proLékaře.cz | 5.6.2026

Kryokonzervace krve – historie, metody a současnost

Bohoněk M.
Oddělení hematologie, biochemie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha

Transfuze Hematol. dnes, 19, 2013, No. 1, p. 44–50

SOUHRN

Práce je stručným přehledem o metodách kryokonzervace krve a jejich vývoji a použití. Kryokonzervace krve je představena jako metoda, která umožňuje řešení řady problémů v transfuzní službě, protože skladování mražených krevních buněk může významně prodloužit dobu jejich použití, pokud se zajistí zvláštní podmínky během procesu mražení tak, aby se zamezilo poškození buněk. Hlavní uplatnění kryokonzervace krve se v současné době nalézá ve vojenském zdravotnictví a v krizové krevní politice, ale také v civilní kurativní praxi, kdy umožňuje dlouhodobé skladování erytrocytů vzácných krevních skupin a vybraných autotransfuzí. Díky moderním technologickým postupům se v posledních letech usnadňuje manipulace a logistika s kryokonzervovanými přípravky pro rozmražení a tím se zvyšuje i jejich dostupnost.

KLÍČOVÁ SLOVA

kryokonzervace krve, kryokonzervace erytrocytů, kryokonzervace trombocytů, kryoprotektivní látky

SUMMARY

Bohoněk M

Cryopreservation of blood – history, methods and the current status

This article presents a brief overview of methods used for the cryopreservation of blood, their development over the years and their application. Cryopreservation of blood is presented as a method, which solves various problems in the blood transfusion service, as storage of frozen blood can significantly extend its shelf life, provided that special conditions are guaranteed during the freezing process in order to prevent possible cell damage. The main application of such cryopreservation is in military medicine and blood crisis policy, but it also plays a role in special transfusiology fields, such as the storage of rare red blood cell types and the long-term storage of selected autologous blood. Thanks to modern technological procedures, manipulation and logistics of cryopreserved products following thawing have been simplified in recent years, thus improving access to such products.

KEY WORDS

cryopreservation of blood, cryopreservation of red cells, cryopreservation of platelets, cryoprotective agents

ÚVOD

Skladování mražených krevních buněk může významně (až neomezeně) prodloužit dobu jejich použití. Nezbytností je zajištění zvláštních podmínek během procesu mražení, které zabrání poškození buněk.

Řešení problematiky kryokonzervace tkání a buněk se v průběhu let odvíjelo od poznatků ochrany buněk před účinky mrazu, zejména tvorby ledových krystalků způsobujících následnou destrukci buněčných struktur a membrán (1, 2). Již v roce 1866 Pouchet jako první popsal, že zmražené erytrocyty jsou po rozmražení destruovány (3) a tento jev byl dlouho připisován výhradně mechanickému poškození buněk ledovými krystalky vznikajícími v průběhu zmrazování. Z fyzikální chemie je ale známo, že během změny vodních roztoků v pevnou fázi působením mrazu mění skupenství nejdříve voda a vznikají tak vodní krystalky čisté vody s prostory mezi nimi vyplněnými koncentrovanými elektrolyty. Dochází tak k buněčné dehydrataci a změnám pH.

003_TH_0113.indd 44 3/27/13 2:05:34 PM

proLékaře.cz | 5.6.2026

Na základě těchto znalostí vyslovil Lovelock v roce 1953 revoluční hypotézu, že k poškození buněk působením mrazu dochází vlivem této dehydratace a změn pH s ničivými účinky na buněčnou membránu dříve, než ji mechanicky poškodí vznikající ledové krystalky. A tento vysvětlující mechanismus byl přijat většinou pracovišť na poli kryobiologie (4, 5, 6, 7).

KRYOPROTEKTIVNÍ LÁTKY

Ochrany buněk před mrazem se dociluje přidáním tzv. kryoprotektivních látek. Protože tato kryoprotektiva ale zpravidla způsobují výrazné změny ve smyslu nárůstu osmolality, je nutné mít pečlivě zmonitorovány všechny postupy a mít pod kontrolou osmotické změny, aby již před kryokonzervací nezpůsobily nevratné poškození buněčných struktur a membrány (2, 4, 6, 8, 9).

