



ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ РАЗВЕДЕНИЯ ПУЛИРОВАННЫХ КОНЦЕНТРАТОВ ТРОМБОЦИТОВ, РАЗМОРОЖЕННЫХ ПОСЛЕ КРИОХРАНЕНИЯ

М.С. Макаров¹, М.В. Сторожева¹, Н.В. Боровкова^{1, 2}, А.Ю. Буланов¹, И.Н. Пономарев¹

¹Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Большая Сухаревская пл., д. 3, г. Москва, 129090, Россия

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, г. Москва, 125993, Россия

Резюме. *Актуальность.* В настоящее время методика криоконсервирования пулированных концентратов тромбоцитов (ПулКТ) требует оптимизации. Актуальной задачей является подбор адекватного препарата для разведения размороженных доз с целью снижения токсического действия криопротекторов. *Цель работы:* оценить влияние плазмозамещающих растворов на морфофункциональные свойства пулированных концентратов тромбоцитов после их криоконсервирования, криохранения и разморозки. *Материалы и методы.* В работе исследовали морфофункциональные свойства тромбоцитов ПулКТ, криоконсервированных в присутствии 5-6% диметилсульфоксида и 0,5% декстрана и разведённых после разморозки разными средами. Для ресуспендирования тромбоцитов использовали аутологичную бесклеточную среду, выделенную из ПулКТ до заморозки тромбоцитов, аллогенную свежемороженную плазму, плазмозамещающий раствор InterSol, препарат-заменитель плазмы – реополиглюкин. Для оценки качества тромбоцитов использовали метод тромбоэластографии и метод оценки морфофункционального статуса тромбоцитов с помощью витального окрашивания флуорохромными красителями. *Результаты.* Исходные ПулКТ заметно различались по жизнеспособности и структурно-функциональным особенностям тромбоцитов в их составе. При разведении размороженных ПулКТ аутологичной средой или свежемороженой плазмой в соотношении 1:9 сохранность общего числа биологически полноценных тромбоцитов составляла в среднем 52-53%, раствором InterSol – 37%, реополиглюкином – 8%. Раствор InterSol вызывал спонтанную активацию тромбоцитов, реополиглюкин – спонтанную активацию, сопряжённую с массовым разрушением тромбоцитов. Выявлена корреляционная взаимосвязь между сохранностью биологически полноценных тромбоцитов после разморозки ПулКТ и морфофункциональными параметрами в исходных ПулКТ. При разведении размороженных ПулКТ аутологичной средой или свежемороженой плазмой в соотношении 1:9 морфофункциональный статус тромбоцитов не менялся в течение 2-3 часов, при разведении в соотношении 1:4 – в течение 30 мин. *Выводы.* В ПулКТ перед криоконсервированием наблюдается снижение ряда морфофункциональных характеристик тромбоцитов на фоне их повышенной реактивности. Ресуспендирование размороженных ПулКТ в чистом растворе InterSol или полиглюкине приводит к быстрой потере качества тромбоцитов и является неэффективным. Для разведения размороженных пулированных концентратов тромбоцитов рекомендуется использовать аутологичную среду с плазмой или аллогенную свежемороженную плазму.

Ключевые слова: концентрат тромбоцитов [D017713]; криоконсервирование [D015925]; размораживание [D058108]; среда для разведения [D003470]; пулированные тромбоциты [D017713]; функциональная активность [D019245]; агрегация тромбоцитов [D010974]; адгезия тромбоцитов [D010973]; физиологический раствор [D012965].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Для цитирования: Макаров М.С., Сторожева М.В., Боровкова Н.В., Буланов А.Ю., Пономарев И.Н. Выбор оптимальной среды для разведения пулированных концентратов тромбоцитов, размороженных после криохранения. *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: Реабилитация, Врач и Здоровье.* 2025;15(3):165-171. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2025.3.MORPH.4>



CHOOSING THE OPTIMAL DILUTION MEDIUM FOR POOLED PLATELET CONCENTRATES, THAWED AFTER CRYOPRESERVATION

Maksim S. Makarov¹, Mayya V. Storozheva¹, Natal'ya V. Borovkova^{1,2}, Andrey Yu. Bulanov¹, Ivan N. Ponomarev¹

¹N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, 3, Bolshaya Sukharevskaya sq., Moscow, 129090, Russia

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 2/1, Barrikadnaya st., bldg. 1, Moscow, 125993, Russia

