

ОСОБЕННОСТИ ПРЕДТРАНСФУЗИОННОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОВ С НАСЛЕДСТВЕННЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ГЕМОСТАЗА

Каргин В.Д., Солдатенков В.Е., Минеева Н.В., Папаян Л.П., Капустин С.И., Чечеткин А.В., Бураков В.В., Комиссаров К.А., Гавровская С.В., Силина Н.Н., Матвиенко О.Ю., Титов А.Г., Кузакбирдиева О.Х., Бессмельцев С.С.

ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»

191024, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16

e-mail: bloodscience@mail.ru

тел. (812) 274-56-50

Резюме

Представлены результаты иммуногематологического исследования предтрансфузионного статуса пациентов с наследственной патологией гемостаза. Обосновывается положение о возможных общих закономерностях возникновения ситуаций трансфузионного риска у пациентов как с гипокоагуляционными (гемофилия), так и с гиперкоагуляционными (тромбофилия) наследственными нарушениями гемостаза. Представлены данные исследования 122 больных с тяжелой и средней тяжести гемофилией. Антитромбоцитарные аутоантитела выявлены у 48,1% больных, аутогранулоцитарные антитела у 75,83%, аллоэритроцитарные антитела у 15,2%, что обуславливает высокий риск осложнений при переливании донорских гемокомпонентов. Как фактор дополнительного риска рассматривается инфицированность вирусом гепатитов. Предлагается использования в данной клинической ситуации аутологичных гемокомпонентов.

Ключевые слова: гемофилия, антитела, вирусный гепатит, тромбофилия, аутологичные гемокомпоненты

**THE PECULIARITIES OF PRE-TRANSFUSIONAL STATUS IN PATIENTS WITH
HEREDITARY DISORDERS OF HEMOSTASIS**

Kargin V.D., Soldatenkov V.E., Mineeva N.V., Papayan L.P., Kapustin S.I., Chechetkin A.V., Burakov V.V., Komissarov K.A., Gavrovskaya S.V., Silina N.N., Matvienko O.Yu., Titov A.G., Kuzakbirdieva O.Kh., Bessmeltsev S.S.

FSBI «Russian scientific research institute of hematology and transfusiology of Federal medical biologic agency»

191024, Saint Petersburg, 2-nd Sovetskaya str., 16, St-Petersburg

e-mail: bloodscience@mail.ru

tel. (812) 274-56-50

Resume:

Immunohematologic study of pre-transfusional status in patients with hereditary disorders of hemostasis has been carried out. The hypothesis about common patterns of transfusional risks in patients with hypocoagulable hereditary disorder (hemophilia) as well as in patients with hypercoagulable hereditary disorder (thrombophilia) is substantiated. The results of the study, which included 122 patients with severe and moderate hemophilia, are presented. Anti-thrombocytic antibodies were found in 48.1% of patients, anti-granulocytic antibodies – in 75.83%, allo-erythrocytic antibodies – in 15.2%. Those circumstances could determine the high risk of transfusional complications. Viral hepatitis is considered as the additional risk factor. The use of the autologous hemocomponents is suggested in such clinical case.

Keywords: hemophilia, antibodies, viral hepatitis, thrombophilia, autologous hemocomponents

Введение. В клинической трансфузиологии одной из фундаментальных проблем, во многом определяющем вектор научно-практического развития специальности, была и остается проблема возрастающей опасности применения донорской крови и ее компонентов [1]. Проблема трансфузионного обеспечения оперативного лечения больных чрезвычайно актуальна в настоящее время, ввиду целого ряда клинических и организационных особенностей трансфузионной терапии больных при различной патологии, в т.ч. при наследственно обусловленном дефиците факторов свертывания крови или наследственной тромбофилии. Альтернативой применения аллогенной донорской крови является аутологичная кровь больных. Кровезамещающие растворы газотранспортного действия ввиду прямого реологического действия и угрозы гемодилюционной коагулопатии малоприменимы у пациентов с гемофилией и других типов наследственной коагулопатии.