S ohledem na mechanismus účinku se kryoprotektiva dělí na 2 skupiny:

I. *Intracelulární (penetrující) kryoprotektiva*

Tyto látky díky své relativně jednoduché chemické struktuře pronikají buněčnou membránou a v nízké koncentraci nevykazují žádnou toxicitu pro buňky. Patří mezi ně glycerol, dimetylsulfoxid (DMSO) a různé glykoly (etanol, propylenglykol, metanol apod.). Praktické využití těchto látek je zejména v případech dlouhodobého uchovávání zmrazených tkání (spermabanky, banky pupečníkové krve a kmenových buněk, kryobanky erytrocytů). Mechanismus účinku penetrujících kryoprotektiv nebyl dosud plně objasněn. Zpočátku bylo vše připisováno pouze zabránění škod, výhradně způsobených ledovými krystaly. Ale kryoprotektivní látky, kromě omezení vzniku ledových krystalů, mění i jejich formu a velikost a změnou iontových poměrů intra- i extracelulárně eliminují poškození buněčné membrány osmotickým šokem, který jinak vzniká při zmrazování. Penetrující kryoprotektiva zvyšují během zmrazovacího procesu výstup vody z buněk do extracelulárního prostoru, a tak udržují osmotickou rovnováhu v částečně zmrzlém extracelulárním roztoku. To vede nejen k redukci objemu buněk, ale také k redukci osmotické zátěže. Významným účinkem, vzhledem k dalšímu přežívání buněk po rozmražení, je inhibice APTázy, kterou způsobují některá kryoprotektiva, jako glycerol a DMSO.

Glycerol: Kryoprotektivní účinek glycerolu, nízkomolekulárního neelektrolytu, byl popsán poprvé na spermiích (0). Jeho kryoprotektivní efekt spočívá v průniku buněčnou membránou do nitra buňky a vzniku hyperosmolárního prostředí. Používal se ke kryokonzervaci velkého množství buněk savců, také pro embrya a neoplodněná vajíčka lidí a myší, nyní je jeho použití nejčastější při kryokonzervaci erytrocytů. Glycerol se používá většinou v koncentraci 1,0–2,0 M, resp. 20-40 % (až 55 %).

Dimetylsulfoxid (DMSO): DMSO je stejně jako glycerol neelektrolyt s nízkou molekulární hmotností a kryoprotektivně působí podobně jako glycerol. Skrývá v sobě ale nebezpečí rychlejšího vzniku toxicity, již při nižších koncentracích než u glycerolu – již při 1,0 M koncentraci.

Propylenglykol (PROH): PROH byl spolu s glycerolem poprvé popsán jako kryoprotektivum Polgem (10). Jeho kryoprotektivní účinky jsou dány zcela amorfním stavem, kterého dociluje ve vodním roztoku a vyniká stabilitou při teplotách pod bodem mrazu. Tím je omezena tvorba ledových krystalků během zmrazovacího a rozmrazovacího procesu. PROH bývá používán v kombinaci s jinými látkami s cílem omezit specifické toxické a osmotické poškození tkání a buněk.

II. *Extracelulární (nepenetrující) kryoprotektiva*

Tyto látky vzhledem ke své molekulové hmotnosti neprocházejí buněčnou membránou a používají se zejména pro potřeby rychlého a ultrarychlého zmrazování. Do této skupiny patří různé monosacharidy (glukóza, hexóza), disacharidy (sacharóza, trehalóza), trisacharidy (rafinóza) a polymery (polyvinylpyrrolidon, polyetylenglykol) a další makromolekulární látky, jako dextran, modifikovaná želatina, hydoxyetyl škrob nebo albumin.

Např. ve spermabankách je nejčastěji používaná sacharóza a polyetylenglykol. Protože samotná sacharóza nemá potřebný kryoprotektivní účinek, používá se v kombinaci s jinými látkami. Sacharóza nemůže projít buněčnou membránou, ale působí nepřímo s významným osmotickým efektem extracelulárně. Sacharóza chrání zejména během rychlé rozmrazovací fáze.