Abstract. *Background.* The current methods of cryopreservation, working with pooled platelet concentrates (PPC), require optimization. An urgent task is to select adequate dilution of thawed doses in order to reduce the toxic effect of cryoprotector. *The aim of work.* To evaluate the effect of plasma-substituting solutions on the morphofunctional properties of pooled platelet concentrates after their cryopreservation, cryopreservation and defrosting. *Materials and methods.* We studied morphofunctional properties of platelets, cryopreserved in the presence of 5-6% dimethyl sulfoxide and 0.5% dextran and diluted after defrosting with different media. Autologous cell-free medium, isolated from PPC before platelet freezing, allogeneic fresh-frozen plasma (FFP), plasma-substituting InterSol solution, plasma substitute rheopolyglucine were used for platelet resuspension. To assess the quality of platelets we used the method of thromboelastography and the method of morphofunctional platelet analysis, including vital staining with fluorochrome dyes. *Results.* The initial PPC-samples significantly differed in the viability, structural and functional features of platelets. When thawed PPC-samples were diluted with in ratio 1:9, in experiments with autologous medium or FFP the safety of the total number of biologically complete platelets averaged 52-53%, with InterSol solution – 37%, rheopolyglucine – 8%. InterSol solution caused spontaneous platelet activation, while rheopolyglucine caused spontaneous activation associated with massive platelet destruction. Correlation was revealed between the preservation of biologically complete platelets after defrosting of the PPC and morphofunctional parameters in the initial PPC. When thawed PPC-samples were diluted with autologous medium or FFP in ratio 1:9, the morphofunctional status of platelets did not change for 2-3 hours, in ratio 1:4 – for 30 minutes. *Conclusions.* Before cryopreservation PPC presented decrease of morphofunctional characteristics of platelets, followed with their increased reactivity. Resuspension of thawed PPC in pure InterSol solution or polyglucine leads to rapid loss of platelet quality and is ineffective. For the dilution of thawed PPC it is recommended to use autologous plasma medium or allogeneic fresh frozen plasma.

Keywords: platelet concentrate [D017713]; cryopreservation [D015925]; thawing [D058108]; dilution medium [D003470]; pooled platelets [D017713]; functional activity [D019245]; platelet aggregation [D010974]; platelet adhesion [D010973]; physiological saline [D012965].

Competing interests. The authors declare no competing interests.

Funding. This research received no external funding.

Cite as: Makarov M.S., Storozheva M.V., Borovkova N.V., Bulanov A.Yu., Ponomarev I.N. Choosing the optimal dilution medium for pooled platelet concentrates, thawed after cryopreservation. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ": Rehabilitation, Doctor and Health.* 2025;15(3):165-171. <https://doi.org/10.20340/vmi-rvz.2025.3.MORPH.4>

Введение

Концентраты тромбоцитов (КТ) широко востребованы в клинической практике для предотвращения и купирования кровотечений. Актуальной задачей современной трансфузиологии является внедрение новых эффективных способов хранения тромбоцитов, в частности КТ, полученных путём пулированных тромбоцитных фракций из доз консервированной крови доноров [1]. На сегодняшний день криоконсервирование тромбоцитов является единственным технологически эффективным и безопасным способом длительного хранения КТ, предназначенных для клинического использования в трансфузиологии. При этом все известные эффективные методики криоконсервирования и разморозки тромбоцитов предназначены для работы с КТ, полученными путём аппаратного афереза [2, 3]. Ранее нами было показано, что в пулированных КТ тромбоциты имеют более высокую реактивность на фоне снижения других морфофункциональных характеристик, проявляют склонность к спонтанной активации [4]. Тромбоциты человека являются высокочувствительными к изменению физико-химических свойств среды [5-7], поэтому большое значение имеет выбор адекватного препарата для разведения размороженных доз с целью снижения токсического действия криопротекторов.

Цель настоящей работы – оценить влияние плазмозамещающих растворов на морфофункциональные свойства пулированных концентратов тромбоцитов после их криоконсервирования, криохранения и разморозки.

Материалы и методы

Исследование проведено в 2024 году на базе Научного отделения биотехнологий и трансфузиологии, Отделения клинической, производственной трансфузиологии и гравитационной хирургии крови ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ». В работе исследовали образцы консервированной крови доноров и КТ, полученных путём пулирования тромбоцитных фракций, выделенной из единичных доз цельной крови доноров. У доноров в ходе процедуры донорации забирали кровь в объёме 450 мл в полимерные гемоконтейнеры CPD/PAGGSM с фильтром Leucoflex LXT (Macopharma, Франция). В последующем все дозы консервированной крови подвергали процедуре тромбо- и лейкоредукции для проведения тромбоэластографического исследования гемостатической активности пулированных КТ *in vitro*. Отбор проб для исследований осуществляли из гемоконтейнеров с консервированной кровью на этапах до и после лейкоредукции, используя стерильный коннектор TSCD-II (Terumo BCT, США) и пластиковые контейнеры-спутники объёмом 3-4 мл.

