

Postępy w poszukiwaniu substytutów krwi, cz. 1. Preparaty stosowane obecnie w krwiolecznictwie jako wyznacznik kierunków rozwoju nowych leków

Waldemar Grzegorzewski¹, Ewa Mil¹, Katarzyna Gołda¹, Anna Czerniecka-Kubicka², Łukasz Puchała³

¹Katedra Biotechnologii, Instytut Biologii i Biotechnologii, Kolegium Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Rzeszowski.

^{1b}Interdyscyplinarne Centrum Badań Przedklinicznych i Klinicznych, Kolegium Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Rzeszowski

²Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, Instytut Nauk Medycznych, Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski

³Katedra Farmakologii i Toksykologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

Adres do korespondencji

Łukasz Puchała, Katedra Farmakologii i Toksykologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn, ul. Warszawska 30, 10-082, Olsztyn, Polska; e-mail: lukasz.puchala@uwm.edu.pl

Źródła finansowania

Działalność statutowa Instytutu Biologii i Biotechnologii UR.

Konflikt interesów

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2022.08.15

Zaakceptowano: 2022.10.04


Opublikowano on-line: 2022.10.27

DOI

10.32383/farmpol/155153


ORCID

Waldemar Grzegorzewski -  0000-0002-3522-1327

Ewa Mil -  0000-0003-3879-1250


Katarzyna Gołda -  0000-0002-2027-3247

Anna Czerniecka-Kubicka -  0000-0002-3445-1227

Łukasz Puchała -  0000-0003-0009-947X

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie, na licencji CC BY NC 

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Progress in the search for blood substitutes, part 1. Preparations currently used in haemotherapy as an indicator of new drug development

The hospital pharmacy in Polish conditions, rarely participates in the logistic process related to the transport, storage and administration of blood, however, it is involved in supplying the hospital with a variety of blood products and blood substitutes such as crystalloids, colloids and albumins. The awareness of logistic and technological problems, as well as the analysis of costs, legal and ethical restrictions related to the use of blood products, becomes essential for good, effective, merit-based cooperation between a clinical pharmacist and other health care specialists. Introducing a good blood substitute would solve the problem of donating blood, costly storage, transport and testing. Due to the specific nature of the blood administration procedure, it cannot be used in some situations for ethical and religious reasons. Current research in the search for blood substitutes does not focus on the exact reconstitution of blood with its cellular components. While it seems impossible to create a perfect preparation, products intended to partially replace the role of blood have a greater chance of being used. Examples include not only preparations for filling the vascular bed, but also a variety of oxygen carriers. It should be noted that the use of cell-free preparations solves numerous technological problems related to the use and administration of blood products. The lack of proteins in the product supporting the transport of oxygen and carbon dioxide in human tissues or medical equipment means no risk of allergic reactions, coagulation and the need to conduct tests before administration of the drug, which improves access to therapy by reducing technological problems, and increases the level of patient safety and allows you to improve the effectiveness of the therapeutic process. The series of articles will present the current state of the art, directions of research and development possibilities of blood products and blood substitutes, with particular reference to acellular oxygen transfer agents.

Keywords: haemotherapy, hospital pharmacy, artificial blood, blood substitute.

© Farm Pol, 2022, 78(8): 469–479

Wprowadzenie

Preparaty krwiopochodne są szeroko stosowaną opcją terapeutyczną. Pomimo oczywistych korzyści wynikających z dostępu do metod krwiozastępczych, problemy logistyczne, technologiczne oraz etyczne, a także wzrastające zapotrzebowanie przy niewystarczających źródłach pozyskiwania krwi, kreują przestrzeń do poszukiwania nowych substancji lub sposobów stosowania leków, które będą odpowiedzią na opisane problemy i zapewnią poprawę możliwości stosowania skutecznych metod terapeutycznych u większej liczby pacjentów na całym świecie, niezależnie od ograniczeń związanych z kosztownym procesem pozyskiwania, badania jakości, przechowywania, transportu, rozwiązując jednocześnie pojawiające się problemy etyczne. Aby w pełni ocenić wymagania, jakie są stawiane nowym lekiem krwiozastępczym, niezbędna jest analiza obecnie stosowanych preparatów, jak i ocena ich wad i zalet.

Charakterystyka preparatów krwiopochodnych

Obecnie w krwiolecznictwie stosuje się krew pełną oraz preparaty z niej otrzymywane, takie jak preparaty komórkowe czy osoczowe, przedstawione zbiorczo w tabeli 1.

Krew pełna

Jednostka krwi pełnej (KP), tj. zawierającej pełny skład fizjologiczny krwi, ma objętość nieco ponad 500 mL [1], w tym 450 mL krwi oraz 63 mL płynu konserwującego. Hematokryt (Ht), czyli stosunek objętości erytrocytów do objętości pełnej krwi, wynosi ok. 36–44%. Preparat ten przechowywany w temperaturze od 2 do 6°C, z dodatkiem płynu cytrynianowo-fosforanowo-glukozowego z adeniną, powinien być wykorzystany w ciągu 35 dni. Kontrola jakości krwi pełnej przeprowadzana jest za pomocą testów opisanych w tabeli 2.

U osób dorosłych jednostka krwi pełnej powinna zwiększyć stężenie hemoglobiny o około 10 g/L (g/dL) [1]. W przypadku dzieci wystarczające jest przetoczenie około 8 mL krwi/kg masy ciała. Działanie krwi pełnej polega na zwiększeniu objętości płynów, a także zwiększeniu zdolności krwinek czerwonych do przeniesienia tlenu. Wyraźnym wskazaniem do przetoczenia krwi pełnej jest masywna utrata krwi lub transfuzja wymienna u noworodków. Istotnymi przeciwwskazaniami do przetaczania krwi pełnej jest występująca niedokrwistość u pacjenta, który wymaga jedynie zwiększenia zdolności transportowania tlenu i możliwość zastosowania innych środków, takich jak albumina, krystaloidy lub koloidy. Obecnie krew pełna jest najczęściej wykorzystywana w celu izolowania składników krwi, a w praktyce klinicznej przetaczana jest coraz rzadziej.

Tabela 1. Charakterystyka krwi pełnej oraz najczęściej stosowanych składników krwi.

Opracowanie własne

Table 1. Characteristics of whole blood and the most commonly used blood components.