Účinek nepenetrujících kryoprotektiv spočívá v prvé řadě ve stabilizaci buněčné membrány a v efektu tzv. vitrifikace. Když se voda při teplotách pod 0 °C mění v led, nepenetrující kryoprotektiva zůstávají extracelulárně a vytvářejí meziprostor mezi buněčnou membránou, kde se koncentrují elektrolyty vydělující se z mrznoucích vodních roztoků. Extracelulární hypertonicita jednak na základě změny osmotických poměrů odstraňuje vodu z pomaleji mrznoucích intracelulárních prostorů a jednak následné snížení osmotických rozdílů nepoškozuje buněčnou membránu. Je nutné dát ale pozor na zvýšení hypertonicity ochlazených buněk,

003_TH_0113.indd 45 3/27/13 2:05:35 PM

proLékaře.cz | 5.6.2026

které zvyšuje nebezpečí osmotického šoku v případě nepřiměřeně dlouhé doby rozmrazování.

METODY KRYOKONZERVACE ERYTROCYTŮ

Různé postupy kryokonzervace erytrocytů jsou obecně známy a používány již delší dobu. Uchovávání krve ve zmraženém stavu bylo jedním z možných alternativních způsobů skladování transfuzních přípravků, které byly intenzivně hledány v 50. a 60. letech minulého století, kdy doba použitelnosti erytrocytů nepřesahovala 21 dní. Krátká doba použitelnosti totiž značně omezovala flexibilitu užití erytrocytových přípravků a byla důvodem vysoké exspirace, která se pohybovala až kolem 30 %. Díky krátké době použitelnosti vyrobených erytrocytů nestačila transfuzní služba plnit požadavky rozvíjejících se chirurgických oborů, zejména kardiochirurgie, cévní chirurgie a radikální onkochirurgie. Použití 3týdenních přípravků ve vojenském a krizovém zdravotnictví k vytváření eventuálních potřebných zásob bylo z praktického hlediska ještě komplikovanější, až nemyslitelné. Proto se k uchovávání erytrocytů ve zmraženém stavu vázaly tehdy značné naděje.

Po zavedení moderních resuspenzních roztoků s přídavky polysacharidů, fosfátů a adeninu do rutinní praxe v 70.–80. letech všeobecný akcent na dlouhodobé skladování erytrocytů ustoupil do pozadí, zvláště když nyní běžná 42denní doba použitelnosti snížila likvidaci z důvodů exspirace na 5 a méně procent. Nicméně zůstaly oblasti, kde i nadále je dlouhodobé skladování erytrocytů nezbytné, ať již se jedná o vojenskou a krizovou transfuzní službu nebo skladování vzácných erytrocytů či speciální autotransfuzní programy. Pro tyto případy jsou také akceptovány podstatně vyšší náklady na výrobu erytrocytů než při běžném skladování v resuspenzních roztocích.

Limitujícím faktorem kryokonzervace erytrocytů ale až do nedávné doby byla zejména doba použitelnosti, zpravidla pouhý jeden den po rozmražení, a tím velmi omezená operativnost použití takového přípravku. V posledních letech, s nástupem nových technologií a resuspenzních roztoků, se doba použitelnosti krve po rozmražení a přípravě k podání (tzv. rekonstituci) prodloužila na 1–2 týdny.

V současné praxi kryokonzervace erytrocytů je prakticky výhradně používáno intracelulární kryoprotektivum glycerol (2, 11, 12, 14, 15, 17, 18). Jeho kryoprotektivní účinky jsou známy od roku 1949 při zmrazování spermatických buněk (0) a ke zmražení erytrocytů byl glycerol poprvé použit v roce 1950 (25). Rozmražené erytrocyty byly poprvé úspěšně transfundovány v roce 1951 (19). Postupně byl zjištěn vztah kryoprotektivního účinku různých koncentrací glycerolu na rychlosti zmrazování v tom smyslu, že vyšší koncentrace umožňuje pomalejší mražení, naopak při nižší koncentraci je nutné použít šokové zmražení (4, 11).