Вероятность возникновения осложнений после гемокомпонентных трансфузий, по данным различных исследователей, составляет 1-5%, при этом негемолитические посттрансфузионные осложнения возникают с частотой 1-10 %, а гемолитические – 0,2% [1]. У ряда больных гемотрансфузионная терапия сопровождается развитием сенсибилизации к антигенам, представленным на клетках крови. Частота встречаемости антител к антигенам эритроцитов в среднем составляет 1-1,5% [2]. Кроме выработки антител к антигенам эритроцитов, у больных, получавших многократные гемотрансфузии, обнаруживают антитела к лейкоцитам, тромбоцитам и белкам плазмы [3,4]. К настоящему времени данные по исследованию частоты встречаемости ауто - и аллоантител к антигенам эритроцитов и тромбоцитов у больных гемофилией, болезнью Виллебранда и другими коагулопатиями немногочисленны и не систематизированы, что затрудняет выработку оптимальных рекомендаций по стандартизации трансфузионного обеспечения. Плановые хирургические вмешательства, прежде всего ортопедические, у больных гемофилией связаны с прогнозируемой кровопотерей более 10-15% ОЦК. Именно данная группа больных является целевой для разработки оптимальной гемотрансфузионной программы обеспечения операций у пациентов с наследственной или медикаментозно обусловленной коагулопатией. Число больных гемофилией в РФ составляет 7451 человек, при этом с тяжелой и среднетяжелой стадией около 60%, среди которых у 80% отмечаются деформирующие остеоартрозы крупных суставов с прогрессирующим исходом к необходимости проведения эндопротезирования. Значительное внимание обращают также и наследственные гемостазиопатии гиперкоагуляционного типа – тромбофилии, клинически манифестирующие чаще венозными тромбозами, нередко осложненные тромбоэмболиями легочной артерии, которые в общей популяции населения встречаются с частотой 1 на 1000 [5]. Указанные пациенты с тромбофилией длительно находятся на антикоагулянтной терапии, связанной с риском возникновения тяжелых кровотечений, что парадоксально сближает эти группы в тактике трансфузионного обеспечения. В связи с указанным актуально изучение и выявление особенностей предтрансфузионного статуса у пациентов с наследственными нарушениями гемостаз различного типа.

Материалы и методы. С целью изучения встречаемости сенсибилизации к антигенам клеток крови и соответственно риска осложнений трансфузии у больных

гемофилией ретроспективно изучены данные карт стационара 122 больных с тяжелой и средней тяжести течением заболевания за 2005 - 2017 годы. Возраст пациентов колебался от 17 до 63 лет (Me 30,5 лет у 58,9% больных). Было исследовано 122 образца сывороток больных гемофилией на наличие антител к антигенам эритроцитов и тромбоцитов. Материалом исследования служили сыворотки крови больных, имевших в анамнезе многократные трансфузии крови и компонентов, преимущественно плазмы свежезамороженной. Контролем служили образцы сывороток доноров мужчин. Исследование аллоантител осуществляли общепринятыми методами: желатиновым или антиглобулиновым тестом (приказ N2 МЗРФ от 09.01.98), а также ферментным методом с использованием бромелина. Для скрининга антител использовали ID-панель (фирма DiaMed, Швейцария), включающей 3 образца эритроцитов, типированных по 29 антигенам. Идентификацию аллоантител проводили с панелью фенотипированных эритроцитов собственного приготовления, а также с ID-панелью фирмы DiaMed, включающей 11 образцов эритроцитов, типированных по 29 антигенам. Выявление антигенов эритроцитов и антиэритроцитарных антител проводили также методом агглютинации в геле с использованием тест-системы фирмы DiaMed (Швейцария). Исследование аллоантител к тромбоцитам проводили разработанным ранее в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России методом, который являлся модификацией метода смешанной агглютинации, предложенного японскими авторами в 1981 г [15]. Лизаты тромбоцитов готовили из тромбоцитов доноров, предварительно генотипированных методом ПЦР.. Было типировано 27 доноров и отобрано 11 образцов тромбоцитов с различными сочетаниями антигенов тромбоцитов. С целью выявления частоты встречаемости (ЧВ) маркеров вируса гепатита С (ВГС) как возможного фактора риска, способного влиять на кровопотерю при хирургических вмешательствах, обследованы 38 пациентов с тяжелым течением гемофилии (гемофилия А – 36 пациента, гемофилия В – 2 пациента). Коагуляционное звено системы гемостаза больных гемофилией оценивалось следующими тестами: активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), активность фактора VIII, IX, фактора VII, ингибиторы к фактору VIII IX, активность и антиген к фактору Виллебранда в соответствии с утвержденными методиками. Выявление маркеров ВГС проводилось с помощью стандартных отечественных тест-систем в серологической лаборатории института.

