; 48 (6): 1053–1060. PMID: 18298603. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.01642.x.
  8. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines & Health Care of the Council of Europe). *Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components*. 2017.
  9. Lacroix J., Hébert P.C., Fergusson D.A., Timmouth A., Cook D.J., Marshall J.C., Clayton L., McIntyre L., Callum J., Turgeon A.F., Blajchman M.A., Walsh T.S., Stanworth S.J., Campbell H., Capellier G., Tiberghien P., Bardiaux L., van de Watering L., van der Meer N.J., Sabri E., Vo D.; ABLE Investigators; Canadian Critical Care Trials Group. Age of transfused blood in critically ill adults. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (15): 1410–1418. PMID: 25853745. DOI: 10.1056/NEJMoa1500704.
  10. Garraud O. Effect of «old» versus «fresh» transfused red blood cells on patients' outcome: probably more complex than appears. *J. Thorac. Dis.* 2017; 9 (2): E146–E148. PMID: 28275500. DOI: 10.21037/jtd.2017.02.03.
  11. García-Roa M., Del Carmen Vicente-Ayuso M., Bobes A.M., Pedraza A.C., González-Fernández A., Martín M.P., Sáez I., Seghatchian J., Gutiérrez L. Red blood cell storage time and transfusion: current practice, concerns and future perspectives. *Blood Transfus.* 2017; 15 (3): 222–231. PMID: 28518049. DOI: 10.2450/2017.0345-16.
  12. Jones A.R., Patel R.P., Marques M.B., Donnelly J.P., Griffin R.L., Pittet J.F., Kerby J.D., Stephens S.W., DeSantis S.M., Hess J.R., Wang H.E. PROPPR Study Group. Older blood is associated with increased mortality and adverse events in massively transfused trauma patients: secondary analysis of the PROPPR Trial. *Ann. Emerg. Med.* 2019; 73 (6): 650–661. PMID: 30447946. DOI: 10.1016/j.annemergmed.2018.09.033.
  13. Hess J.R. An update on solutions for red cell storage. *Vox Sang.* 2006; 91: 13–19. PMID: 16756596. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2006.00778.x.
  14. García-Roa M., Del Carmen Vicente-Ayuso M., Bobes A.M., Pedraza A.C., González-Fernández A., Martín M.P., Sáez I., Seghatchian J., Gutiérrez L. Red blood cell storage time and transfusion: current practice, concerns and future perspectives. *Blood Transfus.* 2017; 15 (3): 222–231. PMID: 28518049. DOI: 10.2450/2017.0345-16.
  15. Cancelas J.A., Dumont L.J., Maes L.A., Rugg N., Herschel L., Whitley P.H., Z.M. Szczepiowski, A.H. Siegel, J.R. Hess, M. Zia. Additive solution-7 reduces the red blood cell cold storage lesion. *Transfusion*. 2015; 55 (3): 491–498. PMID: 25233911. DOI: 10.1111/trf.12867.
  16. D'Alessandro A., Reisz J.A., Culp-Hill R., Korsten H., van Bruggen R., de Korte D. Metabolic effect of alkaline additives and guanosine/glucosinate in storage solutions for red blood cells. *Transfusion*. 2018; 58 (8): 1992–2002. PMID: 29624679. DOI: 10.1111/trf.14620.
  17. Lagerberg J. W., Korsten H., Van Der Meer P.F., De Korte D. Prevention of red cell storage lesion: a comparison of five different additive solutions. *Blood Transfus.* 2017. 15 (5): 456–462. PMID: 28488968. DOI: 10.2450/2017.0371-16.
  18. Hoehn R.S., Jernigan P.L., Chang A.L., Edwards M.J., Pritts T.A. Molecular mechanisms of erythrocyte aging. *Biol. Chem.* 2015; 396 (6–7): 621–631. PMID: 25803075. DOI: 10.1515/hsz-2014-0292.
  19. Severin E.S. Biochemistry textbook. M.: GEOTAR-MED; 2015: 768. ISBN 978-5-9704-2029-4. [In Russ.]
  20. Wongsari M.H., Rachmawati M., Mansyur A. Glucose level analysis on stored packed red cells. *Indonesian journal of clinical pathology and medical laboratory*. 2018. 24 (2): 117–121. DOI: 10.24293.ijcpml.v24i2.1308.
  21. Xiong Y., Xiong Y., Wang Y., Wang Z., Zhang A., Zhao N., Zhao D., Yu Z., Wang Z., Yi J., Luan X. Inhibition of Glutathione Synthesis via Decreased Glucose Metabolism in Stored RBCs. *Cell Physiol. Biochem.* 2018; 51 (5): 2172–2184. PMID: 30537727. DOI: 10.1159/000495864.

