

615.381.018.51:615.44

POUŽITÍ KYSELÉHO GLUKÓZO-CITRONANOVÉHO ROZTOKU S DEXTRANEM KE KONZERVACI KRVE

MUDr. Eduard DOBRÝ, CSc., MUDr. Jaroslav FIALA,
technická spolupráce: Jiří LIVORA, Ladislav VIKTORA
Ústav hematologie a krevní transfúze v Praze, ředitel prof. MUDr. J. HOŘEJŠÍ, DrSc.,
člen korespondent ČSAV

Po uspokojivých zkušenostech s konzervací erytrocytové masy, resuspendované v roztoku obsahujícím vedle glukózy a fosforečnanového ústoje dextran, což umožňuje aplikaci erytrocytové masy při šokových stavech (4), jsme se zabývali otázkou, zda je možno využít dextranu i při konzervaci celé krve. Kombinace krve s dextranem při terapii velkých krvácení je možná a výhodná. Bylo zjištěno, že do šesti hodin po aplikaci u vykrváčených zvířat udržuje směs krve s dextranem v poměru 1 : 1 spolehlivě krevní objem (9). V dalším průběhu je možno pozorovat v kostní dřeni aktivaci krvetvorby, která je vysvětlována stimulačním účinkem makromolekulárního roztoku dextranu na RES a hemopoézu (10).

Protože v některých případech, o nichž se zmíníme později, by bylo vhodné připravovat přímo konzervy krve s dextranem, chtěli jsme posoudit tuto kombinaci z hlediska konzervace krve. Pokud je nám známo, nebyla tomuto způsobu konzervace dosud věnována pozornost; výše zmíněné práce (9, 10 a 11) hodnotí pouze některé transfúzní účinky směsi dextranu a krve na organismus příjemce.

Materiál a metodika

Když jsme zjistili, že přidání samotného 6% dextranu v izotonickém roztoku chloridu sodného působí zvýšenou hemolýzu červených krvinek po 14 dnech skladování, zatímco použití dextranového roztoku s fosfátovým ústojem dává lepší výsledky, sestavili jsme tyto konzervační roztoky s dextranem:

Roztok DK 1:

Rp. Citronan sodný —

Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ .2H ₂ O	1,1 g
Kyselina citronová —	
C ₆ H ₈ O ₇ .H ₂ O	0,4 g
Glukóza — C ₆ H ₁₂ O ₆	1,0 g
Střední fosforečnan sodný —	
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	1,8 g
Voda na injekci	100,0 ml
Dextran 6% Spofa	300,0 ml
pH roztoku 6,2	

Roztok DK 2:

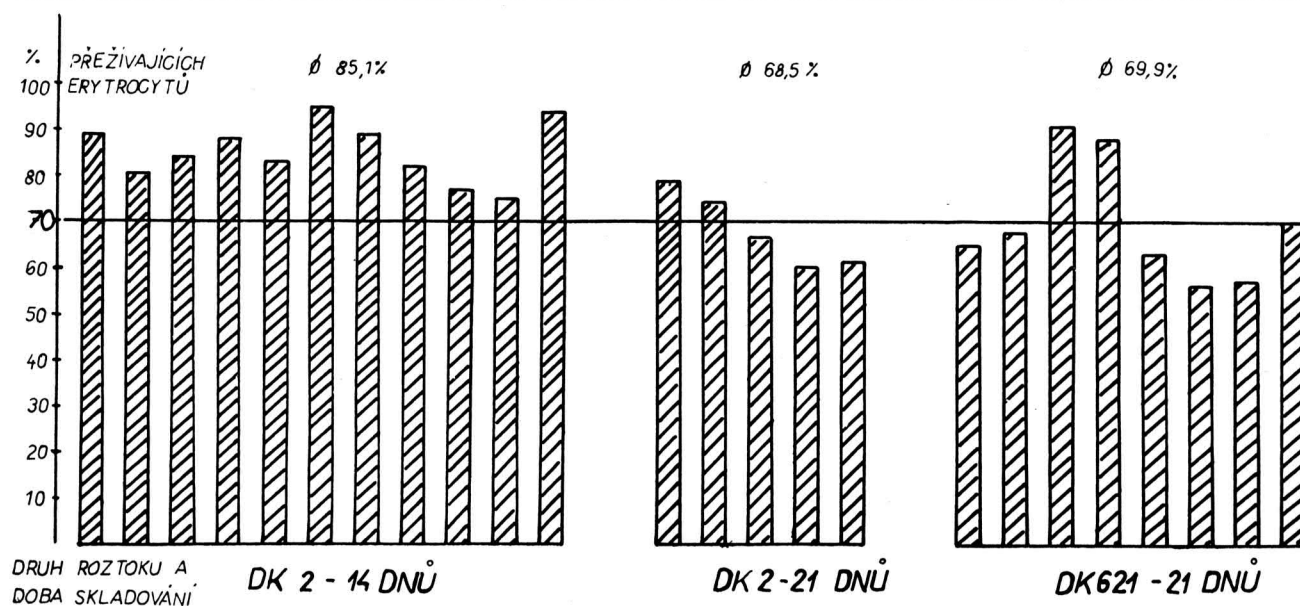
Rp. Citronan sodný —

Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ .2H ₂ O	2,0 g
Glukóza — C ₆ H ₁₂ O ₆	2,2 g
5% kyselina fosforečná —	
H ₃ PO ₄	0,5 ml
Voda na injekci	100,0 ml
Dextran 6% Spofa	300,0 ml
pH roztoku 6,3	

Roztok DK 3:

Rp. Citronan sodný —

Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ .2H ₂ O	1,4 g
Střední fosforečnan sodný —	
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	1,1 g
Kyselý fosforečnan sodný —	
NaH ₂ PO ₄ .12H ₂ O	0,4 g
Glukóza — C ₆ H ₁₂ O ₆	1,0 g



Voda na injekci 100,0 ml
 Dextran 6⁰/₀ Spofa 300,0 ml
 pH roztoku 6,6

Roztok DK 621:

Rp. Citronan sodný —

Na₃C₆H₅O₇·2H₂O 1,1 g
 Kyselina citronová —
 C₆H₈O₇·H₂O 0,4 g
 Glukóza — C₆H₁₂O₆ 2,5 g
 Kyselý fosforečnan sodný —
 NaH₂PO₄·12H₂O 0,1 g
 Střední fosforečnan sodný —
 Na₂HPO₄·2H₂O 0,3 g
 Voda na injekci 100,0 ml
 Dextran 6⁰/₀ Spofa 300,0 ml

pH roztoku 5,0

Poměr roztok: krev byl vždy 1 : 1.

K pokusům in vitro jsme do 40 ml uvedených roztoků odbírali 40 ml krve obvyklým způsobem. Po smíšení roztoku s krví bylo pH při použití roztoku DK 1, DK 2 a DK 3 7,2, při použití roztoku DK 621 6,9.

Po odběru byly vzorky krve uskladněny v chladnici při teplotě +2 až +4° C. Za 2, 8, 15, 22 a 28 dní skladování bylo po promíchání vzorků odebráno množství krve potřebné k vyšetření, načež byly vzorky opět uloženy v chladnici.

Z prováděných testů in vitro uvedeme stanovení volného hemoglobinu, které bylo prováděno metodou Crosbyho (2) a vyšetření minimální osmotické rezistence červených krvinek, prováděné klasickou metodou za makroskopického odčítání hemolýzy (5).

Vyšetření potransfúzního přežívání takto konzervovaných erytrocytů bylo sledováno technikou diferenciální aglutinace v modifikaci Molli-sonově při stanovení krevního objemu (1). Byla převáděna směs 225 ml krve a 225 ml roztoku.

Výsledky

Výsledky vyšetření volného hemoglobinu a osmotické odolnosti erytrocytů jsou uvedeny v tab. 1 a 2. Jde o průměrné hodnoty z 6 až 12 vyšetření. Výsledky vyšetření in vitro se u jednotlivých roztoků prakticky nelišily.