С целью получения информации о носительстве маркеров наследственной тромбофилии (коагулопатии), ассоциирующихся с риском тромбоопасности, последующей антикоагулянтной терапией и которые могут быть использованы для оценки здоровья первичных потенциальных доноров, обследована группа больных (n=43) с посттромбофлебитическим поражением глубоких вен (ПТФС) и/или перенесенной тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) в анамнезе. При их обследовании было проведено молекулярно-генетическое исследование. С помощью метода ПЦР и последующего рестрикционного анализа проводили генотипирование полиморфизма генов метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR C677T), аполипопротеина Е (ApoE e2/e3/e4), мутации в гене протромбина (G20210A), лейденской мутации в гене фактора V (G1691A), полиморфизм 675 4g|5G в гене PAI-I, аллель 455 G|A в гене фактора I, полиморфизм 1565T|C GrIIa, 807 C|T в гене GrIa. Статистические различия в распределении генотипов между группой больных и КГ оценивали с помощью точного метода Фишера. Для расчета мутации в гене фактора V (G1691A) коэффициента «отношения шансов» (OR) с 95% доверительным интервалом (CI) и р-значения применялся статистический пакет GraphPad Prism 4.0.

Результаты и обсуждение.

Исследование антител к антигенам тромбоцитов проводили в образцах сывороток больных и доноров. Результаты исследования ауто - и аллоантител к эритроцитам и тромбоцитам приведены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты исследования ауто - и аллоантител у больных гемофилией

		Число обследованных	Число выявленных антител	% сенсibilизации
Антитела к эритроцитам	Аутоантитела	103	0	0
	Аллоантитела	122	19	15,2
Антитела к тромбоцитам	Аутоантитела	93	45	48,1
	Аллоантитела	97	41	42,27

У 19 больных (15,2%) были выявлены алло-антиэритроцитарные антитела различной специфичности (анти-D, -E, -K, -C^w). Аутоантитела к эритроцитам исследовали у 103

больных. Исследование аутоантител проводили прямой реакцией Кумбса. Положительных результатов выявлено не было. У всех 11 оперированных в анамнезе больных наблюдалась аллоиммунизация. У троих были выявлены антиэритроцитарные аллоантитела специфичностью а-Е и а-К, -s; у четверых больных были выявлены антитела к антигенам тромбоцитов НРА-1, -2, -3, -5. Особенности встречаемости иммунизации у больных с тяжелым течением гемофилии в зависимости от возраста представлены в таблице 2.

Таблица 2. Частота иммунизации у больных тяжелой гемофилией разных возрастных категорий *

Возраст	Антигрануло- цитарные аутоантитела	Антитромбо- цитарные аутоантитела	Антиэритро- цитарные аллоантитела	Антитромбо- цитарные аллоантитела
До 18 лет (11 больных)	63,64%	45,45%	-	2 (НРА-5, -15)
18 – 30 лет (23 больных)	69,57%	47,83%	-	3 НРА-1, -2, -3, 5
30-43 года (23 больных)	73,91%	26,09%	3 (13,04%) а-Е (2) а-D (1)	-
43 -53 года (8 больных)	87,50%	75,00%	2 (25,00%) а-K а-DC	-
53 -63 года (13 больных)	84,62%	46,15%	1 (7,69%) а-K, -s	1 НРА-1, -2, -3

Примечание. * - антиэритроцитарных аутоантител не выявлено

Как свидетельствуют данные таблицы 2, в категории до 18 лет обследовались 11 больных. Антиэритроцитарные аутоантитела не были выявлены ни у одного пациента. Антигранулоцитарные аутоантитела обнаружены у 7 больных (63,64%), антитромбоцитарные аутоантитела – у 5 (45,45%). У двух больных этой группы были тестированы аллоантитела к тромбоцитарным антигенам НРА-5 и НРА-15.