22. Lagerberg J.W., Korsten H., Van Der Meer P.F., De Korte D. Prevention of red cell storage lesion: a comparison of five different additive solutions. *Blood Transfus.* 2017; 15 (5): 456–462. PMID: 28488968. DOI: 10.2450/2017.0371-16.
23. Orlov D., Karkouti K. The pathophysiology and consequences of red blood cell storage. *Anaesthesia.* 2015; 70 (Suppl 1): 29–37. PMID: 25440392. DOI: 10.1111/anae.12891.
24. Yoshida T., Prudent M., DAlessandro A. Red blood cell storage lesion: causes and potential clinical consequences. *Blood Transfus.* 2019; 17 (1): 27–52. PMID: 30653459. DOI: 10.2450/2019.0217-18.
25. AlMoshary M., Mussaed E.A., Arab-Din M. Biochemical profile changes in stored donor blood for transfusion. *Pak. J. Med. Sci.* 2019; 35 (6): 1697–1700. PMID: 31777518. DOI: 10.12669/pjms.35.6.220.
26. Antwi-Baffour S., Adjei J.K., Tsyawo F., Kyeremeh R., Botchway F.A., Seidu M.A. A Study of the Change in Sodium and Potassium Ion Concentrations in Stored Donor Blood and Their Effect on Electrolyte Balance of Recipients. *Biomed. Res. Int.* 2019; 2019: 8162975. PMID: 31662997. DOI: 10.1155/2019/8162975.
27. Черныш А. М., Козлова Е. К., Мороз В. В., Сергунова В. А., Гудкова О. Е., Манченко Е. А., Козлов А. П. Влияние антиоксиданта на основе янтарной кислоты на превращение метгемоглобина в оксигемоглобин *in vitro*. *Общая реаниматология.* 2018; 14 (2): 46–59. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-2-46-59.
28. Baron-Stefaniak J., Leitner G.C., Kuntzel N.K., Meyer E.L., Hiesmayr M.J., Ullrich R., Baron D.M. Transfusion of standard-issue packed red blood cells induces pulmonary vasoconstriction in critically ill patients after cardiac surgery — A randomized, double-blinded, clinical trial. *PLoS One.* 2019; 14 (3): e0213000. PMID: 30856182. DOI: 10.1371/journal.pone.0213000.
29. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М: Медицина; 1998: 704. ISBN 5-225-02709-1.
30. David S. R., Sawal N. S., Hamzah M. N. S. B., Rajabalaya R. The blood blues: A review on methemoglobinemia. *J. Pharmacol. Pharmacother.* 2018; 9 (1): 1–5. DOI: 10.4103/jpp.JPP\_79\_17.
31. Antonelou M.H., Kriebardis A.G., Papassideri I.S. Aging and death signalling in mature red cells: from basic science to transfusion practice. *Blood Transfus.* 2010; 8 (Suppl 3): s39–s47. PMID: 20606748. DOI: 10.2450/2010.007S.
32. Mittag D., Sran A., Chan K.S., Boland M.P., Bandala-Sanchez E., Huet O., Xu W., Sparrow R.L. Stored red blood cell susceptibility to *in vitro* transfusion-associated stress conditions is higher after longer storage and increased by storage in saline-adenine-glucose-mannitol compared to AS-1. *Transfusion.* 2015; 55 (9): 2197–2206. PMID: 25968419. DOI: 10.1111/trf.13138.
33. Lux S.E. 4th. Anatomy of the red cell membrane skeleton: unanswered questions. *Blood.* 2016; 127 (2): 187–199. PMID: 26537302. DOI: 10.1182/blood-2014-12-512772.
34. Xing F., Hu F., Yang J., Pan L., Xu J. Structural and functional studies of erythrocyte membrane-skeleton by single-cell and single-molecule techniques. *J. Innov. Opt. Health Sci.* 2019; 12 (1): 1830004. DOI: 10.1142/S1793545818300045.
35. Leal J., Adjobo-Hermans M., Bosman G. Red Blood Cell Homeostasis: Mechanisms and Effects of Microvesicle Generation in Health and Disease. *Front. Physiol.* 2018; 9: 703. PMID: 29937736. DOI: 10.3389/fphys.2018.00703.