Own study

Nazwa	Objętość [mL]	Podstawowy składnik	Termin ważności i warunki przechowywania	Spodziewany skutek zastosowania
Krew pełna konserwowana (KPK)	ok. 500	450 mL krwi (± 10%) + płyn konserwujący	Do 35 dni w temp. 2–6°C z płynem CPDA	Wzrost stężenia hemoglobiny o ok. 1 g/L Wzrost hematokrytu o 0,03–0,04
Koncentrat krwinek czerwonych (KKCz)	280 ± 50	Krwinki czerwone plus niewielka ilość osocza	Do 45 dni w temp. 2–6°C z roztworem uzupełniającym	Wzrost stężenia hemoglobiny o ok. 1 g/L Wzrost hematokrytu o 0,03–0,05
Koncentrat krwinek płytkowych (KKP)	50–70	Krwinki płytkowe 0,45–0,95·10 ¹¹	Do 5 dni w pojemnikach „oddychających”	Wzrost liczby płytek o 30 000–50 000 μL u chorego o powierzchni ciała 1,8m ²
Koncentrat granulocytarny	< 500	Granulocyty, dawka terapeutyczna	Najlepiej przetoczyć natychmiast, w razie konieczności do 24h w temp. 20–24°C	Opanowanie zagrażających życiu zakażeń
Osocze świeżo mrożone (FFP)	ok. 200	Czynnik układu krzepnięcia, w tym czynnik VIII; albuminy; globuliny; inne białka osocza	Do 3 miesięcy w temp. od –18 do –25°C 36 miesięcy w temp. < –25°C	Wzrost stężenia czynników krzepnięcia
Krioprecypitat	20–30	Czynnik VIII Fibrynogen; Czynnik von Willebranda Czynnik XIII	Do 3 miesięcy w temp. od –18 do –25°C; 36 miesięcy w temp. < –25°C	Wzrost stężenia czynników krzepnięcia; Produkcja kleju fibrynowego

Tabela 2. Podstawowe testy jakości krwi pełnej.

Table 2. Basic whole blood quality tests.

Lp.	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli **
1.	Grupa krwi	A, B, O, AB	
2.	RhD	dodatni, ujemny	
3.	Test kiłowy	ujemny	
4.	HBsAg	ujemny	
5.	DNA HBV	ujemny	Każda jednostka
6.	anty-HCV	ujemny	
7.	RNA HCV	ujemny	
8.	anty-HIV1/2	ujemny	
9.	RNA HIV	ujemny	
10.	Objętość (ml)	450 ± 10% bez antykoagulantu	1% wszystkich jednostek (nie mniej niż 4 j./miesiąc)**
11.	Hemoglobina (g/l)*	≥ 45	4 j./miesiąc
12.	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	< 0,8% masy krwinek czerwonych	4 j./miesiąc

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

** jak określono w statystycznym procesie kontroli (SPK)

Koncentrat krwinek czerwonych

Koncentrat krwinek czerwonych (KKCz) otrzymywany jest z jednej jednostki krwi pełnej poprzez usunięcie z niej 200–330 mL osocza [1]. Preparat ten przechowuje się tak samo jak krew pełną, z dodatkiem płynu konserwującego CPDA-1 (ang. *Citrate, Phosphate, Dextrose, Adenine*, CPDA), a jego ważność wynosi 35 dni. W przypadku preparatu przechowywanego w płynie bez dodatku adeniny CPD (ang. *Citrate, Phosphate, Dextrose*, CPD), ale z dodatkiem roztworów wzbogacających, takich jak SAGM (ang. *Sodium chloride, Adenine, Glucose, Mannitol*), może być on przetrzymywany przez 45 dni [2]. W zależności od sposobu przechowywania hematokryt koncentratu krwinek

czerwonych wynosi od 50 do 75%. Po odwirowaniu każdą jednostkę koncentratu poddaje się kontroli jakości, która obejmuje testy podane w tabeli 3.

Koncentrat krwinek czerwonych przetwarzany jest przez standardowy zestaw do transfuzji w takiej samej dawce jak krew pełna. Jego zadaniem jest zwiększenie liczby krwinek czerwonych w organizmie biorecy oraz zwiększenie zdolności tych komórek do przenoszenia tlenu. Głównym wskazaniem do stosowania koncentratu krwinek czerwonych jest niedokrwistość, jednak tylko wtedy, gdy nie ma innych sposobów leczenia. Dzięki stosowaniu KKCz można również uzupełnić objętość krwi krążącej i przeprowadzić transfuzję wymienną unoworodków.

Tabela 3. Podstawowe testy jakości koncentratu krwinek czerwonych.

Table 3. Basic quality tests of the concentrate of red blood cells.

Lp.	Parametr	Wymagana wartość	Częstość kontroli **
1.	Grupa krwi	A, B, O, AB	
2.	RhD	dodatni, ujemny	
3.	Test kiłowy	ujemny	
4.	HBsAg	ujemny	
5.	DNA HBV	ujemny	Każda jednostka
6.	anty-HCV	ujemny	
7.	RNA HCV	ujemny	
8.	anty-HIV1/2	ujemny	
9.	RNA HIV	ujemny	
10.	Objętość (mL)	280 ± 50	1% wszystkich jednostek (nie mniej niż 4 j./miesiąc)**
11.	Hematokryt	0,65–0,75	
12.	Hemoglobina (g/l)*	≥ 45	4 j./miesiąc**
13.	Hemoliza w końcowym okresie przechowywania	< 0,8% masy krwinek czerwonych	

* badanie nie jest obowiązkowe dla donacji autologicznych

** jak określono w statystycznym procesie kontroli (SPK)

Koncentrat krwinek czerwonych przemywanych

Koncentrat krwinek czerwonych przemywanych (PKKCz) należy do preparatów komórkowych i składa się z krwinek czerwonych, które zostały przepłukane fizjologicznym roztworem chlorku sodu. Po przepłukaniu preparat umieszcza się go w 0,9% roztworze NaCl lub roztworze wzbogacającym. Przemycanie krwinek ma na celu usunięcie białek osocza [3]. W trakcie tego procesu część krwinek ulega uszkodzeniu, wzrost wartości hemoglobiny i hematokrytu po podaniu jednej jednostki preparatu jest więc mniejszy niż po zastosowaniu koncentratu krwinek czerwonych [1]. Hematokryt tego preparatu wynosi średnio 65–75%. Po procesie płukania, krwinki muszą być przetoczone do 8 godzin. Przetoczenie PKKCz odbywa się po wykonaniu prób zgodności układu ABO przez standardowy zestaw do transfuzji. Wskazaniem do przetaczania przemywanego koncentratu krwinek czerwonych jest odczyn alergiczny po transfuzji krwi pełnej lub transfuzji koncentratu krwinek czerwonych, a także niedokrwistość autoimmunohemolityczna.

Deglicerolizowane krwinki czerwone

Wykorzystanie glicerolu jako środka krwioochronnego daje możliwość przechowywania krwinek czerwonych nawet przez 10 lat w bardzo niskich temperaturach (od -80°C do -196°C). Przed podaniem pacjentowi preparatu należy go najpierw rozmrozić, a następnie przemyć 0,9% roztworem NaCl w celu usunięcia glicerolu. Hematokryt koncentratu wynosi w tym przypadku 50–65% [1]. Ze względu na dość niską wartość hematokrytu, może się okazać konieczne dodatkowe przetoczenie preparatu, aby uzyskać odpowiedni wzrost hemoglobiny. Niewskazane jest przechowywanie tego preparatu, jednak, gdy jest konieczność, czas przechowywania nie powinien wynosić więcej niż 8 godzin. Stosowanie deglicerolizowanych krwinek czerwonych jest wskazane w przypadku przetoczeń autologicznych oraz u pacjentów z przeciwciałami do antygenów krwinek czerwonych.