Do klinického rutinního provozu byla kryokonzervace erytrocytů zavedena nejprve v USA začátkem 60. let minulého století (20). Od počátku byla použita metoda, kterou dnes používá většina pracovišť zabývajících se kryokonzervací erytrocytů – mražení erytrocytů v tzv. vysokém glycerolu, tj. s přidáním 40% glycerolu do erytrocytové suspenze a jejím pomalém a neřízeném zmražení při -80 °C v mechanických mrazicích boxech. Metoda byla popsána v roce 1958 Tullisem (12) a následné skladování erytrocytů umožňuje při teplotě -65 °C a nižší. Zajímavostí je, že hlavním důvodem zavedení této metody tehdy byly obtíže se získáním licence na výrobu hliníkových kontejnerů na skladování erytrocytů v tekutém dusíku a nikoli vlastnosti erytrocytů mražených a uchovávaných touto metodou. Běžné PVC vaky pro tento způsob nebyly použitelné. Ačkoli během 10 let se na trhu objevily speciální plastové vaky pro kryokonzervaci při -200 °C, tak díky již provedeným masivním investicím do mechanických mrazicích boxů a také vzhledem k vysoké ceně tekutého dusíku v USA, zůstala metoda mražení ve vysokém glycerolu severoamerickým standardem (11, 12, 14).

Alternativním způsobem mražení a skladování erytrocytů v glycerolu je rychlé zmražení v tekutém dusíku při -196 °C (40 °C/min) a následné skladování v dusíkových parách při -170 °C. Metoda byla poprvé popsána Pertem a spol. v roce 1963 (20) a její výhodou je, kromě nižší koncentrace glycerolu a jeho snadnějšího vymývání, také nezávislost na zdrojích elektrické energie a tím snížené riziko ohrožení skladovaného přípravku. Značnou praktickou nevýhodou je ale manipulace s tekutým dusíkem a režim Dewarových nádob i problematika transportu. Tato metoda se stala na určitou dobu nejpoužívanější v Evropě, kde se kryokonzervační postupy zaváděly do rutinní praxe o 10 let později než v USA, tj. od začátku 70. let minulého století. V té době již byly k dispozici plastové vaky vhodné pro použití v extrémně nízkých teplotách, navíc tekutý dusík byl v Evropě cenově dostupnější a na druhou stranu mechanické hlubokomrazicí boxy byly velmi drahou investicí. Dalším důvodem evropské praxe byla jednoduchost procesu deglycerolizace, kterou u nízké koncentrace glycerolu lze provádět manuálními metodami, případně za pomocí speciálních promývacích nástavců do centrifug, jako např. ADL cell-washing bowl, na rozdíl od složitějšího procesu vymývání vysokých koncentrací glycerolu, které vyžaduje sofistikované technické zařízení. Metodu jako první do rutiny zavedl Holandský

003_TH_0113.indd 46 3/27/13 2:05:35 PM

proLékaře.cz | 5.6.2026

červený kříž a mj. byla od počátku používána v prestižní bance vzácných erytrocytů v nizozemském CLB (nyní Sanquin).

Z nepenetrujících kryoprotektiv je v kryokonzervaci erytrocytů ve středu zájmu zejména hydroxyetyl škrob (HES), jehož použití pro tyto účely bylo patentováno v USA v roce 1991. Výhodou jsou bio-kompatibilní vlastnosti makromolekulárních polysacharidů (tedy i HES, který se běžně používá jako volumexpander) i ve vyšších koncentracích, které nevyžadují složitou proceduru vymývání během procesu rozmrazování a rekonstituce a rozmražený přípravek je tak možno přímo transfundovat. Nevýhodou je provozně méně praktická metoda vlastního zmražení v tekutém dusíku a uchovávání v dusíkových parách, podobně jako při použití nízké koncentrace glycerolu a vyšší procento hemolýzy po rozmražení, které je vyšší než 3 %. Používaná koncentrace HES pro zmražení je obvykle 25 % (19, 20, 24, 26).

Přesto, že hlubokozmražené tkáně a buňky, tj. i erytrocyty, mohou být při zachování příslušné skladovací teploty z principu uchovávány prakticky neomezenou dobu, bylo nutné administrativně stanovit přípustnou dobu skladování. Po velmi dlouhém období nejasností teprve v roce 1987 stanovila ve Spojených státech amerických Food and Drug Administration (FDA) dobu použitelnosti zmražených erytrocytů na 10 let, která byla převzata i v ostatních zemích světa. Za zmínku stojí, že v řadě případů se jedná o nepsané pravidlo a např. evropské doporučení dobu použitelnosti kryokonzervovaných erytrocytů vůbec neuvádí (26), v příslušné direktivě EU je omezena doba použitelnosti poněkud alibisticky na 10–30 let, v závislosti na použité metodě (27). Důvodem omezení doby použitelnosti kryokonzervovaných přípravků (tj. přípravků ve zmrazeném stavu) je stav jejich bezpečnosti z hlediska aktuální legislativy a aktuálních požadavků na vyšetření zejména známek krví přenosných chorob, které se v čase mění a vyvíjí. To ale lze do jisté míry řešit dotestováním z přiložených zmrazených vzorků (segmentů).