36. Kozlova E., Chernysh A., Sergunova V., Manchenko E., Moroz V., Kozlov A. Conformational distortions of the red blood cell spectrin matrix nanostructure in response to temperature changes *in vitro*. *Scanning.* 2019; 2019: 1–12. PMID: 31198487. DOI: 10.1155/2019/8218912.
37. Azouzi S., Romana M., Arashiki N., Takakuwa Y., El Nemer W., Peyrard T., Colin Y., Amireault P., Le Van Kim C. Band 3 phosphorylation induces irreversible alterations of stored red blood cells. *Am. J. Hematol.* 2018; 93 (5): E110–E112. PMID: 29352741. DOI: 10.1002/ajh.25044.
38. Pollet H., Conrard L., Cloos A.S., Tyteca D. Plasma Membrane Lipid Domains as Platforms for Vesicle Biogenesis and Shedding? *Biomolecules.* 2018; 8 (3): 94. PMID: 30223513. DOI: 10.3390/biom8030094.
39. Welbourn E.M., Wilson M.T., Yusof A., Metodiev M.V., Cooper C.E. The mechanism of formation, structure and physiological relevance of covalent hemoglobin attachment to the erythrocyte membrane. *Free Radic. Biol. Med.* 2017; 103: 95–106. PMID: 28007575. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.024.
40. Thielen A.J.F., Meulenbroek E.M., Baas I., Bruggen R., Zeerleder S.S., Wouters D. Complement Deposition and IgG Binding on Stored Red Blood Cells Are Independent of Storage Time. *Transfus. Med. Hemother.* 2018; 45 (6): 378–384. PMID: 30574054. DOI: 10.1159/000486759.
41. Diebel L. N., Liberati D. M. Red blood cell storage and adhesion to vascular endothelium under normal or stress conditions: An *in vitro* microfluidic study. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2019; 86 (6): 943–951. PMID: 30830050. DOI: 10.1097/TA.0000000000002239.
42. Youssef L. A., Rebbaa A., Pampou S., Weisberg S. P., Stockwell B. R., Hod E. A., Spitalnik S. L. Increased erythrophagocytosis induces ferroptosis in red pulp macrophages in a mouse model of transfusion. *Blood.* 2018; 131 (23): 2581–2593. PMID: 29666112. DOI: 10.1182/blood-2017-12-822619.
43. Obrador R., Musulin S., Hansen B. Red blood cell storage lesion. *J. Vet Emerg. Crit. Care (San Antonio).* 2015; 25 (2): 187–199. PMID: 25428860. DOI: 10.1111/vec.12252.
44. Roche E., Passmore M., Simonova G., Diab S., Dunster K., Bierman W., Fraser J., Tung J. P. A Histologic Approach to Qualify Lung Tissue

- Damage in a Sheep Model of Transfusion-Related Lung Injury: Role of Red Blood Cell Storage Duration and Heat Treatment. *Am. J. Clin. Pathol.* 2016; 146 (suppl\_1): 49. DOI: 10.1093/ajcp/aqw161.049.
45. Woźniak M.J., Qureshi S., Sullo N., Dott W., Cardigan R., Wiltshire M., Nath M., Patel N.N., Kumar T., Goodall A.H., Murphy G.J. A comparison of red cell rejuvenation versus mechanical washing for the prevention of transfusion-associated organ injury in swine. *Anesthesiology*. 2018; 128 (2): 375–385. PMID: 29120945. DOI: 10.1097/ALN.0000000000001973.
  46. Raat N.J., Verhoeven A.J., Mik E.G., Gouwerok C.W., Verhaar R., Goedhart P.T., de Korte D., Ince C. The effect of storage time of human red cells on intestinal microcirculatory oxygenation in a rat isovolemic exchange model. *Crit. Care Med.* 2005; 33 (1): 39–45. PMID: 15644646. DOI: 10.1097/01.ccm.0000150655.75519.02.
  47. Fitzgerald R.D., Martin C.M., Dietz G.E., Doig G.S., Potter R.F., Sibbald W.J. Transfusing red blood cells stored in citrate phosphate dextrose adenine-1 for 28 days fails to improve tissue oxygenation in rats. *Crit. Care Med.* 1997; 25 (5): 726–732. PMID: 9187588. DOI: 10.1097/00003246-199705000-00004.
  48. Gilson C.R., Kraus T.S., Hod E.A., Hendrickson J.E., Spitalnik S.L., Hillyer C.D., Shaz B.H., Zimring J.C. A novel mouse model of red blood cell storage and posttransfusion in vivo survival. *Transfusion*. 2009; 49 (8): 1546–1553. PMID: 19573176. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2009.02173.x.