В категории с 18 до 30 лет обследовались 23 больных гемофилией. Антиэритроцитарные аутоантитела отсутствовали у всех, антигранулоцитарные аутоантитела выявлены у 16 больных (69,57%), антитромбоцитарные аутоантитела были обнаружены у 11 (47,83%). 8 больных обследовались повторно. Из них: у 6 больных первоначально и повторно были выявлены антигранулоцитарные аутоантитела, у двух – выявлены только повторно; у одного больного первоначально и повторно выявлены антитромбоцитарные аутоантитела, у 4 больных появились антитромбоцитарные аутоантитела. Антиэритроцитарных аллоантител не выявлено. У троих больных в этой категории тестированы антитромбоцитарные аллоантитела к тромбоцитарным антигенам НРА-1, НРА-2, НРА-3 и НРА-5.

В категории с 30 до 43 лет был обследован 23 больной гемофилией. Из них антиэритроцитарные аутоантитела не были выявлены ни в одном случае, антигранулоцитарные аутоантитела обнаружены у 17 больных (73,9%), антитромбоцитарные аутоантитела – у 6 больных (26,1%). Кроме того, у 3 больных констатированы антиэритроцитарные аллоантитела специфичностью анти – Е (2) и анти – D (1).

В категории от 43 до 53 лет было обследовано 8 больных. Антиэритроцитарные аутоантитела не выявлены, антигранулоцитарные аутоантитела обнаружены у 7 пациентов (87,5%), антитромбоцитарные аутоантитела – у 6 больных (75,0%). У двух больных в этой категории выявлены антиэритроцитарные аллоантитела специфичности анти-К (1) и анти-DC (1).

В категории от 53 до 63 лет было обследовано 13 больных гемофилией и коагулопатией. Из них антиэритроцитарные аутоантитела не были выявлены ни у кого, антигранулоцитарные аутоантитела были выявлены у 11 больных (84,62%),

антитромбоцитарные аутоантитела были выявлены у 6 больных (46,15%). У 1 больного были выявлены антиэритроцитарные анти - К и анти - S аллоантитела. Также у 1 больного диагностированы аллоантитела к антигенам тромбоцитов HPA-1, HPA-2, HPA-3.

11 больным были проведены плановые хирургические вмешательства. У всех 11 оперированных больных наблюдалась аллоиммунизация. У троих были выявлены антиэритроцитарные аллоантитела специфичностью а - Е и а - К, -S; у четверых больных обнаружены антитела к антигенам тромбоцитов HPA-1, -2, -3, -5.

Таким образом, частота выявления антигранулоцитарных аутоантител с возрастом увеличивалась с 65% до 85%, частота антитромбоцитарных аутоантител сохранялась примерно на одном уровне (около 50%).

Гемокомпонентная терапия влечет за собой опасность развития у больных иммунологических осложнений. Антитромбоцитарные и антиэритроцитарные антитела не встречаются в естественных условиях. Они вырабатываются к аллоантигенам после беременности или переливания крови. Данные литературы свидетельствуют о высокой частоте иммунизации к антигенам форменных элементов крови. Объясняется это присутствием в переливаемых эритроцитной массе и плазме остаточных лейкоцитов и тромбоцитов. Регулярные трансфузии донорской эритроцитной массы могут вызвать тромбоцитарную аллоиммунизацию к HLA и к тромбоцит-специфичным антигенам. Исследования динамики аллоиммунизации пациентов в ответ на трансфузии тромбоцитов показали, что выработка антител происходит не ранее, чем через 10 дней (в основном, на 21-28 день) после первичной трансфузии и через 4 дня после вторичной трансфузии или беременности [15]. Аллосенсибилизация к антигенам тромбоцитов возникает чаще у реципиентов, имеющих многократные трансфузии донорской цельной крови и компонентов, так как при этом повышается вероятность получения антигена, отсутствующего у реципиента, и возникновения иммунного ответа. Аллосенсибилизация к лейкоцитарным антигенам при проведении гемотрансфузий хорошо известна. Меньше данных о выработке антител к антигенам тромбоцитов. Сенсибилизация к тромбоцитам может быть вызвана остатками тромбоцитов или их фрагментов в концентратах эритроцитов и плазме. Наиболее клинически значима сенсибилизация к антигенам эритроцитов, это осложняет в дальнейшем выбор донорских эритроцитов для трансфузии, в данном исследовании –15,2%. Аутоенсибилизация к эритроцитам возникает редко, что

подтверждается полученными данными. У 42,27% выработались аллоантитела к тромбоцитам. Чем дольше история трансфузий, тем выше уровень сенсibilизации.