Пулированные концентраты тромбоцитов (ПулКТ) изготавливали с использованием тромбоцитных фракций, полученных в ходе фракционирования доз консервированной крови доноров на аппарате Reveos (Therumo BCT, США). Для этого смешивали в новом стерильном контейнере образцы тромбоцитных фракций от 4 кадровых доноров, имевших одинаковые группу крови и резус-принадлежность. Перенос биоматериала между контейнерами проводили через закрытую одноразовую стерильную систему, включавшую лейкоцитарный фильтр. После пулирования получали концентрат объёмом 100-120 мл с содержанием тромбоцитов не менее 200×10^9 клеток, в который дополнительно вносили 180-190 мл плазмозамещающего раствора SSP из расчёта не менее 40 мл раствора на 60×10^9 тромбоцитов [7]. Инактивацию патогенов в пулированных КТ проводили на аппарате Intercept Illuminator (Cerus Corporation, США). Для криоконсервирования ПулКТ был выбран известный способ, включающий редуцирование объёма тромбоцитсодержащей среды, использование комбинированного криопротектора на основе диметилсульфоксида (ДМСО) и декстрана [8]. Образцы ПулКТ разделяли на тромбоцитсодержащую часть и бесклеточную среду центрифугированием при 1100-1400g. Исходный комбинированный криопротектор, содержащий 55% ДМСО и 5% декстрана 40, разводили аутологичной бесклеточной средой, выделенной из ПулКТ, до конечной концентрации ДМСО 10-12% и ресуспендировали тромбоцитсодержащую часть разведённым криопротектором до конечной концентрации ДМСО 5-6%. Тромбоцитсодержащую часть и аутологичную бесклеточную среду замораживали со скоростью 1-3°/мин при минус 80 °С - минус 100 °С и хранили при минус 85 °С - минус 196 °С. Размораживали ПулКТ нагреванием при 32-36 °С в течение 2-10 мин. Для ресуспендирования тромбоцитов и разведения ДМСО использовали следующие среды: аутологичная бесклеточная среда, выделенная из ПулКТ до заморозки тромбоцитов (аутологичная плазма + консервант SSP); аллогенная свежезамороженная плазма (СЗП), полученная у доноров компонентов крови; добавочный раствор для хранения тромбоцитов/плазмозамещающий раствор InterSol (Baxter, США); препарат-заменитель плазмы реополиглюкин. Образцы каждого размороженного ПулКТ ресуспендировали в 4 указанных средах в соотношении 1:4 и 1:9 для оценки влияния разных концентраций остаточного ДМСО на сохранность тромбоцитов при 20-22 °С.

Оценку качества тромбоцитов проводили до криоконсервирования, а также после размораживания и разведения образцов ПулКТ. Для оценки тромбоцитов выполняли морфофункциональный анализ с использованием флуоресцентной микро-

скопии и тромбоэластографию (ТЭГ). Морфофункциональный анализ проводили на микроскопе Eclipse 80i (Nikon, США) со встроенной флуоресцентной насадкой Declipse C1si (Nikon, США). Перед микроскопическим исследованием тромбоциты окрашивали смесью витальных (прижизненных) флуорохромных красителей трипафлавина и акридинового оранжевого на 0,15М фосфатном буфере Зеренсена (pH = 7,3) в соотношении 1:1. Витально окрашенные клетки исследовали под объективом с увел. $\times 100$, числовая апертура - 1,25. Для получения флуоресцентного изображения использовали светофильтр (λ -возбуждения - 450-490 нм, λ -эмиссии - от 520 нм). Полученные изображения фотографировали с помощью цифровой фотокамеры «Nikon» (Nikon, США) при экспозиции 0,25-0,5 сек. Для морфометрического исследования тромбоцитов использовали программу Adobe Photoshop 7. В процессе работы оценивали следующие параметры: общая концентрация тромбоцитов, 10^9 /л; относительное содержание тромбоцитов с гранулами, Дтр.гр., % (норма 35-75%); абсолютное содержание тромбоцитов с гранулами, 10^9 /л; содержание тромбоцитов, богатых гранулами, ТБГ, % (норма 8-40%); адгезивная активность тромбоцитов, ААТ, баллы (норма 30-75 баллов), уровень тромбоцитов с повреждёнными мембранами, ТПМ, % (норма 2-3%); скорость адгезии тромбоцитов на стекле (норма 10-30 мин); сохранность общего числа тромбоцитов (в % от исходного содержания в ПулКТ); сохранность тромбоцитов с гранулами $S_{\text{тр.гр}}$ (в % от исходного содержания). В процессе ТЭГ-исследования сравнивали результаты тромбоэластографии цельной крови (положительный контроль), крови, фильтрованной через тромбо-лейкоцитный фильтр (отрицательный контроль) и фильтрованной крови, совмещённой с ПулКТ в соотношении 9:1 (опытный образец). Исследования проводили на тромбоэластографе Hemoscope Thrombelastograph с программой TEG Analytical Software 4.3. Для проведения ТЭГ 340 мкл крови смешивали с 20 мкл 0,2М раствора хлористого кальция в одноразовой пластиковой кювете и помещали в анализатор. Оценивали следующие параметры: k - время от начала образования сгустка до достижения амплитуды 20 мм, в мин., (норма 4-9 минут) и максимальную амплитуду МА (норма 44-64 мм). Для оценки гемостатического потенциала тромбоцитов в КТ было предложено оценивать изменение параметра МА между пробой исходной крови доноров и пробой фильтрованной крови с тромбоцитами КТ и параметр k в пробе фильтрованной крови с КТ. Для оценки изменения МА предложен коэффициент восстановления гемостатической функции HR (hemostasis recovery), который рассчитывают по формуле:

$$HR = (MA_s - MA_n) / (MA_p - MA_n) \times 100\%,$$

где МАs – максимальная амплитуда фильтрованной крови с добавлением КТ; МАп – максимальная амплитуда фильтрованной крови без тромбоцитов; МАр – максимальная амплитуда исходной донорской крови.

Статистический анализ проводили при помощи программ Statistica 10.0. и BioStat Pro 5.9.8. Для статистической обработки вычисляли медиану (Me), 1-й и 3-й квартили (25%; 75%), коэффициент корреляции Спирмена. Для оценки различий между выборками использовали U-критерий Манна – Уитни для независимых переменных и критерий Вилкоксона для связанных выборок. Для исследования взаимосвязи признаков использовали метод корреляционного анализа Спирмена (r). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В исходных ПулКТ значения Дтр.гр. составили 22 [17; 25]%, концентрация тромбоцитов с гранулами – 198 [136; 225] $\times 10^9$ /л, ТБГ – 7 [4; 10]%, ААТ – 20 [15; 25] баллов, ТПМ – 35 [29; 42]%. Среди обследованных ПулКТ в 43% случаев скорость адгезии тромбоцитов на стекле была нормальной, в 18% – повышенной, в 17% – высокой и очень высокой, в 22% – низкой. Таким образом, исходные ПулКТ заметно различались по жизнеспособности и структурно-функциональным особенностям тромбоцитов в их составе. В образцах ПулКТ до криоконсервирования с нормальным содержанием тромбоцитов значения МА составили 49 [44; 52] мм, значения k – 3,8 [3,4; 4,2], что соответствовало норме. При этом также наблюдалась неоднородность ПулКТ по функциональному потенциалу тромбоцитов. Установлена прямая взаимосвязь между параметром ААТ и МА в исходных ПулКТ, коэффициент корреляции r составил 0,57 ($p < 0,05$). После криоконсерви-

рования, разморозки и разведения ПулКТ при использовании всех типов сред морфофункциональные параметры были достоверно ниже, чем в исходных ПулКТ, однако степень этого снижения заметно варьировала. Было установлено, что при разведении размороженных ПулКТ аутологичной средой или СЗП качество тромбоцитов заметно не различается, в то время как при использовании раствора InterSol качество тромбоцитов снижено по сравнению с использованием аутологичной среды или СЗП (табл. 1).

Этот эффект сохраняется и в процессе хранения размороженных ПулКТ в течение 1–4 часов при 20–22 °С. При разведении размороженных ПулКТ раствором InterSol в 75% образцов наблюдалась спонтанная активация тромбоцитов, которая приводила к их очень быстрой адгезии на стекле, образованию in vitro конгломератов и ускоренной деградации тромбоцитов в их составе. Этот эффект усиливался при добавлении хлорида кальция: при микроскопическом исследовании наблюдалось быстрое формирование тромбофибриновых сгустков при температуре 20–22 °С. При использовании реополиглюкина качество тромбоцитов резко снижалось уже через 5–10 минут после разморозки и сопровождалось массовым разрушением тромбоцитов или их спонтанной активацией.

При ТЭГ-исследовании медианные значения параметра k соответствовали норме в КТ, разведённых аутологичной средой, СЗП и раствором InterSol, что может быть связано с высвобождением из тромбоцитов факторов свертывания в процессе их криодеструкции и их участием на начальных этапах формирования сгустка. При разведении размороженных КТ реополиглюкином параметр k заметно удлинялся, что отражает нарушенную тромбообразующую функцию тромбоцитов.