  49. Wang D., Cortés-Puch I., Sun J., Solomon S.B., Kanias T., Remy K.E., Feng J., Alimchandani M., Quezado M., Helms C., Perlegas A., Gladwin M.T., Kim-Shapiro D.B., Klein H.G., Natanson C. Transfusion of older stored blood worsens outcomes in canines depending on the presence and severity of pneumonia. *Transfusion*. 2014; 54 (7): 1712–1724. PMID: 24588210. DOI: 10.1111/trf.12607.
  50. Marik P.E., Sibbald W.J. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA*. 1993; 269 (23): 3024–3029. PMID: 8501845.
  51. Kiraly L.N., Underwood S., Differding J.A., Schreiber M.A. Transfusion of aged packed red blood cells results in decreased tissue oxygenation in critically injured trauma patients. *J. Trauma*. 2009; 67 (1): 29–32. PMID: 19590304. DOI: 10.1097/TA.0b013e3181af6a8c.
  52. Zallen G., Offner P.J., Moore E.E., Blackwell J., Ciesla D.J., Gabriel J., Denny C., Silliman C.C. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Am. J. Surg.* 1999; 178 (6): 570–572. PMID: 10670874. DOI: 10.1016/s0002-9610(99)00239-1.
  53. Weinberg J.A., McGwin G.Jr., Vandromme M.J., Marques M.B., Melton S.M., Reiff D.A., Kerby J.D., Rue L.W. 3rd. Duration of red cell storage influences mortality after trauma. *J. Trauma*. 2010; 69 (6): 1427–1431. PMID: 21150522. DOI: 10.1097/TA.0b013e3181fa0019.
  54. Spinella P.C., Carroll C.L., Staffl L., Gross R., Mc. Quay J., Keibel L., Wade C.E., Holcomb J.B. Duration of red blood cell storage is associated with increased incidence of deep vein thrombosis and in hospital mortality in patients with traumatic injuries. *Crit. Care*. 2009; 13 (5): R151. PMID: 19772604. DOI: 10.1186/cc8050.
  55. DeSantis S.M., Brown D.W., Jones A.R., Yamal J.M., Pittet J.F., Patel R.P., Wade C.E., Holcomb J.B., Wang H.; PROPPR Study Group. Characterizing red blood cell age exposure in massive transfusion therapy: the scalar age of blood index (SBI). *Transfusion*. 2019; 59 (8): 2699–2708. PMID: 31050809. DOI: 10.1111/trf.15334.
  56. Sparrow R. L. Red blood cell storage duration and trauma. *Transfus. Med. Rev.* 2015; 29 (2): 120–126. PMID: 25573415 DOI: 10.1016/j.tmr.2014.09.007.
  57. Bishnoi A.K., Garg P., Patel K., Ananthanarayanan C., Shah R., Solanki A., Pandya H., Patel S. Effect of red blood cell storage duration on outcome after paediatric cardiac surgery: a prospective observational study. *Heart Lung Circ.* 2019; 28 (5): 784–791. PMID: 29706495. DOI: 10.1016/j.hlc.2018.03.012.
  58. Steiner M.E., Ness P.M., Assmann S.F., Triulzi D.J., Sloan S.R., Delaney M., Granger S., Bennett-Guerrero E., Blajchman M.A., Scavo V., Carson J.L., Levy J.H., Whitman G., D'Andrea P., Pulkrabek S., Ortel T.L., Bornikova L., Raife T., Puca K.E., Kaufman R.M., Nuttall G.A., Young P.P., Youssef S., Engelman R., Greilich P.E., Miles R., Josephson C.D., Bracey A., Cooke R., McCullough J., Hunsaker R., Uhl L., McFarland J.G., Park Y., Cushing M.M., Klodell C.T., Karanam R., Roberts P.R., Dyke C., Hod E.A., Stowell C.P. Effects of red-cell storage duration on patients undergoing cardiac surgery. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (15): 1419–1429. PMID: 25853746. DOI: 10.1056/NEJMoa1414219.
  59. Sanders J., Patel S., Cooper J., Berryman J., Farrar D., Mythen M., Montgomery H.E. Red blood cell storage is associated with length of stay and renal complications after cardiac surgery. *Transfusion*. 2011; 51 (11): 2286–2294. PMID: 21564106. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03170.x.