Таким образом результаты исследования предтрансфузионного иммуногематологического статуса больных гемофилией свидетельствуют о высоком уровне полисенсibilизации к антигенам клеток крови, что обуславливает высокий риск осложнений при переливаниях донорских гемокомпонентов. Альтернативой трансфузионного обеспечения в данной ситуации может выступать использование аутологичных гемокомпонентов.

С учетом того, что генез геморрагических проявлений при гемофилии определяется наследственным дефицитом фактора VIII или IX, существенное значение имеет состояние функции печени, нарушение которой можно ожидать в случае инфицированности ВГС. В связи с этим нами проведено изучение встречаемости маркера гепатита С (антитела к ВГС), уровень трансаминаз (АЛТ/АСТ) и билирубина у данной группы больных, данные о которых представлены в таблице 3.

Таблица 3. Результаты инфицированности гепатитом С, активности трансаминаз и уровня билирубина у больных гемофилией

Общее число больных n	Число больных с антителами к ВГС (n, %)	Повышенный уровень АЛТ у 11 больных с ВГС (норма до 40,0 мкмоль/л)	Повышенный уровень АСТ у 11 больных с ВГС (норма до 40,0 мкмоль/л)	Средние значения общего билирубина у 6 больных с высокой активностью трансаминаз (норма до 40,0 мкмоль/л)±m
38	24/ 63,7%	78,43/ 29,1%	65,14/ 29,1%	28,4±2,40

Представленные данные свидетельствуют о высокой встречаемости серологических признаков вирусного гепатита С у пациентов с тяжелой гемофилией (у 63,7%). Повышение активности трансаминаз АЛТ/АСТ выше референтных значений отмечено у

29,4% пациентов, что можно расценивать как некоторый знак активности процесса и вероятный маркер риска возможного усиления кровопотери при хирургических вмешательствах и способа ее безопасного возмещения. Возрастание уровня общего билирубина в рассматриваемой группе пациентов отмечена лишь у 16,6%, что, принимая во внимание малую выборку, не позволяет делать корректные выводы.

Перспективным, на наш взгляд, представляется генотипирование больных с поражением глубоких вен нижних конечностей и ТЭЛА для выявления потенциально опасных по кровотечениям вследствие пролонгированной антикоагулянтной терапией.

В обследованной когорте больных с имевшими место у них тромботическими поражениями различной локализации, наиболее часто их возникновение ассоциируется с носительством генотипов PAI-1675 4g/5G и MTHFR C677T, встречаемость которых составила у 55,8% и 53,4% больных. Достаточно высокий процент вносят генотипы фактора I 45517G/A, GpIa 807 C/T и GpIIIa 1565 T/C (39,5%, 27,9% и 25,5%, Существенно, что практически у 100% пациентов отмечалось сочетанное носительство нескольких (до 5 и более) полиморфизмов генов, что, вероятно, увеличивает риск возникновения тромботических осложнений. На этот факт указывали и результаты ранее проведенных исследований [6, 7].

Таблица 4. Встречаемость генетических маркеров, наиболее часто ассоциирующихся с риском тромбоопасности в общей группе пациентов (n=43) с тромбозом глубоких вен конечностей и/или ТЭЛА

№ п/п	Генотип	Число больных	Процент частоты встречаемости
1	фактора V (G1691A),	7	16,2
2	фактор II (G20210A	3	6,9
3	PAI-1675 4g/5G	24	55,8
4	Фактор I 45517G/A	17	39,5
5	GpIa 807 C/T	12	27,9
6	GpIIIa 1565 T/C	11	25,5
7	MTHFR C677T	23	53,4

Изучение генетических нарушений в отдельных нозологических когортах пациентов (посттромбофлебитический синдром – ПТФС – 25 больных; тромбоэмболия легочной артерии – ТЭЛА – 3 больных, ПТФС и ТЭЛА – 15 больных) подтвердило полигенный характер носительства выше обозначенных генотипов, ассоциирующихся с риском возникновения венозного тромбоза. При ПТФС выявлено превалирование носительства генотипов PAI-I675 4g/5G, MTHFR C677T (у 57,7% и 46,1% соответственно) и их сочетание. Выявленные ген-генные ассоциации могут быть рекомендованы для включения в стандарт обследования первичных доноров и аутологичных доноров, что будет способствовать углубленной оценке их состояния здоровья, профилактике рисков возможных тромботических осложнений.

