

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Лищук, Н. Г. Анализ эпидемиологической ситуации и мер профилактики иксодового клещевого боррелиоза / Н. Г. Лищук, М. Н. Киндрас, А. Е. Ермакова // Интегративные тенденции в медицине и образовании. – 2020. – Т.1. – С. 43-45.
2. Иксодовый клещевой боррелиоз: клинико-эпидемиологические особенности течения на территории крупного промышленного центра Западного Урала / В. В. Николенко, Н. Н. Воробьева, Е. В. Меркурьева [и др.] // Пермский медицинский журнал. – 2020. – Т. 37. – № . 4. – С. 46-53.
3. Эпидемиологический анализ заболеваемости иксодовым клещевым боррелиозом в Ростовской области / А. П. Хаметова, Н. Л. Пичурина, Г. В. Карпущенко [и др.] // Медицинский вестник Юга России. – 2019. – № . 4. – С. 92-97.
4. Морозько, П. Н. Об эпидемиологической ситуации по инфекциям, передающимся клещами, в РФ / П. Н. Морозько, А. О. Галустян // Актуальные вопросы гигиены. – 2021. – С. 245-252.
5. Основные характеристики эпидемиологии, диагностики и профилактики болезни Лайма в крупных городах Донецкой Народной Республики в 2018-2019 годах / М. А. Максимова, А. Р. Коцюмба, Е. С. Жадан [и др.] // Торсуевские чтения: научно-практический журнал по дерматологии, венерологии и косметологии. – 2020. – № . 2. – С. 60-63.

### Сведения об авторах

Ю.А. Лыгина\* – ассистент кафедры

К.В. Мельник – студентка

Р.Н. Андреев – специалист-эксперт

В.И. Толстюк – заместитель начальника отдела

### Information about the authors

Yu.A. Lygina – assistant of the department

K.V. Melnik – student

R.N. Andreev – expert specialist

V.I. Tolstyuk – Deputy Head of the department

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

alikota21@mail.ru

УДК 616-03

## ОЦЕНКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА И РЯДА БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТРОМБОКОНЦЕНТРАТА НА ПРОТЯЖЕНИИ ХРАНЕНИЯ

Григорий Александрович Лысанов<sup>1,2</sup>, Дмитрий Анатольевич Мазеин<sup>2</sup>, Леонид Иосифович Савельев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра клинической лабораторной диагностики и бактериологии

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»  
Министерства здравоохранения РФ

<sup>2</sup>ГАУЗ СО «Свердловская областная клиническая больница № 1»

Екатеринбург, Россия

### **Аннотация**

**Введение.** В настоящее время в клинической практике различных областей активно используется переливание тромбоцитарной массы. **Цель**

**исследования** – установить имеются ли изменения морфофункционального статуса и биохимических параметров при хранении тромбоконцентрата.

**Материал и методы.** Кровь и тромбоконцентрат от 23 мужчин и 2 женщин доноров СПК в возрасте от 25 до 53 лет (средний возраст 37 лет). Была проведена оценка морфофункционального статуса и биохимических параметров. Оценку морфофункционального статуса проводили с помощью агрегометрии и витального окрашивания тромбоцитов смесью флуорохромов. Биохимические исследования включали в себя определение МДА и лактата.

**Результаты.** При сравнении показателей тромбоконцентрата первых и пятых суток хранения различия агрегации не выявлено. Для морфостатуса выявлена зависимость между сроком хранения и количеством тромбоцитов, содержащих более трех гранул и без гранул. Для биохимических параметров также установлена зависимость между концентрацией и сроком хранения. **Выводы.**

На основании полученных данных установлено, что концентрацию МДА и лактата, а также морфостатус можно использовать в качестве показателей сохранности тромбоцитов в процессе хранения тромбоцитарной массы.

**Ключевые слова:** тромбоконцентрат, морфостатус.

### **EVALUATION OF THE MORPHONCTIONAL STATUS AND A SERIES OF BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THROMBOCONCENTRATE DURING STORAGE.**

Grigory A. Lysanov<sup>1,2</sup>, Dmitry A. Mazein<sup>2</sup>, Leonid I. Saveliev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory Diagnostics and Bacteriology