Таблица 1. Оценка качества тромбоцитов ПулКТ после криоконсервирования, разморозки и ресуспендирования в разных средах
Table 1. Quality assessment of platelets in pooled platelet concentrates after cryopreservation, thawing and resuspension in different media

Параметры оценки качества тромбоцитов	ПулКТ до криоконсервирования	ПулКТ после криоконсервирования, разморозки и ресуспендирования в разных средах			
		Аутологичная среда (плазма+SSP)	СЗП	InterSol	Реополиглюкин
Дтр.гр., %	20 [17; 21]	9 [8; 10]*	9 [9; 12]*	6 [6; 8]**	2 [1; 3]**
ААТ, баллы	17 [16; 19]	8 [6; 10]*	9 [8; 12]*	6 [5; 7]*	1 [1; 2]**
Скорость адгезии тромбоцитов на стекле, мин	12 [8; 20]	14 [10; 30]	11 [10; 30]	2 [1; 3]**	35 [26; 40]**
ТПМ, %	36 [27; 44]	60 [56; 64]*	56 [52; 62]*	67 [64; 70]**	77 [75; 80]**
Максимальная амплитуда, мм	54 [40; 56]	35 [32; 37]*	40 [37; 41]*	35 [34; 39]*	29 [26; 31]**
k	3,4 [3; 4,2]	5,4 [4,2; 6]*	4,4 [3,2; 5,2]	4,4 [3; 5,3]	9 [7; 12]**
Сохранность общего числа тромбоцитов (в % от исходного содержания)	-	93 [83; 100]	98 [92; 100]	98 [93; 100]	98 [90; 97]
Сохранность тромбоцитов с гранулами (в % от исходного)	-	53 [42; 61]	52 [41; 63]	37 [31; 42] #	8 [5; 15] #

Примечание: * – относительно ПулКТ до криоконсервирования при $p < 0,05$; # – относительно аналогичного образца в аутологичной среде при $p < 0,05$.

Медианные значения параметра МА были во всех случаях ниже нормы, что может быть обусловлено низким содержанием тромбоцитов с гранулами. Необходимо учитывать, что ещё до этапа криоконсервирования ПулКТ имели сниженные или низкие значения морфофункционального статуса тромбоцитов, часто на фоне их повышенной реактивности. В связи с этим было важно оценить сохранность функционально полноценных тромбоцитов в ПулКТ. Сохранность общего числа тромбоцитов была высокой при использовании всех типов разводящих сред, однако сохранность тромбоцитов с гранулами заметно различалась. При использовании аутологичной среды или СЗП сохранность тромбоцитов с гранулами составляла в среднем 52-53%, тогда как при использовании раствора InterSol - 37%, реополиглюкина - 8%. Таким образом, для разведения размороженных ПулКТ необходимо использовать аутологичную среду или СЗП. СЗП может быть применена в тех случаях, когда по трансфузиологическим показаниям пациенту назначается доза СЗП для коррекции плазменного звена гемостаза. Если трансфузионная тактика не подразумевает использование СЗП, более оправданно использовать аутологичную среду.

При разведении размороженных ПулКТ аутологичной средой или СЗП до концентрации ДМСО 0,5-0,6% (соотношение тромбоцитосодержащей части и разводящей среды 1:9) морфофункциональный статус тромбоцитов значимо не менялся в течение 2-3 часов, при разведении до концентрации ДМСО 1,0-1,5% (соотношение тромбоцитосодержащей части и разводящей среды 1:4) морфофункциональный статус не менялся в течение 30 минут, затем наблюдалось его постепенное снижение (рис. 1).

Таким образом, в условиях переливания криоконсервированных ПулКТ сразу после их разморозки достаточно разведение размороженных тромбо-

цитов аутологичной средой или СЗП в соотношении 1:4. Если после разморозки ПулКТ требуется транспортировка или другие процедуры, рекомендуется разведение размороженных тромбоцитов аутологичной средой или СЗП в соотношении 1:9.

В процессе морфофункционального анализа тромбоцитов до и после криоконсервирования была выявлена корреляционная связь между параметрами качества тромбоцитов исходных ПулКТ и сохранностью тромбоцитов с гранулами после криоконсервирования и разморозки КТ в аутологичной среде или СЗП (табл. 2).