Z praktického hlediska důležitějším parametrem, než je doba použitelnosti erytrocytů ve zmraženém stavu, je jejich použitelnost po rozmrazení a deglycerolizaci, tj. po rekonstituci, kdy erytrocyty mají již charakter běžného transfuzního přípravku určeného k podání pacientovi.

Vzhledem ke složitosti procesu vymývání glycerolu, který se až donedávna prováděl otevřeným způsobem, byla doba použitelnosti rekonstituovaných erytrocytů omezena na pouhých 24 hod. po rozmražení, což značně omezovalo operativnost při zacházení s těmito přípravky. V případě vojenského použití to znamenalo mít i vybudovanou síť stacionárních skladů zmražených erytrocytů nebo mít k dispozici mobilní zařízení s těžkou a složitou technikou.

Tento stav nezměnilo ani zavedení poloautomatizovaných systémů na deglycrolizaci v 70. letech 20. století (Haemonetics ACP-115, IBM Cell Washer, Elutramatic cell washer) (29).

Revoluční zvrat znamenalo až plně automatické zařízení umožňující glycerolizaci i deglycerolizaci plně uzavřeným způsobem s vyloučením kontaktu se zevním prostředím, které bylo FDA schváleno k použití v roce 2001 (Haemonetics ACP-215). Zejména Valeri a jeho tým z Naval Research Blood Laboratory pak řadou studií prokázali použitelnost kryokonzervovaných erytrocytů až 7 dní po rekonstituci při použití běžných resuspenzních roztoků (SAG-M), ale minimálně 14 dní při použití

Obr. 1. Baterie promývacích automatů na deglycelorizaci Haemonetics ACP-115 – první plně automatické zařízení tohoto typu.

Obr. 2. Haemonetics APC-215, plně automatizované zařízení na glycerolizaci a deglycerolizaci, pracující v režimu "uzavřeného systému".

003_TH_0113.indd 47 3/27/13 2:05:37 PM

proLékaře.cz | 5.6.2026

roztoku AS-3 (Nutricel) (8, 11, 12, 14, 15). Bohoněk a kol. následně prokázali dobu použitelnosti rekonstituovaných erytrocytů v Nutricelu minimálně 21 dní (2, 17, 18). Další prodloužení doby použitelnosti erytrocytů po rozmražení je otázkou dalších validačních studií a též nových aditivních roztoků (např. SOLX neboli AS-7).

Obecně lze konstatovat, že vlastnosti kryokonzervovaných erytrocytů po rozmražení se od ostatních erytrocytových přípravků příliš neliší. S běžnými erytrocyty bez buffy-coatu, resp. erytrocyty deleukotizovanými jsou téměř srovnatelné objemem, hematokritem a klinickým účinkem; shodné jsou parametry přežití in vivo i in vitro biochemické parametry, jako např. hodnoty ATP a obsah 2,3-DPG v čase. Rekonstituované erytrocyty navíc odstraněním supernatantu při promytí získávají vlastnosti promytých erytrocytů, čerstvě deglycerolizované přípravky jsou tak prosté např. kalia. Jediným rozdílem je poněkud nižší obsah hemoglobinu v 1 T.U., způsobený částečnou hemolýzou a jeho vymytím v procesu deglycerolizace.

Obr. 3. Mechanické hlubokomrazící boxy (na min -80 °C).

Obr. 4. Skladování kryokonzervovaných erytrocytů v ochranných kartonových obalech.

METODY KRYOKONZERVACE TROMBOCYTŮ

Trombocyty mohou být zmraženy za přidání různých kryoprotektivních látek, jak intracelulárních (DMSO, glycerol), tak i extracelulárních (HES, dextran).

V současné době je nejvíce rozšířená metoda mražení trombocytů v 5–10 % DMSO při -80 °C a následném skladování pří -65° C. Tato metoda je velmi jednoduchá, nenákladná a nevyžaduje žádné přístrojové vybavení. Trombocyty jsou pro rozmražení resuspendovány v rozmražené plazmě nebo trombocytovém aditivním roztoku bez nutnosti předchozího vymytí kryoprotektiva (DMSO).