Ubogoleukocytarny koncentrat krwinek czerwonych

Preparat ubogoleukocytarnego koncentratu krwinek czerwonych (UKKCz) otrzymywany jest w wyniku filtracji koncentratu krwinek czerwonych. Proces ten powoduje usunięcie ponad 99% leukocytów. Skuteczną metodą jest podanie KKCz filtracji przy zastosowaniu filtrów

anty leukocytarnych, jednak proces ten wiąże się z wysokimi kosztami. W pracach na temat usuwania leukocytów ze składników krwi stwierdzono, że leukoredukcja nie tylko zapobiega przeniesieniu czynników zakaźnych, niehemolitycznym reakcjom gorączkowym oraz zmniejsza ryzyko alloimmunizacji biorców antygenami układu zgodności tkankowej HLA (ang. *Human Leucocyte Antigen System*, HLA), ale także zapobiega wystąpieniu oporności na przetaczanie płytek krwi [4]. W Polsce usunięcia krwinek białych mogą wykonywać centra krwiodawstwa i krwiolecznictwa, wykorzystujące do tego procesu wspomniane wcześniej filtry lub nowoczesne separatory komórkowe. Wskazaniem do przetoczenia UKKCz mogą być: niedokrwistość, transfuzje u noworodków, kolejna transfuzja u jednego pacjenta, a także powtarzające się odczyny gorączkowe po przetoczeniu krwi pełnej lub koncentratu krwinek czerwonych [1].

Koncentrat płytek krwi otrzymywany metodą konwencjonalną

Koncentrat płytek krwi (KKP) otrzymuje się poprzez odwirowanie jednostki krwi pełnej oraz osocza, tak aby zawierał w 50 mL minimum $0,6 \times 10^{11}$ płytek krwi. Preparat ten można przechowywać tylko do 72 godzin, ale należy stosować wtedy specjalne mieszała. Koncentrat płytek krwi powoduje zwiększenie liczby erytrocytów, w wyniku tego zwiększa się zdolność krwi do transportu tlenu. Istnieje wiele zaleceń do zastosowania w leczeniu krwią tego preparatu, m.in.:

- małopłytkowość z powodu zmniejszenia wytwarzania płytek krwi w szpiku, w przebiegu choroby podstawowej lub mielotoksycznego działania leków [1];
- profilaktyczne przetoczenia wykonywane, gdy liczba płytek krwi jest $< 10\ 000/\mu\text{L}$;
- nieprawidłowe funkcjonowanie krwi.

Nie zaleca się stosowania koncentratu płytek krwi zapobiegawczo w krwotokach, w przypadku wystąpienia posocznicy czy zespołu dużej śledziony (hipersplenizmu). U dorosłego pacjenta należy przetoczyć od 6 do 8 jednostek koncentratu, który zwykle pochodzi od różnych dawców, ale jest zgodny w układzie ABO. W przypadku dzieci przetacza się jedną jednostkę preparatu na 10 kg masy ciała. W trakcie przetaczania omawianego preparatu należy obserwować pacjenta, ponieważ mogą wystąpić objawy niepożądane, takie jak: krwawienie, zespół DIC (ang. *Disseminated Intravascular Coagulation*), infekcja z gorączką czy hipersplenizm [1]. Z procesem przetaczania płytek krwi wiąże się zagadnienie oporności. Zgodnie z definicją rozpoznanie oporności

na przetaczanie ustalane jest, gdy po dwóch kolejnych przetoczeniach skorygowany wzrost liczby płytek krwi w pierwszej godzinie po przetoczeniu jest mniejszy niż 7,5 [3]. Trwające wiele lat badania nad koncentratem płytek krwi udowodniły, że jest to produkt niezwykle pomocny w leczeniu klinicznym. Połączenia koncentratów płytek krwi z lekami zawierającymi zoledronic acid, może zmniejszyć skutki uboczne i wzmocnić działanie leków ze względu na wzajemne oddziaływanie leków i cytokin w koncentraty płytek krwi [5].

Ubogoleukocytarny koncentrat płytek krwi

Ubogoleukocytarny koncentrat płytek krwi otrzymuje się w sposób podobny do ubogoleukocytarnego koncentratu krwinek czerwonych. Preparat ten poddaje się filtrowaniu lub wirowaniu, co powoduje usunięcie ponad 99% krwinek białych, a jednocześnie utratę od 5 do 15% płytek krwi. Liczba leukocytów nie może być wyższa niż 1×10^6 komórek w składniku [3]. Wskazaniem do leczenia tym preparatem chorych jest zaplanowane długie leczenie produktami krwio-pochodnymi.

Koncentraty granulocytarne

Koncentrat granulocytarny jest zawiesiną granulocytów w osoczu, otrzymywany od jednego dawcy metodą aferezy automatycznej przy użyciu separatorów komórkowych, zwanej leukocytoferazą [3]. Pozyskane w ten sposób granulocyty wykazują prawidłową aktywność przez 24 godziny, dlatego też powinny być przetoczone możliwie jak najszybciej. Po upływie 24 godzin preparat traci swoje właściwości, takie jak chemotaksja czy bakteriobójczość. Dawcy podaje się sterydowe czynniki stymulujące i granulocytarny czynnik wzrostu. Zautomatyzowany system rozdziela krew pełną na cztery składniki, w tym resztkową jednostkę leukocytów zawierającą granulocyty [6]. W Polsce produkt ten jest stosowany relatywnie rzadko, ze względu na

niesprecyzowane jak dotąd wskazania oraz dawkowanie. Zaleceniem do stosowania koncentratu granulocytarnego jest neutropenia, wystąpienie gorączki podczas posocznicy bakteryjnej czy hipoplazja linii białokrwinkowej szpiku. Leczenie preparatem powinno trwać nie mniej niż 4 dni, a jego użycie należy rozpatrywać indywidualnie i stosować tylko wtedy, gdy inne metody leczenia nie przynoszą pożądanych skutków. Według ostatnich doniesień dawka granulocytów dla osoby dorosłej powinna wynosić przynajmniej $1,5-3,0 \times 10^8$ granulocytów/kg masy ciała.