  60. Baron-Stefaniak J., Leitner G.C., Kuntzel N.K.I., Meyer E.L., Hiesmayr M.J., Ullrich R., Baron D.M. Transfusion of standard-issue packed red blood cells induces pulmonary vasoconstriction in critically ill patients after cardiac surgery—A randomized, double-blinded, clinical trial. *PLoS One*. 2019; 14 (3): 1–14. PMID: 30856182. DOI: 10.1371/journal.pone.0213000.
  61. Wun T., Hassell K. Best practices for transfusion for patients with sickle cell disease. *Hematology Reports*. 2010; 1 (2): e22. DOI: 10.4081/hr.2009.e22.
  62. Shah N., Welsby I.J., Fielder M.A., Jacobsen W.K., Nielsen V.G. Sickle cell disease is associated with iron mediated hypercoagulability. *J. Damage in a Sheep Model of Transfusion-Related Lung Injury: Role of Red Blood Cell Storage Duration and Heat Treatment. Am. J. Clin. Pathol.* 2016; 146 (suppl\_1): 49. DOI: 10.1093/ajcp/aqw161.049.
  45. Woźniak M.J., Qureshi S., Sullo N., Dott W., Cardigan R., Wiltshire M., Nath M., Patel N.N., Kumar T., Goodall A.H., Murphy G.J. A comparison of red cell rejuvenation versus mechanical washing for the prevention of transfusion-associated organ injury in swine. *Anesthesiology*. 2018; 128 (2): 375–385. PMID: 29120945. DOI: 10.1097/ALN.0000000000001973.
  46. Raat N.J., Verhoeven A.J., Mik E.G., Gouwerok C.W., Verhaar R., Goedhart P.T., de Korte D., Ince C. The effect of storage time of human red cells on intestinal microcirculatory oxygenation in a rat isovolemic exchange model. *Crit. Care Med.* 2005; 33 (1): 39–45. PMID: 15644646. DOI: 10.1097/01.ccm.0000150655.75519.02.
  47. Fitzgerald R.D., Martin C.M., Dietz G.E., Doig G.S., Potter R.F., Sibbald W.J. Transfusing red blood cells stored in citrate phosphate dextrose adenine-1 for 28 days fails to improve tissue oxygenation in rats. *Crit. Care Med.* 1997; 25 (5): 726–732. PMID: 9187588. DOI: 10.1097/00003246-199705000-00004.
  48. Gilson C.R., Kraus T.S., Hod E.A., Hendrickson J.E., Spitalnik S.L., Hillyer C.D., Shaz B.H., Zimring J.C. A novel mouse model of red blood cell storage and posttransfusion in vivo survival. *Transfusion*. 2009; 49 (8): 1546–1553. PMID: 19573176. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2009.02173.x.
  49. Wang D., Cortés-Puch I., Sun J., Solomon S.B., Kanias T., Remy K.E., Feng J., Alimchandani M., Quezado M., Helms C., Perlegas A., Gladwin M.T., Kim-Shapiro D.B., Klein H.G., Natanson C. Transfusion of older stored blood worsens outcomes in canines depending on the presence and severity of pneumonia. *Transfusion*. 2014; 54 (7): 1712–1724. PMID: 24588210. DOI: 10.1111/trf.12607.
  50. Marik P.E., Sibbald W.J. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA*. 1993; 269 (23): 3024–3029. PMID: 8501845.
  51. Kiraly L.N., Underwood S., Differding J.A., Schreiber M.A. Transfusion of aged packed red blood cells results in decreased tissue oxygenation in critically injured trauma patients. *J. Trauma*. 2009; 67 (1): 29–32. PMID: 19590304. DOI: 10.1097/TA.0b013e3181af6a8c.
  52. Zallen G., Offner P.J., Moore E.E., Blackwell J., Ciesla D.J., Gabriel J., Denny C., Silliman C.C. Age of transfused blood is an independent risk factor for postinjury multiple organ failure. *Am. J. Surg.* 1999; 178 (6): 570–572. PMID: 10670874. DOI: 10.1016/s0002-9610(99)00239-1.
  53. Weinberg J.A., McGwin G.Jr., Vandromme M.J., Marques M.B., Melton S.M., Reiff D.A., Kerby J.D., Rue L.W. 3rd. Duration of red cell storage influences mortality after trauma. *J. Trauma*. 2010; 69 (6): 1427–1431. PMID: 21150522. DOI: 10.1097/TA.0b013e3181fa0019.
  54. Spinella P.C., Carroll C.L., Staffl L., Gross R., Mc. Quay J., Keibel L., Wade C.E., Holcomb J.B. Duration of red blood cell storage is associated with increased incidence of deep vein thrombosis and in hospital mortality in patients with traumatic injuries. *Crit. Care*. 2009; 13 (5): R151. PMID: 19772604. DOI: 10.1186/cc8050.