Ačkoli trombocyty skladované ve zmraženém stavu jsou po rozmražení efektivní v procesu hemostázy, jsou známy některé defekty jejich funkcí způsobené procesem zmražení a rozmražení. Přibližně 15 % kryokonzervovaných trombocytů ztrácí na povrchu vázaný GPIb, na druhou stranu ztráta GPIIB/IIIa kryokonzervačním procesem zjištěna nebyla. Kryokonzervované trombocyty též vykazují signifikantní snížení agregace v ristocetinu, ale přitom neztrácejí schopnost odpovědi na silnější agonisty trombinu. Přestože tyto funkční defekty nejsou klinicky významné a kryokonzervované trombocyty jsou efektivní při léčbě krvácení, je vhodné mít tyto změny na paměti (31, 32, 33, 34).

KRYOKONZERVACE V ČESKÉ REPUBLICE

V České republice je banka kryokonzerovovaných erytrocytů v rámci Oddělení hematologie, biochemie a krevní transfuze v Ústřední vojenské nemocnici –

Obr. 3. Kryokonzervované erytrocyty.

003_TH_0113.indd 48 3/27/13 2:05:39 PM

proLékaře.cz | 5.6.2026

Vojenské fakultní nemocnici Praha. Banka je v rutinním provozu od roku 2006. Pro zamražení jsou používány přednostně erytrocyty resuspendované deleukotizované získané dvojitou erytrocytaferézou (mohou být ale i z plné krve), které jsou zmraženy ve 40% glycerolu při -80 °C a následně skladovány při -65 °C a méně. Glycerolizace a deglycerolizace je prováděna pomocí uzavřeného automatického systému Haemonetics ACP-215 a rozmražené erytrocyty jsou resuspendovány v roztoku AS-3 (Nutricel) s dobou použitelnosti 21 dní po rozmražení.

Banka zmražených erytrocytů plní tyto 3 úkoly:

1. je strategickou krevní bankou (erytrocytů krevní skupiny 0) pro armádní využití a krizovou krevní politiku státu,
2. je bankou vzácných erytrocytů,
3. je bankou pro speciální autotransfuzní programy.

Společnost pro transfuzní lékařství ČLS JEP stanovila tyto indikace a postupy pro použití kryokonzervovaných erytrocytů (0):

Indikace pro použití kryokonzervace autologních erytrocytů

- u pacientů s předpokládanou potřebou transfuzní léčby, pokud transfuzní léčbě předchází léčebné postupy nebo jiné, zdravotní stav ovlivňující okolnosti, které neumožňují obvyklý odběr a zpracování krve pro autotransfuzi a to:
  - u nemocných s výskytem aloprotilátek proti erytrocytům, jejichž specifita znemožňuje použití běžného transfuzního přípravku
  - u nemocných, jejichž erytrocyty nenesou antigeny s vysokou frekvencí výskytu, u nichž je zvýšené riziko tvorby aloprotilátek proti erytrocytům, jejichž specifita by znemožnila následné použití běžného transfuzního přípravku

Indikace pro použití kryokonzervovaných homologních erytrocytů

- shodné jako u autotransfuzí, ale „imunohematologický status“ pacienta nebyl předem znám nebo odběr na autotransfuzi nebylo/není možné provést

Doporučený současný postup při zajištění a provedení autotransfuze ke kryokonzervaci

- vyšetření a doporučení z Národní referenční laboratoře pro imunohematologii
- telefonicky (e-mailem) dohodnout termín odběru na OHBKT ÚVN Praha (výjimečně odběr na „domácím“ pracovišti a neprodlená doprava odebraných erytrocytů do ÚVN)
- průvodní dokumentace:
  - žádanka o provedení a odběr na kryokonzervaci = stručná lékařská zpráva s razítkem a kódy (IČZ, odbornost…), předpokládaný termín podání
  - zpráva (doporučení) z Národní referenční laboratoře pro imunohematologii
- před podáním, min. 2 dny předem (pracovní dny!!!) telefonicky a následně e-mailem / faxem požádat o rozmražení a rekonstituci
- dopravu rekonstituovaných erytrocytů si zajišťuje odběratel sám