Krioprecypitat

Krioprecypitat jest koncentratem osoczowych czynników krzepnięcia: czynnika VIII (globulina przeciwkrwawiaczkowa – czynnik przeciw-hemofilowy A), czynnika von Willebranda (wiąże czynnik VIII, pośredniczy w adhezji płytek krwi), fibrynogenu, czynnika XII i fibronektyny [1]. Preparat pozyskiwany jest z jednostki świeżo mrożonego osocza i zawiera średnio 80–120 jednostek aktywności prokoagulacyjnej czynnika VIII, około 250 mg fibrynogenu, około 20–30% czynnika XIII, 40–60% czynnika von Willebranda. Najlepiej przechowywać go w temperaturze ok. -30°C , nie dłużej niż dwa lata. Pierwotnym zastosowaniem tego produktu było leczenie zaburzeń krzepnięcia, takich jak hemofilia A oraz choroba von Willebranda. Obecnie krioprecypitat stosowany jest dosyć rzadko, jednak nowe badania kliniczne zwiększają zainteresowanie lekarzy tym produktem leczniczym. Krioprecypitat znalazł zastosowanie m.in. w uzupełnieniu fibrynogenu i hamowaniu krwawień. Podsumowanie wskazań zawarto w tabeli 4.

Zalecane jest przetaczanie 1–3 j./10 kg masy ciała. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków FDA (ang. *United States Food and Drug Administration*, FDA) zaleca transfuzję do 6 godzin po rozmrożeniu preparatu, ze względu na szybką utratę aktywności. Transfuzja niesie ze sobą ryzyko przenoszenia m.in. wirusów, podobnie do osocza świeżo mrożonego FFP (ang. *Fresh Frozen*

Tabela 4. Zalecenia dotyczące stosowania krioprecypitatu [2].

Table 4. Recommendations for the use of cryoprecipitate [2].

Zalecenia
Należy przetaczać krioprecypitat u kobiet z krwotokiem poporodowym lub koncentrat fibrynogenu, gdy stężenie fibrynogenu we krwi jest mniejsze niż 2g/L
Należy przetaczać krioprecypitat w przypadku istotnego krwawienia u chorych po dużych urazach, u których występuje deficyt funkcjonalny lub niedobór fibrynogenu poniżej 1,5–2,0 g/l
Należy przetaczać krioprecypitat chorym krwawiącym po leczeniu trombolitycznym, gdy stężenie fibrynogenu we krwi jest mniejsze niż 1g/L
Nie powinno się przetaczać krioprecypitatu po zabiegu operacyjnym pomostowania naczyń wieńcowych, jeśli stężenie fibrynogenu wynosi > 1 g/L

Plasma, FFP) [7], dlatego proces ten musi być dokładnie zaplanowany.

W wielu krajach Unii Europejskiej krioprecypitat nie jest dostępny do zastosowania klinicznego, ponieważ potencjalnie zwiększa ryzyko przenoszenia patogenów, wymagana jest zgodność z układem ABO, dokładne dozowanie jest niemożliwe ze względu na zawartość zmiennego stężenia fibrynogenu, należy go rozmrozić przed infuzją, a ten aspekt stanowi wyraźną wadę w przypadku masywnego krwotoku. Krioprecypitat pozostaje jednak w Wielkiej Brytanii, Stanach Zjednoczonych, Kanadzie, Brazylii i Australii opcją terapeutyczną zastępującą fibrynogen [8].

Osocze świeżo mrożone (FFP)

Osocze świeżo mrożone jest preparatem zamrożonym w określonym przedziale czasowym, zazwyczaj do 8 godzin od pobrania. Produkt ten otrzymuje się z krwi pełnej lub za pomocą metody plazmaferezy manualnej bądź automatycznej. FFP zawiera czynniki krzepnięcia w normalnych stężeniach, z wyjątkiem płytek krwi. Osocze świeżo mrożone zawiera fibrynogen (400 do 900 mg/j.), albuminę, białko C, białko S, antytrombinę, inhibitor szlaku czynnika tkankowego [9]. Standardowa dawka wynosi 10–20 mL/kg masy ciała i jest wystarczająca do osiągnięcia hemostazy. FFP przechowuje się w temperaturze ok. -30°C , nie dłużej niż dwa lata. Przed podaniem preparatu pacjentowi, należy go rozmrozić w temperaturze ok. $30\text{--}37^{\circ}\text{C}$ i natychmiast przetoczyć. Wskazaniami do stosowania preparatu są [1]:

- niedobory wielu czynników krzepnięcia, np. II, V, VII, X, XI, XIII;
- koagulopatia wrodzona bądź nabyta w wyniku masywnego przetoczenia;
- zabiegi wymiany osocza w nabytej i wrodzonej zakrzepowej plamicy małopłytkowej jako płyn zastępczy

Obecnie wskazania kliniczne do stosowania tego preparatu występują rzadko. FFP podawany jest dożylnie, zgodnie z układem ABO biorecy. Nie jest wskazane stosowanie osocza świeżo mrożonego do wyrównywania objętości krwi krążącej, a także, gdy koagulopatię można skuteczniej korygować.

Albuminy

Preparaty albumin zawierają 96% albumin, 4% globulin oraz inne białka [1]. Ludzka albumina jest polipeptydem składającym się z 585 aminokwasów. Jest to cząsteczka stabilna o małej masie cząsteczkowej. Roztwór albuminy stosowany w leczeniu pozyskiwany jest z osocza za pomocą metody Cohna, w której stosowany jest alkohol etylowy,

w celu obniżenia polarności roztworu. Warunki przechowywania określa producent albumin, jednak zazwyczaj zalecane jest przechowywanie ich w temperaturze pokojowej lub w chłodni o temperaturze $4\text{--}6^{\circ}\text{C}$. Albumina dzięki swej strukturze spełnia wiele funkcji – wiąże ligandy i transportuje leki, usuwa wolne rodniki, bierze udział w wewnątrzkomórkowych szlakach sygnałowych, a także udział w procesie agregacji płytek [10].

Zaleceniami do stosowania albumin są stany hipowolemii i niedobialczeni, hipoalbuminemia, rozległe oparzenia oraz plazmafereza lecznicza [1]. Obecnie rośnie liczba badań opisujących wady stosowania albumin oraz ich wpływ na śmiertelność osób ciężko chorych, na co wpływ ma proces frakcjonowania, podczas którego powstają fragmenty polipeptydowe mające negatywny wpływ na układ odpornościowy.

Immunoglobuliny

Immunoglobuliny to glikoproteiny wytwarzane w limfocytach B i plazmocytach, które zdolne są do swoistego łączenia z antygenem. Preparat immunoglobuliny ludzkiej otrzymuje się z puli osocza zdrowych krwiodawców, jest koncentratem przeciwciał o szerokim zakresie swoistości. Preparat podawany domięśniowo zawiera immunoglobuliny klasy G (IgG) oraz klasy M (IgM) i A (IgA), a także niewielkie ilości substancji pomocniczych, takich jak maltoza czy sacharoza [12]. Preparaty podawane drogą dożylną (IVIG) zawierają ponad 90% IgG i mniej niż 3% albumin, natomiast IgM i IgA występują w śladowych ilościach [1]. Okres przydatności wynosi od 18 do 32 dni. Immunoglobuliny mają szerokie zastosowanie, np.: w pierwotnym oraz wtórnym niedoborze odporności (w ponad 200 chorobach genetycznych, charakteryzujących się różnym stopniem upośledzenia odpowiedzi immunologicznej oraz nawracającymi lub niezwykle ciężkimi infekcjami [11] – terapia w tym przypadku trwa zazwyczaj całe życie; w chorobie Kawasaki; w przypadku nawracających zakażeń bakteryjnych lub wirusowych, przy zaburzeniach neurologicznych, takich jak stwardnienie rozsiane, autoimmunologiczne zapalenie mózgu.