Z těchto výsledků bylo možno uzavřít, že takto konzervované krvinky by mohly být vhodné k transfúzi nejméně do 22. dne skladování.

Krev konzervovaná v roztoku DK 2 a skladovaná 14 dní jsme převedli 11 příjemcům. Výsledky jsou uvedeny na grafu 1.

Výsledky potransfúzního přežívání ukázaly, že tato krev se plně hodí k transfúzi po 14 dnech skladování. Ve všech případech přeživalo za 24 hodin po transfúzi více než 70 % převedených erytrocytů, průměrně 85 %.

Proto jsme přistoupili k převodu krve skladované 21 dnů, a to konzervované jednak v roztoku DK 2, jednak v roztoku DK 621; v obou případech přežívání, jak je rovněž patrné z grafu 1, nebylo uspokojivé.

Diskuse

Je známo, že při léčení masivního krvácení jde především o vyrovnání volumového deficitu a tím o úpravu objemových poruch, zatím co na počtu erytrocytů záleží podstatně méně; ztráty převyšující 20 % objemu cirkulující krve jsou již nebezpečné, počet erytrocytů mezi 20 až 30 % normální hodnoty však organismus snáší poměrně dobře (6, 12). Je tedy možné při náhradě 1500 až 4000 ml ztracené krve transfúzí použít kombinace náhradního roztoku s krví v poměru 1 : 1. Při tomto postupu hematokrit neklesne pod 25 objemových procent. Za normálních okolností je jisté možno kombinovat převod náhradního roztoku s krví, popřípadě s erytrocytovou masou podle potřeby.

K posouzení možnosti konzervace krve s dextranem jsme přistoupili především z hlediska

Tabulka 1

Výsledky vyšetření volného hemoglobinu v mg %
2., 8., 15., 22. a 28. dne skladování v roztocích
DK 1, DK 2, DK 3 a DK 621.

Den skladování	DK 1	DK 2	DK 3	DK 621
2.	2	3	2	4
8.	11	12	7	10
15.	32	40	29	32
22.	61	49	48	54
28.	88	89	91	91

použití této směsi za mimořádných okolností. Smíšením jednoho objemu konzervačního roztoku s dextranem a jednoho objemu krve se získá transfúzní přípravek vhodný pro léčení akutní ztráty krve.

Lze předpokládat, že v těžkých podmínkách by odběr krve v množství 400 a 450 ml byl spojen s určitým rizikem pro dárce. Příprava krevních konzerv s menším obsahem je však z hlediska transportu nevýhodná. Námi zkoušený způsob by umožnil i při odběrech pouhých 200 až 250 ml krve připravovat dostatečně naplněné konzervy. Tento způsob by znamenal snížení požadavků na dopravu i na materiál ve srovnání s tím, že by se dopravovaly částečně naplněné krevní konzervy a zvláště láhve s náhradním roztokem.

Výsledky potransfúzního přežívání ukázaly, že expirační doba krve konzervované s dextranovým konzervačním roztokem je mezi 14. a 21. dnem skladování, tedy poněkud kratší než při běžné konzervaci v roztoku ACD. Příčinu poněkud zkráceného přežívání zatím nedovedeme vysvětlit. Toto pozorování však souhlasí s výsledky vyšetření in vitro těch autorů, kteří sledovali in vitro vliv větších ředění krve konzervačním roztokem. Tak DeGowin (3) uvádí rychlejší nástup hemolýzy z roztoku, který kromě dextranu má obdobné složení (kyselina citronová, citrnan sodný, glukóza, chlorid sodný) jako námi používané roztoky, při jeho poměru ke krvi v poměru 1 : 1. Podobně Krajinjev a spol. (7) získali při použití stejných dílů konzervačního roztoku a krve horší výsledky in vitro než při jednom dílu roztoku na 10 dílů krve. Rovněž Rapoport (8) uvádí nejlepší výsledky při ředění krve 10 až 25 % konzervačního roztoku.