Doporučený současný postup při zajištění kryokonzervovaných erytrocytů ze zahraničí

- podmínkou je vyšetření a doporučení z NRL pro imunohematologii
- ve spolupráci s NRL pro imunohematologii zajištění (potřebného) počtu zmražených erytrocytů v zahraničí, předjednání dopravy
- předání všech potřebných informací s žádostí o zajištění importu erytrocytů do ČR na OHBKT ÚVN Praha (telefonicky + písemně)
- ÚVN zajistí proclení a převzetí erytrocytů a:
  - erytrocyty v nízkém glycerolu, zmražené a skladované v N2 převezme v rozmraženém stavu, s celkovou dobou exspirace 24 hod. po rozmražení – nutná okamžitá doprava a podání
  - erytrocyty ve vysokém glycerolu, převezme ve zmraženém stavu, uskladní a následně rozmrazí a expeduje dle dohody

ZÁVĚR

Kryokonzervace krve je metoda, která umožňuje řešení řady problémů v transfuzní službě. Její hlavní uplatnění se v současné době nalézá ve vojenském zdravotnictví a v krizové krevní politice, ale také v civilní kurativní praxi, kdy umožňuje dlouhodobé skladování erytrocytů vzácných krevních skupin a vybraných autotransfuzí. Díky moderním technologickým postupům se v posledních letech usnadňuje manipulace a logistika s kryokonzervovanými přípravky pro rozmražení a tím se zvyšuje i jejich dostupnost.

LITERATURA

1. Amer KA, Pepper AS, Prowse CHV. Effect of Different Resuspension Media on the Post-thaw Characteristics of Frozen Blood. British J of Haem, 1980, 44: 635-644.