Liczne badania kliniczne wykazały, że immunoglobuliny są skuteczne w terapii, jednak odnotowano wiele przykładów, gdy preparat ten wywoływał różne działania niepożądane, jak bóle głowy, gorączkę, nieustające zmęczenie. Są to jednak przykłady łagodnych skutków ubocznych stosowania tego preparatu. Do poważniejszych skutków zalicza się zakrzepicę, arytmie, zaburzenia czynności nerek, aseptyczne zapalenie opon mózgowych czy ostre uszkodzenie płuc [12].

Dawkowanie preparatu uzależnione jest od stanu klinicznego pacjenta oraz jego wieku.

Koncentrat osoczowego czynnika krzepnięcia VIII oraz IX

Czynnik krzepnięcia VIII uzyskiwany z osocza ludzkiego poddawany jest procesom inaktywującym wirusy, ale żadna ze stosowanych metod nie eliminuje całkowicie zagrożenia [1]. Wyróżnia się dwa rodzaje koncentratu czynnika krzepnięcia VIII – osoczo pochodny lub rekombinowany. Są one z powodzeniem stosowane w leczeniu zaburzeń krzepnięcia u osób cierpiących na hemofilię A. Przeciwwskazaniem do stosowania tego preparatu jest choroba von Willebranda, która zaliczana jest do skaz krwotocznych, objawiających się samoistnymi krwawieniami. Dawkowanie czynnika krzepnięcia VIII oraz przewidywany

czas leczenia substytucyjnego zależą od umiejscowienia i nasilenia krwawienia oraz od stopnia niedoboru czynnika [3]. Zależności te zostały przedstawione w tabeli 5.

Dawkowanie preparatu oraz czas leczenia substytucyjnego przedstawione w tabeli 5, zostały opracowane dla pacjentów chorujących na hemofilię typu A.

Koncentrat czynnika krzepnięcia IX, podobnie jak koncentrat czynnika krzepnięcia VIII, poddawany jest procesowi inaktywacji wirusów. Obecnie na rynku dostępne są dwa rodzaje preparatów: kompleks czynnika krzepnięcia IX (zawierający czynnik IX, II, VII, X oraz inne białka) i wysokooczyszczony koncentrat czynnika krzepnięcia IX [1]. Preparat podawany jest osobom z hemofilią B. Dawkowanie i czas leczenia w tym przypadku są zależne od rodzaju leczenia substytucyjnego, co przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 5. Zastosowanie koncentratu czynnika VIII [2].

Tabela 5. Application of factor VIII concentrate [2].

Wskazanie	Dawka koncentratu (j./kg m.c.)	Czas leczenia (dni)
Wylewy krwi do stawów i mięśni, krwawienia z nosa, z dziąseł	20–30	1–2, jeśli efekt zbyt słaby, zwiększyć dawki i przedłużyć czas leczenia
Głębokie zranienia	40–50	1–3
Mięsień biodrowo-łędźwiowy: początkowo	40–50	1–2, 3–5, niekiedy dłużej + wtórna profilaktyka
następnie	15–30	
Centralny układ nerwowy/głowa: początkowo	60–80	1–7
następnie	30	
Wylewy krwi do dna jamy ustnej i szyi: początkowo	40–50	1–7
następnie	25	
Istotny klinicznie krwimocz	25	5–7
Zabiegi chirurgiczne: przed zabiegiem	20–30	4–6
po zabiegu	1–25	

Tabela 6. Zastosowanie koncentratu czynnika IX [2]. Zalecenia dotyczące dawki i czasu leczenia zostały opracowane dla osób, u których stwierdzono ciężką lub umiarkowaną hemofilię B.

Table 6. The use of factor IX concentrate [2]. Recommendations for dose and duration of treatment have been developed for people who with severe or moderate haemophilia B.

Wskazanie	Dawka koncentratu (j./kg m.c.)	Czas leczenia (dni)
Wylewy krwi do stawów i mięśni, krwawienia z nosa, z dziąseł	40–60	1–2, jeśli efekt zbyt słaby, zwiększyć dawki i przedłużyć czas leczenia
Mięsień biodrowo-łędźwiowy: początkowo	60–80	3–5, niekiedy dłużej + wtórna profilaktyka
następnie	30–60	
Centralny układ nerwowy/głowa: początkowo	60–80	1–7
następnie	30	
Istotny klinicznie krwimocz	40	3–5
Głębokie zranienia	40	5–7
Zabiegi chirurgiczne: przed zabiegiem	60–80	1–3
po zabiegu	40–60	
	30–50	4–6
	20–40	7–14

Perspektywy produkcji substytutów krwi

Transfuzja krwi należy do jednych z najczęściej wykonywanych zabiegów leczniczych, do czego przyczynił się wzrost bezpieczeństwa produktów krwiopochodnych. Bezproblemowy dostęp do krwi można uznać za jeden z czynników hamujących przez wiele lat badania dotyczące idealnego substytutu krwi. Obecnie rozwój technologii przyczynił się do wytworzenia skutecznych preparatów krwiozastępczych. Środki krwiozastępcze są to płyny o właściwościach osmotycznych i mechanicznych zbliżonych do naturalnej krwi [1] i dzieli się je na środki zastępcze osocza oraz preparaty ze zdolnością do odwracalnego wiązania tlenu. Środki zastępcze osocza stosowane są, aby zwiększyć jego objętość.

Koloidy jako środki zastępcze osocza

Koloidy są wodnymi roztworami substancji wielkocząsteczkowych, najczęściej polimerów glukozy [1]. Rezultatem podania koloidów jest zwiększenie objętości krwi, a także przywrócenie prawidłowej perfuzji. Poprzez zwiększenie koloidowego ciśnienia onkotycznego COP (ang. *Colloid Osmotic Pressure*, COP), koloidy służą do minimalizacji powstawania obrzęków, które mogą opóźnić dostarczanie tlenu i upośledzać funkcję narządów [13]. Roztwory te nie utrzymują się długo w organizmie człowieka, bowiem są dosyć szybko usuwane przez nerki. Uważa się, że koloidy lepiej podtrzymują prawidłową czynność nerek niż krystaloidy, które również należą do środków zastępczych osocza. Wskazaniami do zastosowania koloidów są oparzenia, urazy, oligowolemia. Roztwory koloidowe dzieli się na dekstrany, preparaty żelatynowe oraz skrobię hydroksyetylowaną [1].