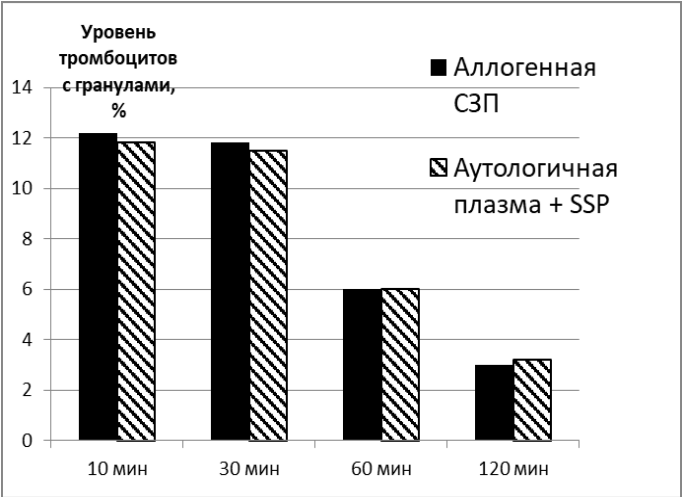


Рисунок 1. Изменение содержания тромбоцитов с гранулами в размороженных ПулКТ, разведённых аутологичной бесклеточной средой из ПулКТ (плазма + SSP) и аллогенной СЗП с остаточной концентрацией ДМСО 1,0-1,5%

Figure 1. Changes in the content of platelets with granules in thawed pooled platelet concentrates diluted with autologous cell-free medium from pooled platelet concentrates (plasma + SSP) and allogeneic fresh frozen plasma with residual DMSO concentration of 1.0-1.5%

Таблица 2. Корреляционная взаимосвязь между морфофункциональными параметрами исходных ПулКТ до заморозки и сохранностью тромбоцитов с гранулами после криоконсервирования

Table 2. Correlation between morphofunctional parameters of initial pooled platelet concentrates before freezing and preservation of platelets with granules after cryopreservation

Параметр ПулКТ до заморозки	Коэффициент корреляции, отражающий взаимосвязь параметра и сохранности тромбоцитов с гранулами после криоконсервирования (p < 0,05)	
	Аутологичная среда (плазма+SSP)	Аллогенная СЗП
Дтр.гр., %	0,18 (p = 0,147)	0,02 (p = 0,205)
ААТ, %	0,34 (p = 0,046)	0,05 (p = 0,091)
ТБГ, %	0,78 (p = 0,012)	0,73 (p = 0,016)
ТПМ, %	-0,25 (p = 0,088)	-0,77 (p = 0,021)
МА, мм	0,28 (p = 0,049)	0,02 (p = 0,206)

В обеих группах выявлена высокая положительная корреляция между уровнем ТБГ (тромбоциты, богатые гранулами) в исходных ПулКТ и $Sx_{тр.гр.}$, тогда как корреляция между общим уровнем тромбоцитов с гранулами Дтр.гр и $Sx_{тр.гр.}$ отсутствовала или была слабой. В опытах с разведением аутологичной

средой наблюдалась достоверная прямая корреляция между ААТ, МА в ПулКТ и $Sx_{тр.гр.}$. В опытах с разведением СЗП достоверная корреляция между ААТ, МА в ПулКТ и $Sx_{тр.гр.}$ не выявлялась, но при этом отмечена сильная обратная корреляция между ТПМ и $Sx_{тр.гр.}$. Можно заключить, что при размораживании

тромбоцитов в СЗП конечное качество тромбоцитов сильно зависит от исходного содержания наиболее жизнеспособных клеток (ТБГ) и клеток с сильно поврежденными мембранами (ТПМ), при этом параметры, отражающие только функциональную активность тромбоцитов (ААТ, МА), являются недостаточными для прогнозирования сохранности криоконсервированных тромбоцитов при использовании СЗП. Напротив, при размораживании тромбоцитов в аутологичной среде ПулКТ (плазма+SSP) параметры ААТ и МА являются значимыми. С учётом того, что при размораживании криоконсервированных ПулКТ могут быть использованы в равной степени аутологичная среда и СЗП, для оценки пригодности ПулКТ к криоконсервированию актуальной является оценка всех указанных параметров (ААТ, ТБГ, ТПМ, МА).