003_TH_0113.indd 49 3/27/13 2:05:39 PM

proLékaře.cz | 5.6.2026

2. Smith AU. Prevention of haemolysis during freezing and thawing of red blood cells. Lance 1950; 11: 1990-911.
3. Pouchet MFA. Recherches expérimentales sur la congélation des animaux, Journ. L´Anat et Physiol 1866; iii: 1-36.
4. Huggins CE. Frozen Blood. Europ Surg Res 1969; 1: 3-12.
5. Loevelock JE. The Haemolysis of human red blood cells by freezing and thawing. Biochem biophys Acta 1953; 10: 414.
6. Loevelock JE. The Protective Action of Neutral Solutes aginst Haemolysis by Freezing and Thawing. Biochem J 1954; 56: 265-270.
7. Levin RL, Cravalho FG, Huggins CE. Effect of hydratation on the water content of human erythrocytes. Biophys J 1976; 16: 1411-14260.
8. Hess JR, Hill HR, Oliver CK, Lippert LE, Greenwalt TJ. The effect of two additive solutions on the postthaw storage of RBCs. Transfusion 2001 Jul; 41(7): 923-7.
9. Sputtek A. Kryokonservierung von Blutzellen. Transfusionsmedizin, 2nd. ed. (Ed.: C.Mueller-Eckhardt), 125-167, Springer, Berlin 1996.
10. Polge F, Smith AU, Parkers AJ, Revival of spermatozoa after vitrification and dehydratation at low temperatures, Nature, 1949, 164:666-669.
11. Valeri CR. Frozen Blood. New Engl J Med 1966; 25: 425-431.
12. Tullis JL, Ketchei MM, Pyle HM, Penneli GB, Gibson JG, Tinch RJ. Studies on the in vivo survival of glycerolized and frozen human red blood cells, J of the Am Med Association 1958; 168: 399-404.
13. Valeri CR, Pivacek LE, Cassidy GP, Rango G. The survival, function, and hemolysis of human RBCs stored at 4°C in additive solution (AS-1, AS-3, or AS-5) for 42 days and then biochemically modified, frozen, thawed, washed, and stored at 4°C in sodium chloride and glucose solution for 24 hours. Transfusion 2000; 40(11): 1341-5.
14. Valeri CR, Ragno G, Pivacek LE, et al. A multicenter study of in vitro and in vivo values in human RBCs frozen with 40-percent (wt/vol) glycerol and stored after deglycerolization for 15 days at 4 degrees C in AS-3: assessment of RBC processing in the ACP 215. Transfusion 2001; 41(7): 933-9.
15. Lelkens, CCM, Koning JG, de Kort B, Floot IBG, Noorman F. Experiences with frozen blood products in the Netherlands military. Transfus Apher Sci, 2006; 34: 289-98.
16. Bohoněk M, Petráš M, Turek I, et al. Parametry kvality kryokonzervovaných erytrocytů rekonstituovaných v roztoku AS-3 (Nutricel). Trans Hemat dnes 2006; 12: 208-216.
17. Bohoněk M, Petráš M, Turek I, et al. Vliv typu odběru krve a deleukotizace na kvalitu kryokonzervovaných erytrocytů. Trans Hemat dnes 2007; 13: 200-208.
18. Bohoněk M, Petráš M, Turek I, et al. Quality evaluation of frozen apheresis red blood cell storage with 21-day postthaw storage in additive solution 3 and saline-adenine-glucose-mannitol: biochemical and chromium-51 recovery measures. Transfusion 2010; 50: 1007-1013.
19. Mollison PL, Sloviter HA. Successful transfusion of previously frozen human red cells. Lancet 1951; 2: 862.
20. Tullis JL, Haynes L, Pyle H, et al. Clinical use of frozen blood. Arch Surg 1960; 81: 169.
21. Pert JH, Schork PK, Moore R. A new method of low temperature blood preservation using liquid nitrogen and glycerol sucrose additive. Clinical Research 1963; 11: 197.
22. Lionetti FJ, Hunt SM. Cryopreservation of Human Red Cells in Liquid Nitrogen with Hydroxyethyl Starch. Cryobiology 1975; 12: 110-118.
23. Greenwood CT, Muir DD, Whitcher HW. Hydroxyethyl Starch as a Cryoprotective Agent for Human Red Blood Cells. The Relation Between the Molecular Properties and the Cryoprotective Effect. Starch-Stärke 1977; 29: 343-347.
24. Sputtek A, Singbartl G, Langer R, Schleinzer W, Henrich HA, Künl P. Cryopreservation of red blood cells with the non-penetrating cryoprotectant hydroxyethylstarch. Cryo Letters 1995; 16: 283-288.
25. Horn EP, Sputtek A, Standl T, Rudolf B, Kühnl P. Schulte Transfusion of autologous, hydroxyethyl starch-cryopreserved red blood cells. Anesthesia & Analgesia 1997; 85: 739-745.
26. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components, Council of Europe, Recommendation No.R(95) 15
27. Commission Directive 2004/33/EC of March 2004, Annex IV.
28. Hank TH, Palk IK. The Cryopresevation and Thawing of Red Blood Cells Using 25% Hydroxyethyl. Korean J Lab Med 2004; 24: 314-319.
29. Meryman HT, Hornblower M. Red Cell Recovery and leukocyte Depletion Following Washing of Frozen-Thawed Red Cells. Transfusion 1973; 13: 388-393.
30. Lecak J, Scott K, Young C, Hannon J, Acker JP. Evaluation of red blood cells stored at -80 degrees C in excess of 10 years. Transfusion 2004; 44: 1306-13.
31. Handin RI, Valeri CR. Improved Viability of Previously Frozen Platelets. Blood 1972; 40: 509-513.
32. Daly PA, Schiffer CA, Aisner J, Wierni PH. Successful transfusion of platelets cryopreserved for more than 3 years. Blood 1979; 54: 1023-1027.
33. Taylor MA. Cryopreservation of platelets: an in-vitro comparison of four methods. J Clin Pathol 1981; 34: 71-75.
34. Owens M, Werner E, Holme S, Afferbach C. Membrane glycoproteins in cryopreserved platelets. Vox Sang 1994; 67: 28-31.
35. Bohoněk M. Možnosti kryokonzervace - doporučené postupy u potřeby autologních odběrů a dovezených přípravků. Trans Hemat dnes 2007; 13: 174.

Doručeno do redakce: 12. 12. 2012
Přijato po recenzi: 24. 1. 2013

pplk. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.
primář Oddělení hematologie, biochemie a krevní transfuze
Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha
U Vojenské nemocnice 1200
169 02 Praha 6
e-mail: milos.bohonek@uvn.cz

003_TH_0113.indd 50 3/27/13 2:05:39 PM