Dekstran to wielocukier zbudowany z glukozy. Charakteryzuje się doskonałą rozpuszczalnością w wodzie, biokompatybilnością i biodegradowalnością, a także może poprawiać stabilność układu dostarczania leków [14]. Wykazuje zdolność do ochrony erytrocytów przed hemolizą w niskim pH. W medycynie stosowane są aktualnie dwa rodzaje dekstranów – dekstran 40 oraz 70. Dekstran 40 jest 10% roztworem polimeru o masie cząsteczkowej 40 000 u, który m.in. powoduje przesunięcia wody z przestrzeni pozanaczyniowej do naczyń [1]. Działanie tego roztworu jest dosyć krótkie, bowiem nerki wydalają go już po około 3–4 godzinach. Warto zaznaczyć, że jest mniej skuteczny niż dekstran 70, jednak wywiera większe korzyści dla organizmu. Natomiast Dekstran 70 jest roztworem 4–6% polimeru o większej masie cząsteczkowej, ok. 70 000 u. Dekstrany

stosuje się w przypadku wstrząsu hipowolemicznego, zaburzeń mikrokrążenia, a także w leczeniu operacyjnym naczyń krwionośnych.

Kolejnym rodzajem koloidów stosowanych w medycynie są preparaty żelatynowe, uzyskiwane z hydrolizy kolagenu bydłęcego. Wykazują one działanie krótkotrwałe, gdyż są usuwane przez nerki już w ciągu dwóch godzin od podania. Zmodyfikowana płynna żelatyna – syntetyczny koloid stosowany do uzupełniania objętości, jest izoonkocyczna w stosunku do osocza i jej okres półtrwania wynosi cztery godziny [15]. Zastosowanie żelatyny jako substytutu osocza ma wiele wad, ponieważ preparaty takie muszą być poddawane modyfikacji w celu poprawienia ich właściwości fizycznych oraz chemicznych. Wykazano szkodliwy wpływ preparatów żelatynowych na nerki oraz na krzepliwość krwi *in vitro*. Preparaty stosuje się w przypadku oparzeń, hemodializy oraz szczególnie hipowolemii.

Kolejnym rodzajem koloidów jest skrobia hydroksyetylowana, która jako ostatnia została zaliczona do sztucznych koloidów. Jest to rozgałęziony polimer glukozy, rozszerzający i uszczelniający naczynia kapilarne [15]. Wyróżnia się wiele rodzajów skrobi hydroksyetylowanej, np.: hydroksyetyloskrobia 200/0,5 (stosowana najczęściej w Europie), hydroksyetyloskrobia 450/0,7 lub 670/0,75 (stosowana w USA). Skrobie natywne są szybko hydrolizowane przez α -amylazę osocza, dlatego związki hydroksyetyloskrobi są chemicznie modyfikowane przez hydroksyetylowanie na atomach węgla podjednostki glukozy [16]. Skrobia hydroksyetylowana była stosowana w przypadku znacznej utraty krwi lub osocza, hemodilucji, stanów septycznych oraz w leczeniu urazów i oparzeń. Europejska Agencja Leków EMA (ang. *European Medicines Agency*) 26 stycznia 2018 r. zawiesiła pozwolenia na dopuszczenie do obrotu roztworów hydroksyetyloskrobi HES (ang. *Hydroxy Ethyl Starch*) w całej Unii Europejskiej. Taka decyzja została podjęta ze względu na występowanie licznych działań niepożądanych, bez odnoszenia wyraźnych korzyści ze stosowania HES dla pacjentów. Koagulopatia indukowana przez HES zwiększa ryzyko krwawienia i zapotrzebowanie na produkty krwiopochodne u pacjentów z sepsą, pacjentów oddziału intensywnej terapii oraz poddawanych poważnym zabiegom chirurgicznym.

Krystaloidy jako środki zastępcze osocza

Krystaloidy są wodnymi roztworami elektrolitów i niskocząsteczkowych węglowodorów [1]. Mogą być izotoniczne, hipotoniczne lub hipertoniczne w stosunku do osocza. Roztwory

izotoniczne powodują zwiększenie objętości wody w organizmie. Aby zbuforować roztwór krystaloidów do zbliżonego pH fizjologicznego, dodaje się do niego octan, jabłczan oraz mleczan [17]. Płyny krystaloidów są bardzo łatwe do podania, jednak utrzymują się w organizmie krótko (już po godzinie ich stężenie maleje o 80%), co związane jest z ich dyfuzją poprzez naczynia włosowate. Głównymi wskazaniami do zastosowania krystaloidów w płynoterapii są: zabezpieczenie podstawowego zapotrzebowania na płyny, wyrównanie strat płynów oraz wyeliminowanie zaburzeń elektrolitowych w organizmie [18]. Stosowane obecnie roztwory krystaloidów to 0,9% roztwór fizjologiczny NaCl, płyn wieloelektrolitowy, roztwór Ringera oraz 5% glukoza.

Najczęściej stosowanym płynem w medycynie podawanym dożylnie jest 0,9% roztwór NaCl. Roztwór zawiera jony sodu oraz chlorku, które odpowiadają za utrzymanie prawidłowego ciśnienia osmotycznego. Z powodzeniem stosowany jest do resuscytacji, ze względu na znikome skutki uboczne, co wykazało wiele randomizowanych badań. W jednym z największych randomizowanych badań, Saline versus Albumin Fluid Evaluation (SAFE), zbadano wpływ soli fizjologicznej w porównaniu z koloidem (4% roztworu albuminy ludzkiej) u około 7000 pacjentów w stanie krytycznym, wymagających resuscytacji płynowej wewnątrznaczyniowej [19]. Badania te wykazały, że zastosowanie soli fizjologicznej jest równie skuteczne jak zastosowanie albumin w przypadkach terapii nerkozastępczej. Często obserwowanym niepożądanym objawem jest wystąpienie kwasicy hiperchloremicznej. Wskazaniami do stosowania 0,9% roztworu NaCl jest uzupełnianie płynów w odwodnieniu izotonicznym (po wymiotach, bieguncie, oparzeniach) oraz uzupełnianie płynów w odwodnieniu hipotonicznym (w niewydolności nerek i kory nadnerczy, po wymiotach i bieguncie) [1].

Płyn wieloelektrolitowy (PWE) pod względem składu elektrolitowego jest zbliżony do osocza, bowiem zawiera chlorki sodu, potasu, magnezu i wapnia. Podawanie go pacjentom jedynie uzupełnia niedobory płynu tkankowego, ponieważ roztwór ten pozbawiony jest układów buforujących oraz niektórych makrocząsteczek. Wskazania do stosowania PWE:

- zaburzenia wodno-elektrolitowe przy niedostatecznej doustnej podaży płynów;
- w okresie pooperacyjnym,
- przy nadmiernej utracie płynów i elektrolitów spowodowanej wymiotami oraz biegunką [1].