Проведённое исследование показало, что разведение размороженных ПулКТ наиболее оправданно проводить плазмой или раствором с высоким содержанием плазмы. В противоположном случае происходит неконтролируемая потеря морфофункционального статуса тромбоцитов. Стоит отметить, что ресуспендирование тромбоцитов человека в простом физиологическом растворе (0,9% раствор хлорида натрия) вовсе не вызывает такого повреждения, при том что такой физиологический раствор не имеет буферной системы, в отличие от препарата InterSol. Резкое изменение редокс-потенциала среды является сильным фактором, способным вызывать спонтанное повреждение или активацию тромбоцитов [5]. К сожалению, в нашей работе не проводилась редоксиметрия плазмозамещающих сред, поэтому нельзя чётко определить, насколько редокс-потенциал InterSol и реополиглюкина мог влиять на свойства тромбоцитов. Токсическое действие реополиглюкина, по всей видимости, связано с избытком декстрана в его составе. Высокая концентрация декстрана создаёт гипертонию,

которая как было нами показано ранее, приводит к быстрому разрушению тромбоцитов [5]. Не исключено, что в условиях плазмы избыток ДМСО не только разводится раствором, но и адсорбируется белками плазмы, в первую очередь альбумином и фибриногеном. Высокая аффинность ДМСО к фибриногену способствует фибринообразованию в условиях высоких концентраций ДМСО [9, 10]. В нашем случае разведение ДМСО в тромбоцитсодержащей части ПулКТ позволяло снизить токсическое действие ДМСО на тромбоциты как при разведении 1:9, так и при разведении 1:4. Нужно признать, что вопрос дилуции ДМСО-содержащих КТ перед трансфузией пациентов является весьма важным и требует согласования с клиническими трансфузиологами. Внедрение эффективных методик криоконсервирования и разморозки ПулКТ позволит значительно расширить возможности трансфузиологических отделений и станций службы крови.

Выводы

В пулированных концентратах тромбоцитов перед криоконсервированием наблюдается снижение ряда морфофункциональных характеристик тромбоцитов на фоне их повышенной реактивности. Ресуспендирование размороженных пулированных концентратов тромбоцитов в чистом растворе InterSol или полиглюкине приводит к быстрой потере качества тромбоцитов и является неэффективным. Для разведения размороженных пулированных концентратов тромбоцитов необходимо использовать аутологичную среду с плазмой или аллогенную свежезамороженную плазму. При разведении пулированных концентратов тромбоцитов аутологичной плазмой или свежезамороженной плазмой в соотношении 1:9 морфофункциональный статус тромбоцитов сохраняется в течение 2–3 часов, при разведении 1:4 – в течение 30 минут.

Литература [References]

- 1 Хамитов Р.Г., Гаврилей А.В., Дрожжина И.Е., Костикова О.Н., Кочеткова М.А., Медянцева Л.Г., и др. Трудности внедрения пулированных тромбоцитов. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2022;(4):22–29. Khamitov R.G., Gavriley A.V., Drozhzhina I.E., Kostikova O.N., Kochetkova M.A., Medyantseva L.G., Rassokhina O.I., Taskaeva E.I., Shestakov E.A., Zhiburt E.B. Difficulties in the pooled platelets implementation. *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2022; (4):22–29. (In Russ.). <https://doi.org/10.25555/THR.2022.4.1037>
- 2 Высочин И.В., Кобзева Е.Н., Макаров М.С., Хватов В.Б., Костин А.И., Серых А.В., и др. Клинико-экономическое обоснование оценки индивидуальной совместимости криоконсервированных тромбоцитов и тромбоцитных концентратов перед трансфузией реципиентам. *Трансфузиология*. 2016;17(3):57–74. Vysochin I.V., Kobzeva E.N., Makarov M.S., Khvatov V.B., Kostin A.I., Serykh A.V., Aristakesyan A.A., Roganova E.A. Clinical and labor value points individual compatibility studying of cryopreserved platelets and platelet concentrates before transfusion to recipients. *Transfusiologiya*. 2016;17 (3):57–74 (In Russ.).
- 3 Valeri CR, Macgregor H, Ragno G. Correlation between in vitro aggregation and thromboxane A2 production in fresh, liquid-preserved, and cryopreserved human platelets: effect of agonists, pH, and plasma and saline resuspension. *Transfusion*. 2005;45(4):596–603. PMID: 15819682. <https://doi.org/10.1111/j.0041-1132.2005.04291.x>
- 4 Буланов А.Ю., Макаров М.С., Боровкова Н.В., Сторожева М.В., Пономарев И.Н., Евсеев А.К., и др. Сравнение параметров качества тромбоцитов в аферезных и пулированных концентратах. *Медицинский алфавит*. 2024;(20):59–64. Bulanov A. Yu., Makarov M. S., Borovkova N. V., Storozheva M. V., Ponomarev I. N., Evseev A. K., Goroncharovskaya I. V., Bitkova E. E., Kostin A. I. Comparing quality parameters of apheresis and pooled platelet concentrates. *Medical alphabet*. 2024;(20):59–64. (In Russ.). <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2024-20-59-64>
- 5 Макаров М.С. Неканонические способы активации тромбоцитов человека. *Медицинский алфавит*. 2015;3(11):30–35. Makarov M.S. Non-canonc ways to human platelet activation. *Medical alphabet*. 2015;3(11):30–35. (In Russ.).