  55. DeSantis S.M., Brown D.W., Jones A.R., Yamal J.M., Pittet J.F., Patel R.P., Wade C.E., Holcomb J.B., Wang H.; PROPPR Study Group. Characterizing red blood cell age exposure in massive transfusion therapy: the scalar age of blood index (SBI). *Transfusion*. 2019; 59 (8): 2699–2708. PMID: 31050809. DOI: 10.1111/trf.15334.
  56. Sparrow R. L. Red blood cell storage duration and trauma. *Transfus. Med. Rev.* 2015; 29 (2): 120–126. PMID: 25573415 DOI: 10.1016/j.tmr.2014.09.007.
  57. Bishnoi A.K., Garg P., Patel K., Ananthanarayanan C., Shah R., Solanki A., Pandya H., Patel S. Effect of red blood cell storage duration on outcome after paediatric cardiac surgery: a prospective observational study. *Heart Lung Circ.* 2019; 28 (5): 784–791. PMID: 29706495. DOI: 10.1016/j.hlc.2018.03.012.
  58. Steiner M.E., Ness P.M., Assmann S.F., Triulzi D.J., Sloan S.R., Delaney M., Granger S., Bennett-Guerrero E., Blajchman M.A., Scavo V., Carson J.L., Levy J.H., Whitman G., D'Andrea P., Pulkrabek S., Ortel T.L., Bornikova L., Raife T., Puca K.E., Kaufman R.M., Nuttall G.A., Young P.P., Youssef S., Engelman R., Greilich P.E., Miles R., Josephson C.D., Bracey A., Cooke R., McCullough J., Hunsaker R., Uhl L., McFarland J.G., Park Y., Cushing M.M., Klodell C.T., Karanam R., Roberts P.R., Dyke C., Hod E.A., Stowell C.P. Effects of red-cell storage duration on patients undergoing cardiac surgery. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (15): 1419–1429. PMID: 25853746. DOI: 10.1056/NEJMoa1414219.
  59. Sanders J., Patel S., Cooper J., Berryman J., Farrar D., Mythen M., Montgomery H.E. Red blood cell storage is associated with length of stay and renal complications after cardiac surgery. *Transfusion*. 2011; 51 (11): 2286–2294. PMID: 21564106. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2011.03170.x.
  60. Baron-Stefaniak J., Leitner G.C., Kuntzel N.K.I., Meyer E.L., Hiesmayr M.J., Ullrich R., Baron D.M. Transfusion of standard-issue packed red blood cells induces pulmonary vasoconstriction in critically ill patients after cardiac surgery—A randomized, double-blinded, clinical trial. *PLoS One*. 2019; 14 (3): 1–14. PMID: 30856182. DOI: 10.1371/journal.pone.0213000.
  61. Wun T., Hassell K. Best practices for transfusion for patients with sickle cell disease. *Hematology Reports*. 2010; 1 (2): e22. DOI: 10.4081/hr.2009.e22.
  62. Shah N., Welsby I.J., Fielder M.A., Jacobsen W.K., Nielsen V.G. Sickle cell disease is associated with iron mediated hypercoagulability. *J.*

- Thromb. Thrombolysis*. 2015; 40 (2): 182–185. PMID: 25986992. DOI: 10.1007/s11239-015-1230-6.
63. Gu Y, Estcourt L.J., Doree C., Hopewell S., Vyas P Comparison of a restrictive versus liberal red cell transfusion policy for patients with myelodysplasia, aplastic anaemia, and other congenital bone marrow failure disorders. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015; 10: CD011577. PMID: 26436602. DOI: 10.1002/14651858.CD011577.pub2.
64. Chadebech P, de Menorval M.A., Bodivit G., Mekontso-Dessap A., Pakdaman S., Jouard A., Galactéros F., Bierling P., Habibi A., Pirenne F Evidence of benefits from using fresh and cryopreserved blood to transfuse patients with acute sickle cell disease. *Transfusion*. 2016; 56 (7): 1730–1738. PMID: 27184475. DOI: 10.1111/trf.13636.
65. Dupuis C., Sonnevile R., Adrie C., Gros A., Darmon M., Bouadma L., Timsit J.F Impact of transfusion on patients with sepsis admitted in intensive care unit: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Intensive Care*. 2017; 7 (1): 5. PMID: 28050898. DOI: 10.1186/s13613-016-0226-5.