Выводы

1. Результаты исследования предтрансфузионного статуса больных гемофилией свидетельствуют о достаточно высоком уровне полисенсibilизации к антигенам клеток крови, что обуславливает высокий риск осложнений при переливаниях донорских гемокомпонентов.

2. Среди пациентов с клиническими проявлениями венозного тромбоза и тромбоэмболизма выявлена высокая частота встречаемости – от 39,5%, 27,9% и 25,5% генотипов соответственно фактора I 45517G/A, GpIa 807 C/T и GpIIIa 1565 T/C и до 55,8% и 53,4 % генотипов PAI-I675 4g/5G, MTHFR C677T, предполагающих длительную антикоагулянтную терапию, потенциально требующей трансфузионной коррекции при оперативном лечении.

3. Необходима дальнейшая разработка критериев углубленного исследования системы гемостаза у потенциальных доноров аутологичной крови, относящихся к группе пациентов с венозным тромбоэмболизмом как проявлением тромбофилии. Для предотвращения посттрансфузионных осложнений путем снижения частоты трансфузий донорской крови пациентам групп риска представляется перспективным изучение возможности использования аутологичной крови пациентов с врожденными нарушениями гемостаза и учетом их предтрансфузионного статуса.

Литература

1. Mollison P. L., Engelfriet C.P., Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. Blackwell. – 10th edition. – 1997.
2. Головкина Л.Л., Зотиков Е.А. Аллоиммунизация к антигенам систем HPA и HLA у гематологических больных с множественными трансфузиями компонентов крови //Новое в трансфузиологии. – 2003. – № 34 – С.12-22.
3. Зарецкая Ю.М., Донсков С.И. Иммунологическая безопасность гемокомпонентной терапии сегодня и завтра //Проблемы гематологии. – 1998 – N3 – С.7-13.
4. Балуда В.П., Балуда М.В., Гольдберг А.П. и др. // Предтромботическое состояние. Тромбоз и его профилактика. – М. – Амстердам. – 1999. – 297 с.
5. Зотиков Е.А., Бабаева А.Г., Головкина Л.Л. Тромбоциты и антитромбоцитарные антитела. М.: Монолит, – 2003. – С.128.
6. Капустин С.И. Молекулярно - генетически аспекты патогенеза венозного тромбоэмболизма: Автореф. дисс. ...докт. биол. наук. 2007 – СПб. – 41 с.
7. Капустин С. И. Наследственная тромбофилия как полигенная патология // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2006. – № 2. – С 24-34.
8. Дуткевич И. Г. Основы клинической иммуногематологии: Учебное пособие. – СПб.: Изд-во СПбГМУ им И.И. Сеченова, 2014. – С 44-51.
9. Заривчацкий М.Ф. Трансфузиология: Клиническое руководство. – Пермь: ГБОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера, 2014. – 900 с.
10. Каргин В.Д. Особенности трансфузиологического обеспечения плановых ортопедических операций у больных гемофилией. Медицинская технология / В.Д. Каргин, Л.П. Папаян, В.Е. Солдатенков и др. – СПб., 2010. – 24 с.
11. Румянцев А.Г. Гемотрансфузионная терапия / А.Г. Румянцев, В.А. Аграненко. – М.:МАКС Пресс, 2002. – 643 с.
12. Пашкова И.А. Посттрансфузионные реакции и осложнения. Учебно-методическое пособие / И.А. Пашкова, Н.В. Минеева Краснодар: ООО «Три-Мил», 2018. – 30 с.
13. Приказ Минздрава РФ от 25.11.2002 N 363 Об утверждении Инструкции по применению компонентов крови (Зарегистрировано в Минюсте РФ 20.12.2002 N 4062).
14. Приказ Минздрава России от 22.04.2014 N 183н (ред. от 27.07.2018) Об утверждении перечня лекарственных средств для медицинского применения, подлежащих предметно-количественному учету.

15. AABB Technical Manual, 16th ed. – Bethesda: AABB – 2008. – 1002 p.
16. Spiess B.D., Spence R.K., Shander A. Perioperative transfusion medicine// Lippincott Williams&Wilkins, 2006. – 697 p.