Należy jednak pamiętać, aby przestrzegać odpowiedniej szybkości wlewu, która zależna jest od stanu pacjenta, ponieważ w przypadku

szybkiego tempa podawania płynu może wystąpić obrzęk płuc, a także niewydolność krążenia.

Kolejnym przykładem krystaloidów jest hipertoniczny roztwór Ringera, który w swoim składzie zawiera jony potasu i wapnia. Podobnie jak płyn wieloelektrolitowy, płyn Ringera ma skład zbliżony do osocza. Podaje się go dożylnie nie szybciej niż 10 mL/min. Wskazaniami do stosowania płynu Ringera są: odwodnienie izoosmotyczne i hiposmotyczne, niedobory elektrolitowe, nawadnianie w okresie okołoperacyjnym oraz wypełnianie łożyska naczyniowego we wstrząsie [1].

Ostatnim przykładem krystaloidów jest 5% roztwór glukozy, który pozbawiony jest dodatkowych jonów. Stanowi on roztwór izoosmotyczny w stosunku do osocza krwi. Glukoza podlega stosunkowo szybkiemu metabolizmowi, co w teorii prowadzi do rozcieńczania składu płynów ustrojowych. Należy zoptymalizować szybkość podawania roztworu glukozy, ze względu na możliwość wystąpienia diurezy osmotycznej. Stosowanie roztworu zalecane jest w przypadku niedoborów węglowodanów, hipoglikemii i śpiączki hipoglikemicznej oraz w leczeniu kwasicy ketonowej [1].

Problemy związane z uzyskaniem sztucznej krwi

Pomimo ogromnego rozwoju technologicznego obserwowanego na przestrzeni kilku ostatnich dziesięcioleci, badacze nie zaproponowali żadnej substancji, o której można powiedzieć, że spełnia wszystkie wymagania stawiane tzw. sztucznej krwi. Biorąc pod uwagę mnogość funkcji pełnionych przez krew oraz jej skomplikowaną budowę i proces powstawania, trzeba zadać pytanie, czy istnieje możliwość zaprojektowania skutecznego substytutu krwi. Liczne problemy i ograniczenia obecne w transfuzjologii, takie jak powtarzające się niedobory krwi w bankach, szczególnie latem oraz zimą, problemy związane z dostępnością produktów krwiopochodnych, potrzebą testowania zgodności grup krwi oraz z wymaganiami dotyczącymi przechowywania i transportu produktów krwiopochodnych [20], ryzyko przeniesienia chorób wirusowych, skłania jednak do poszukiwania substancji lub preparatu złożonego, który pozwoliłby na ich wyeliminowanie przy zachowaniu pełnej dostępności, bezpieczeństwa i skuteczności terapii.

Idealny zamiennik krwi powinien charakteryzować się cechami:

- bezpieczny w użyciu zarówno dla pacjenta, jak i osób podających leki;
- potrafiący transportować tlen i zastępować inne funkcje krwi;
- stabilny w przypadku przechowywania [21].

Przeprowadzono wiele badań dotyczących produkcji sztucznej krwi, lecz żadne z ich nie przyniosło w pełni zadowalających efektów. Interesującą opcją terapeutyczną są preparaty zaliczane do nośników gazów oddechowych. Pierwszym takim produktem jest opisany przez Clarka i Gollana w 1966 r. perfluorowęglowodór PFC (ang. *perfluorocarbon*) [22]. W badaniu wykazali, że myszy mogą przeżyć po zanurzeniu w natlenionym roztworze PFC. Perfluorowęglowodór to syntetyczna cząsteczka składająca się z atomów węgla i fluoru, których oddziaływanie tworzy długie wiązanie chroniące je przed degradacją chemiczną, a jony fluoru tworzą wokół cząsteczki tarczę elektronegatywną (20). Przeprowadzono ponad 250 badań przedklinicznych, które wykazały niewystarczającą skuteczność tego produktu. Problemem stała się jednak kosztowna produkcja (oczekuje się, że sztuczna krew nie powinna wiązać się z wysokimi kosztami produkcji) oraz wady kliniczne. U pacjentów poddanych terapii PFC odnotowano zmniejszenie liczby płytek krwi oraz gorączkę. Ze względu na to, że wstępne badania kliniczne z tymi produktami wykazują brak korzystnych wyników, obecnie nie są prowadzone żadne badania z PFC (20).

Innym rodzajem tlenowych środków terapeutycznych są substancje produkowane na bazie hemoglobiny. Jednak w tym przypadku ponownie pojawiły się pewne ograniczenia, dotyczące m.in. problemów ze stabilnością hemoglobiny. Aby zniwelować ten problem, zastosowano chemiczne sieciowanie cząsteczek albo wykorzystanie technologii rekombinacji DNA w celu wytworzenia zmodyfikowanych białek (21). Liczne niepowodzenia dotyczące wcześniej wymienionych badań nad tlenowymi środkami terapeutycznymi doprowadziły do poszukiwania substancji, która będzie mogła ominąć wszelkie dotychczas odnotowane ograniczenia chemiczne oraz biofizyczne.

Zasadność ekonomiczna opracowania substytutów krwi

Istotną kwestią związaną z opracowaniem nowych leków, jest kwestia opłacalności produkcji, czy też ewentualne poprawienie funkcjonowania istniejącego modelu leczenia.

W omawianej sytuacji, znaczące problemy wynikają z zakłóceń m.in. sezonowych w pozyskiwaniu krwi od dawców. oczywiste koszty związane z funkcjonowaniem Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK), oraz ograniczony okres przydatności do użycia preparatów wytworzonych na bazie krwi, jak i samej krwi. W pracy Rosiek (23) podsumowującej działanie RCKiK w Polsce w 2019 opisano

szczegółowo dane dotyczące ilości dawców i pobranej krwi i pochodnych – od ponad 590 tys dawców pobrano ponad 1.2 miliona jednostek krwi pełnej konserwowanej (KPK), ale co szczególnie uderzające wskazano na konieczność utylizacji 103 487 jednostek krwi i jej pochodnych, co wskazuje, że zjawisko nie jest marginalne. Wskazane przyczyny utylizacji to przede wszystkim przeterminowanie, ale także dodatnie wyniki testów wirusologicznych. W kwestii dostępności krwi i jej pochodnych, autorzy wskazują na spadającą liczbę potencjalnych dawców, wraz ze zmniejszaniem się liczby osób w odpowiednim przedziale wiekowym.