- 6 Tynngård N, Bell A, Gryfelt G, Cvetkovic S, Wikman A, Uhlin M, et al. Cryopreservation of buffy coat derived platelets: Paired in vitro characterization using uncontrolled versus controlled freezing rate protocols. *Transfusion*. 2021;61(2):546-556. PMID: 33345368 <https://doi.org/10.1111/trf.16227>
- 7 Карпова О.В., Ройтман Е.В., Игнатова А.А., Мадзаев С.Р., Румянцев С.А., Плясунова С.А., и др. Оценка качества тромбоцитного концентрата, заготовленного методом афереза с использованием добавочного раствора SSP+. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2014;13(2):20-24. Karpova O.V., Roitman E.V., Ignatova A.A., Madzaev S.R., Rumyantsev S.A., Plyasunova S.A., Trakhtman P.E. Evaluation of the quality of platelet concentrates prepared by apheresis method and stored in additive solution SSP+. *Voprosy hematologii/onkologii y immunopatologii v pediatrii*. 2014; 13(2): 20-24. (In Russ.).
- 8 Высочин И.В., Макаров М.С., Кобзева Е.Н., Хватов В.Б. Способ криоконсервирования тромбоцитов. Патент 2623081 Российская Федерация, МПК 51 A01N 1/02 (2006.01). № 2016124196; заявл. 20.06.2016; опубл. 21.06.2017. Бюл. №18. Vysochin I.V., Kobzeva E.N., Makarov M.S., Khvatov V.B. Method of platelet cryopreservation. Patent RU № 2623081. 21.06.2017, Bul. №18.
- 9 Макаров М.С. Влияние высоких концентраций диметилсульфоксида на биологическую активность тромбоцитов человека в плазме. *Медицинский Алфавит*. 2016;2(13):48-52. Makarov M.S. Influence of high dimethylsulfoxide concentrations on human platelets' biological activity in plasma. *Medical alphabet*. 2016;2(13):48-52. (In Russ.).
- 10 Henderson TR, Henderson RF, York JL. Effects of dimethyl sulfoxide on subunit proteins. *Ann N Y Acad Sci*. 1975;243:38-53. PMID: 236713 <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1975.tb25342.x>

Авторская справка

Макаров Максим Сергеевич

Д-р биол. наук, старший научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

ORCID 0000-0002-2184-2982; MakarovMS@sklif.mos.ru

Вклад автора: разработка концепции и дизайна, анализ данных литературы, сбор и обработка материала, написание и редактирование текста.

Сторожева Майя Викторовна

Научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

ORCID 0000-0003-1927-2404; mayya.storozheva@yandex.ru

Вклад автора: разработка концепции и дизайна, сбор и обработка материала.

Боровкова Наталья Валерьевна

Д-р мед. наук, зав. научным отделением биотехнологий и трансфузиологии, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского; доцент кафедры клинической лабораторной диагностики, Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования.

ORCID 0000-0002-8897-7523; BorovkovaNV@sklif.mos.ru

Вклад автора: разработка концепции и дизайна, написание и редактирование текста.

Буланов Андрей Юльевич

Д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

ORCID 0000-0001-6999-8145; BulanovAY@sklif.mos.ru

Вклад автора: разработка концепции и дизайна.

Пономарев Иван Николаевич

Канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения биотехнологий и трансфузиологии, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

ORCID 0000-0002-2523-6939; rzam@yandex.ru

Вклад автора: сбор и обработка материала.

Author's reference

Maksim S. Makarov

Dr. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department of Biotechnology and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine.

ORCID 0000-0002-2184-2982; MakarovMS@sklif.mos.ru

Author's contribution: concept and design development, literature analysis, collection and processing of material, writing and editing of text.

Mayya V. Storozheva

Researcher, Department of Biotechnology and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine.

ORCID 0000-0003-1927-2404; mayya.storozheva@yandex.ru

Author's contribution: concept and design development, collection and processing of material.

Natal'ya V. Borovkova

Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of Biotechnology and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; Associate Professor of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education.

ORCID 0000-0002-8897-7523; BorovkovaNV@sklif.mos.ru

Author's contribution: concept and design development, writing and editing of the text.

Andrey Yu. Bulanov

Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher of the Department of Biotechnology and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine.

ORCID 0000-0001-6999-8145; BulanovAY@sklif.mos.ru

Author's contribution: concept and design development.

Ivan N. Ponomarev

Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Biotechnology and Transfusiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine.

ORCID 0000-0002-2523-6939; rzam@yandex.ru

Author's contribution: collection and processing of material.