Přesto, že uvedený způsob konzervace krve s dextranem zkracuje v důsledku vysokého ředění krve expirační dobu téměř o týden proti normální konzervaci v ACD roztoku, soudíme, že za určitých okolností jeho použití může být výhodné.

Souhrn

Byla sledována možnost konzervace krve směsí roztoku ACD s dextranem; poměr krve s konzervačním roztokem obsahujícím dextran byl 1:1. Takto

Tabulka 2

Výsledky vyšetření osmotické odolnosti erytrocytů
v % NaCl 2., 8., 15., 22. a 28. den skladování v roztocích
DK 1, DK 2, DK 3 a DK 621.

Den skladování	DK 1	DK 2	DK 3	DK 621
2.	0,47	0,52	0,47	0,52
8.	0,53	0,57	0,53	0,57
15.	0,58	0,61	0,58	0,61
22.	0,63	0,63	0,63	0,65
28.	0,69	0,71	0,69	0,69

konzervovaná krev by byla vhodná při léčení masivní ztráty krve zvláště za mimořádných okolností. Výsledky potransfúzního přežívání erytrocytů ukázaly, že takto konzervovaná krev je použitelná spolehlivě do 14 dnů skladování, kdy za 24 hodin přežívá po transfúzi 85 % převedených erytrocytů. 21. den skladování je potransfúzní přežívání červených krvinek již neuspokojivé.

Резюме

Изучались возможности консервирования крови с помощью смеси растворов АГД (кислого глюкозо-цитрата) и декстрана; кровь и консервант с декстраном брались в пропорции 1:1. Консервированную указанным способом кровь можно было бы с успехом применять в случаях массовой потери крови, в особенности в чрезвычайных условиях. При исследовании посттрансфузионной выживаемости эритроцитов было установлено, что консервированную описанным путем кровь можно считать надежным средством лечения вплоть до 14 дня ее хранения, так как на протяжении этих 14 дней через сутки после переливания крови остаются выжившими 85 % введенных эритроцитов. На 21 день хранения посттрансфузионная выживаемость эритроцитов бывает уже неудовлетворительной.

Summary

Storage of blood using a mixture of ACD solution with dextran was studied. The ratio of blood to the anti-coagulant solution was 1:1. Blood stored by this method would be useful in gross blood loss, particularly under extraordinary conditions. Investigation of the survival-time of the transfused erythrocytes showed that blood stored by the above described method may be safely used for a period up to fourteen days; after fourteen days of storage survive 85 per cent of the transfused erythrocytes; after 21 days of storage the post-transfusion survival of the erythrocytes is already unsatisfactory.

Písemnictví

1. Brabec V., Fiala J., Dobrý E.: Vnitřní lékař. 4/12:1093—1099, 1958.
2. Crosby W. H., Furth F. W.: Blood 11/4:380—383, 1956.
3. DeGowin E. L., Hardin R. C., Alsever J. B.: Blood transfusion, Saunders, Philadelphia & London 1949, str. 330—331.
4. Dobrý E., Fiala J., Urbancová J.: Čas. lék. čes. 100/15, 470—473, 1961.

5. Donner L.: Hematologie, Stát. ped. nakl., Praha 1953.
6. Hejhal L., Štěrba O., Firt P.: Rozhl. Chir. 36/4: 225—234, 1957.
7. Krajnjev S. I., Pjatnickij N. P., Seljukova M. N.: Probl. Gemat. 5/5, 39—44, 1960.
8. Rapoport S.: J. clin. Invest. 26/4: 616—621, 1947.
9. Serafimov-Dimitrov V.: V'prosi na chematologijata i kr'voprelivaneto 7: 91—101, 1960.
10. Stojčkov J.: V'prosi na chematologijata i kr'voprelivaneto 7: 101 až 103, 1960.
11. Stojčkov J., Serafimov-Dimitrov V.: V'prosi na chematologijata i kr'voprelivaneto 7: 103—110, 1960.
12. Špaček B.: Patofysiologické základy léčení velkých krvácení. In: Rapant V. a kol.: Chirurgie velkých krvácení, SZdN, Praha 1959.