Koszty stosowania preparatów krwi w Polsce są regulowane przez rozporządzenia ministra zdrowia [24]. Od 1 stycznia 2022 r. ustalono opłaty za krew i jej składniki:

- za jednostkę krwi pełnej konserwowanej – 275 zł;
- za jednostkę koncentratu krwinek czerwonych z krwi pełnej – 186 zł;
- za jednostkę koncentratu krwinek czerwonych z aferezy 263 zł;
- za dawkę terapeutyczną ubogoleukocytarnego koncentratu krwinek płytkowych z krwi pełnej – 558,60 zł;
- za dawkę terapeutyczną ubogoleukocytarnego koncentratu krwinek płytkowych z aferezy 1000 zł;
- za jednostkę koncentratu granulocytarnego – 1255 zł;
- za jednostkę osocza świeżo mrożonego – 100 zł;
- za jednostkę krioprecypitatu – 195 zł

Jednocześnie określono poziomy odpłatności związane z dodatkowym przygotowaniem preparatów, np. napromienianiem. Są to koszty ponoszone przez placówki, pobierające od RCKiK krew i preparaty krwi.

Wydaje się jasne, że wprowadzenie do praktyki odpowiedniego jakościowo substytutu krwi, pozwoliłoby na uniknięcie marnotrawstwa przygotowanych preparatów, przyczyniło się do poprawy dostępności tej opcji terapeutycznej, a przez to poprawiło efektywność kosztową leczenia krwią.

Piśmiennictwo

1. Niechwiadowicz-Czapka T, Klimczyk A. Leczenie krwią. PZWL, 2011.
2. <https://krwiodawcy.org/produkty-krwiopochodne-opisy>.
3. Wytyczne w zakresie leczenia krwią i jej składnikami oraz produktami krwiopochodnymi w podmiotach leczniczych (online) 2014. Dostępne w internecie: [https://www.rckik.wroclaw.pl/userfiles/files/Wytyczne_internet_aktywny_spis_treci\(8\).pdf](https://www.rckik.wroclaw.pl/userfiles/files/Wytyczne_internet_aktywny_spis_treci(8).pdf). Dostęp 30.06.2022.
4. Płodzich A, Lachert E, Kubis J, Antoniewicz-Papis J, Rudowska E, Bukowy M, Drybańska B, Dyląg S, Łętowska M. Oznaczenie leukocytów w ubogoleukocytarnych składnikach krwi

- w systemie ADAM r-WBC. *Journal of Transfusion Medicine* 2015; 8(3): 97–108.
5. Ding ZY, Tan Y, Peng Q, Zuo J, Li N. Novel applications of platelet concentrates in tissue regeneration (Review). *Exp Ther Med.* 2021; 21(3): 226. doi: 10.3892/etm.2021.9657.
 6. Sahlin A, Blomgran R, Berlin G. Granulocyte concentrates prepared from residual leukocyte units produced by the Reveos automated blood processing system. *Transfusion and Apheresis Science* 2020; 59(2). doi: 10.1016/j.transci.2019.102682.
 7. Franchini M, Favaloro EJ, Targher G, Lippi G. ABO blood group, hypercoagulability, and cardiovascular and cancer risk. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2012; 49(4): 137–149. doi: 10.3109/10408363.2012.708647.
 8. Soundar E, Reyes M, Korte L, Bracey A. Characteristics of thawed pooled cryoprecipitate stored at refrigerated temperature for 24 hours. *Blood transfusion* 2017; 16(5): 1–4. doi: 10.2450/2017.0133–17.
 9. Khawar H, Kelley W, Stevens JB, Guzman N. Fresh Frozen Plasma (FFP). In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2021. PMID: 30020719.
 10. Moujaess E, Fakhoury M, Assi T, Elias H, El Karak F, Ghosn M, Kattan J. The Therapeutic use of human albumin in cancer patients' management. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017; 120(12): 203–209. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.11.008.
 11. Pecoraro A, Crescenzi L, Granata F, Genovese A, Spadaro G. Immunoglobulin replacement therapy in primary and secondary antibody deficiency: The correct clinical approach. *Int Immunopharmacol.* 2017; 52(11): 136–142. doi: 10.1016/j.intimp.2017.09.005.
 12. Guo Y, Tian X, Wang X, Xiao Z. Adverse Effects of Immunoglobulin Therapy. *Front Immunol.* 2018; 8(6): 9: 1299. doi: 10.3389/fimmu.2018.01299.
 13. Davidson IJ. Renal impact of fluid management with colloids: a comparative review. *Eur J Anaesthesiol.* 2006; 23(9): 721–738. doi: 10.1017/S0265021506000639.
 14. Chen C, Wang Z, Zhang J, Fan X, Xu L, Tang X. Dextran–Conjugated Caged siRNA Nanoparticles for Photochemical Regulation of RNAi–Induced Gene Silencing in Cells and Mice. *Bioconjug Chem.* 2019; 15; 30(5): 1459–1465. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.9b00204.
 15. Soares RR, Ferber L, Lorentz MN, Soldati MT. Reposição volêmica intraoperatória: cristaloides versus coloides em revascularização cirúrgica do miocárdio sem circulação extracorpórea [Intraoperative volume replacement: crystalloids versus colloids in surgical myocardial revascularization without cardiopulmonary bypass]. *Rev Bras Anesthesiol.* 2009; 59(4): 439–451. doi: 10.1590/s0034-70942009000400006.
 16. Jungheinrich C, Neff TA. Pharmacokinetics of hydroxyethyl starch. *Clin Pharmacokinet.* 2005; 44(7): 681–699. doi: 10.2165/00003088-200544070-00002.
 17. Kemp M. Crystalloids and colloids. *Southern African Journal of Anaesthesia and Analgesia.* doi: 10.36303/SAJA-A.2020.26.6.S3.2544.
 18. Słężak D, Nadolny K, Basinski A, Ladny JR, Krzyzanowski K, Andrejanczyk, Żuratynski P. Fluid resuscitation in pre-hospital care. *Postępy Nauk Medycznych* 2018; 4: 236–240.
 19. Ince C, Groeneveld AB. The case for 0.9% NaCl: is the undefendable, defensible? *Kidney Int.* 2014; 86(6): 1087–1095. doi: 10.1038/ki.2014.193.
 20. Khan F, Singh K, Friedman MT. Artificial Blood: The History and Current Perspectives of Blood Substitutes. *Discoveries (Craiova).* 2020; 8(1): e104. doi: 10.15190/d.2020.1.
 21. Sarkar S. Artificial blood. *Indian J Crit Care Med.* 2008; 12(3): 140–144. doi: 10.4103/0972-5229.43685.
 22. Clark LC Jr, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science* 1966; 152(3730): 1755–1756. doi: 10.1126/science.152.3730.1755.
 23. Rosiek A, Tomaszewska A, Antoniewicz–Papis J, Lachert E, Łetowska M. Blood transfusion service in Poland in 2019. *Journal of Transfusion Medicine* 2020; 13(4): 212–227. doi: 10.5603/JTM.2020.0008
 24. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 lipca 2021 r. w sprawie określenia wysokości opłat za krew i jej składniki w 2022 r. Dostępne w internecie: <https://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/DocDetails.xsp?id=WDU20210001353>. Dostęp 30.06.2022.