66. Goel R., Johnson D.J., Scott A.V., Tobian A.A., Ness P.M., Nagababu E., Frank S.M. Red blood cells stored 35 days or more are associated with adverse outcomes in high-risk patients. *Transfusion*. 2016; 56 (7): 1690–1698. PMID: 27062463. DOI: 10.1111/trf.13559.
67. Hod E.A., Brittenham G.M., Billote G.B., Francis R.O., Ginzburg Y.Z., Hendrickson J.E., Jhang J., Schwartz J., Sharma S., Sheth S., Sireci A.N., Stephens H.L., Stotler B.A., Wojczyk B.S., Zimring J.C., Spitalnik S.L. Transfusion of human volunteers with older, stored red blood cells produces extravascular hemolysis and circulating non-transferrin-bound iron. *Blood*. 2011; 118 (25): 6675–6682. PMID: 22021369. DOI: 10.1182/blood-2011-08-371849.
68. Cross J.H., Bradbury R.S., Fulford A.J., Jallow A.T., Wegmüller R., Prentice A.M., Cerami C. Oral iron acutely elevates bacterial growth in human serum. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16670. PMID: 26593732. DOI: 10.1038/srep16670.
69. Hinshaw L.B. Sepsis/septic shock: Participation of the microcirculation: an abbreviated review. *Crit. Care Med.* 1996; 24 (6): 1072–1078. PMID: 8681576. DOI: 10.1097/00003246-199606000-00031.
70. Athar M.K., Puri N., Gerber D.R. Anemia and blood transfusions in critically ill patients. *J. Blood Transfus.* 2012; 2012: 1–7. PMID: 24066259. DOI: 10.1155/2012/629204.
71. Cholette J.M., Pietropaoli A.P., Henrichs K.F., Alfieri G.M., Powers K.S., Phipps R., Spinelli S.L., Swartz M., Gensini F., Daugherty L.E., Nazarian E., Rubenstein J.S., Sweeney D., Eaton M., Blumberg N. Longer RBC storage duration is associated with increased postoperative infections in pediatric cardiac surgery. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2015; 16 (3): 227–235. PMID: 25607740. DOI: 10.1097/PCC.0000000000000320.
72. Manlihot C., McCrindle B.W., Menjak I.B., Yoon H., Holtby H.M., Brandão L.R., Chan A.K., Schwartz S.M., Sivarajan V.B., Crawford-Lean L., Foreman C., Caldaroni C.A., Van Arsdell G.S., Gruenewald C.E. Longer blood storage is associated with suboptimal outcomes in high-risk pediatric cardiac surgery. *Ann. Thorac. Surg.* 2012; 93 (5): 1563–1569. PMID: 22137242. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2011.08.075.
73. L'Acqua C., Bandyopadhyay S., Francis R.O., McMahon D.J., Nellis M., Sheth S., Kernie S.G., Brittenham G.M., Spitalnik S.L., Hod E.A. Red blood cell transfusion is associated with increased hemolysis and an acute phase response in a subset of critically ill children. *Am. J. Hematol.* 2015; 90 (10): 915–920. PMID: 26183122. DOI: 10.1002/ajh.24119.
74. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Sergunova V., Gudkova O., Manchenko E. Morphology, membrane nanostructure and stiffness for quality assessment of packed red blood cells. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 1–11. PMID: 28798476. DOI: 10.1038/s41598-017-08255-9.
75. Мороз В.В., Голубев А.М., Черныш А.М., Козлова Е.К., Васильев В.Ю., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Федорова М.С. Изменения структуры поверхности мембран эритроцитов при длительном хранении донорской крови. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 5. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-1-5.
76. Kozlova E., Chernysh A., Sergunova V., Kozlov A., Sherstyukova E. Transformation of spectrin matrix of red blood cell membranes. In book: *Advances in Single-Molecule Research for Biology & Nanoscience*, 2020: 7–6. **Поступила 12.05.20**
- Thromb. Thrombolysis*. 2015; 40 (2): 182–185. PMID: 25986992. DOI: 10.1007/s11239-015-1230-6.
63. Gu Y, Estcourt L.J., Doree C., Hopewell S., Vyas P Comparison of a restrictive versus liberal red cell transfusion policy for patients with myelodysplasia, aplastic anaemia, and other congenital bone marrow failure disorders. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015; 10: CD011577. PMID: 26436602. DOI: 10.1002/14651858.CD011577.pub2.
64. Chadebech P, de Menorval M.A., Bodivit G., Mekontso-Dessap A., Pakdaman S., Jouard A., Galactéros F., Bierling P., Habibi A., Pirenne F Evidence of benefits from using fresh and cryopreserved blood to transfuse patients with acute sickle cell disease. *Transfusion*. 2016; 56 (7): 1730–1738. PMID: 27184475. DOI: 10.1111/trf.13636.
65. Dupuis C., Sonnevile R., Adrie C., Gros A., Darmon M., Bouadma L., Timsit J.F Impact of transfusion on patients with sepsis admitted in intensive care unit: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Intensive Care*. 2017; 7 (1): 5. PMID: 28050898. DOI: 10.1186/s13613-016-0226-5.
66. Goel R., Johnson D.J., Scott A.V., Tobian A.A., Ness P.M., Nagababu E., Frank S.M. Red blood cells stored 35 days or more are associated with adverse outcomes in high-risk patients. *Transfusion*. 2016; 56 (7): 1690–1698. PMID: 27062463. DOI: 10.1111/trf.13559.
67. Hod E.A., Brittenham G.M., Billote G.B., Francis R.O., Ginzburg Y.Z., Hendrickson J.E., Jhang J., Schwartz J., Sharma S., Sheth S., Sireci A.N., Stephens H.L., Stotler B.A., Wojczyk B.S., Zimring J.C., Spitalnik S.L. Transfusion of human volunteers with older, stored red blood cells produces extravascular hemolysis and circulating non-transferrin-bound iron. *Blood*. 2011; 118 (25): 6675–6682. PMID: 22021369. DOI: 10.1182/blood-2011-08-371849.
68. Cross J.H., Bradbury R.S., Fulford A.J., Jallow A.T., Wegmüller R., Prentice A.M., Cerami C. Oral iron acutely elevates bacterial growth in human serum. *Sci. Rep.* 2015; 5: 16670. PMID: 26593732. DOI: 10.1038/srep16670.
69. Hinshaw L.B. Sepsis/septic shock: Participation of the microcirculation: an abbreviated review. *Crit. Care Med.* 1996; 24 (6): 1072–1078. PMID: 8681576. DOI: 10.1097/00003246-199606000-00031.
70. Athar M.K., Puri N., Gerber D.R. Anemia and blood transfusions in critically ill patients. *J. Blood Transfus.* 2012; 2012: 1–7. PMID: 24066259. DOI: 10.1155/2012/629204.
71. Cholette J.M., Pietropaoli A.P., Henrichs K.F., Alfieri G.M., Powers K.S., Phipps R., Spinelli S.L., Swartz M., Gensini F., Daugherty L.E., Nazarian E., Rubenstein J.S., Sweeney D., Eaton M., Blumberg N. Longer RBC storage duration is associated with increased postoperative infections in pediatric cardiac surgery. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2015; 16 (3): 227–235. PMID: 25607740. DOI: 10.1097/PCC.0000000000000320.
72. Manlihot C., McCrindle B.W., Menjak I.B., Yoon H., Holtby H.M., Brandão L.R., Chan A.K., Schwartz S.M., Sivarajan V.B., Crawford-Lean L., Foreman C., Caldaroni C.A., Van Arsdell G.S., Gruenewald C.E. Longer blood storage is associated with suboptimal outcomes in high-risk pediatric cardiac surgery. *Ann. Thorac. Surg.* 2012; 93 (5): 1563–1569. PMID: 22137242. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2011.08.075.
73. L'Acqua C., Bandyopadhyay S., Francis R.O., McMahon D.J., Nellis M., Sheth S., Kernie S.G., Brittenham G.M., Spitalnik S.L., Hod E.A. Red blood cell transfusion is associated with increased hemolysis and an acute phase response in a subset of critically ill children. *Am. J. Hematol.* 2015; 90 (10): 915–920. PMID: 26183122. DOI: 10.1002/ajh.24119.
74. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Sergunova V., Gudkova O., Manchenko E. Morphology, membrane nanostructure and stiffness for quality assessment of packed red blood cells. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 1–11. PMID: 28798476. DOI: 10.1038/s41598-017-08255-9.
75. Мороз В.В., Голубев А.М., Черныш А.М., Козлова Е.К., Васильев В.Ю., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Федорова М.С. Структуральные изменения на поверхности мембран эритроцитов при длительном хранении донорской крови. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 5. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-1-5.
76. Kozlova E., Chernysh A., Sergunova V., Kozlov A., Sherstyukova E. Transformation of spectrin matrix of red blood cell membranes. In book: *Advances in Single-Molecule Research for Biology & Nanoscience*, 2020: 7–6. **Received 12.05.20**