Ural state medical university

<sup>2</sup>Clinical Hospital № 1 of Sverdlovsk region

Yekaterinburg, Russia

### **Abstract**

**Introduction.** Currently, platelet transfusion is actively used in clinical practice in various fields. **The purpose of the study** is to establish whether there are changes in the morphofunctional status and biochemical parameters during the storage of thromboconcentrate. **Material and methods.** Blood and platelets from 23 male and 2 female SPC donors aged 25 to 53 years (mean age 37 years). An assessment of the morphofunctional status and biochemical parameters was carried out. Morphofunctional status was assessed using aggregometry and vital staining of platelets with a mixture of fluorochromes. Biochemical studies included the determination of MDA and lactate. **Results.** When comparing the indicators of thromboconcentrate of the first and fifth days of storage, no difference in aggregation was revealed. For morphostatus, a relationship was found between the shelf life and the number of platelets containing more than three granules and without granules. For biochemical parameters, a relationship was also established between concentration and shelf life. **Conclusions.** Based on the data obtained, it was found that the

concentration of MDA and lactate, as well as morphostatus, can be used as indicators of the safety of platelets during storage of the platelet mass.

**Keywords:** thromboconcentrate, morphostatus.

## **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время в клинической практике различных областей активно используется переливание тромбоцитарной массы для коррекций нарушений со стороны свертывающей системы крови. Переливание тромбоконцентрата используют для решения таких задач как: коррекция тромбоцитопении развивающейся вследствие вытеснения тромбоцитарного кроветворного ростка опухолевыми клетками, восполнение тромбоцитарного пула у лиц перенесших массивную кровопотерю и так далее.

Таким образом, из всего вышеизложенного следует, что переливание тромбоцитарной массы нашло применение в различных отраслях медицины. Именно поэтому оценка функционального статуса тромбоцитов и поиск новых показателей отражающих их сохранность в процессе хранения является важным звеном в достижении эффективного результата в терапии нарушений свертывания крови.

**Цель исследования** – изучить морфофункциональный статус, методами витального окрашивания и агрегометрии, и ряд биохимических параметров тромбоцитов в тромбоцитарной массе доноров в процессе хранения и установить имеются ли изменения данных параметров при хранения тромбоконцентрата.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

Объектом исследования служили кровь и тромбоконцентрат от 23 мужчин и 2 женщин доноров СПК в возрасте от 25 до 53 лет (средний возраст 37 лет). Лабораторными критериями, на основании которых производят отбор доноров, являются: количество тромбоцитов не менее  $200 \times 10^9/\text{л}$ , отрицательные результаты иммунологических и молекулярно-генетических исследований в отношении следующих инфекционных агентов: ВИЧ, гепатита В, гепатита С и сифилиса. Кровь доноров получали путем венепункции локтевой вены. Кровь собирали в одноразовые шприц-пробирки производства «Sarstedt» содержащие 0,106 молярный раствор цитрата натрия в соотношении 1(цитрат):9(кровь).

Исследование морфостатуса и биохимических показателей проводилось в три временные точки: до процедуры донации (доноры), на первые и пятые сутки хранения.

Оценка морфологического статуса тромбоцитов проводилась путем витального окрашивания тромбоцитов смесью флуорохромов триафлавина и акридинового оранжевого, взятых из тромбоцитарной массы доноров.

Исследование активности тромбоцитов в проделанной работе проводилось методом оптической агрегометрии с использованием в качестве индукторов агрегации АДФ.

Биохимические исследования включали в себя определение МДА и лактата.

Для анализа полученных данных и оценки их статистической значимости применяли: критерий Стьюдента для нормального распределения и критерий Манна-Уитни для распределения отличного от нормального. Было произведено по парное сравнение точек:

1. Точка 0 – кровь доноров непосредственно после взятия;
2. Точка 1 – первые сутки хранения тромбоконцентрата;
3. Точка 2 – пятые сутки хранения тромбоконцентрата.

Уровень статистической значимости выборок принят при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки агрегационной способности тромбоцитов в качестве индуктора агрегации использовали АДФ, который связываясь с гликопротеиновыми рецепторами мембраны тромбоцитов, стимулирует агрегацию и выброс из цитоплазматических гранул собственных индукторов агрегации. Рассчитаны данные описательной статистики для трех точек:

- Точка 0 –  $34,04 \pm 17,90$ ; 27,00;19;50
- Точка 1 –  $0,33 \pm 0,69$ ;0,00;0,00;0,00
- Точка 2 –  $0,21 \pm 0,51$ ;0,00;0,00;0,00

Примечание. Данные представлены, как  $M \pm Std$ , Me; 25÷70%

Таблица 1.

Значения критерия при сравнении степени выраженности признака исследуемых точек АДФ и адреналин

	АДФ 0	АДФ 1	АДФ 2	АДР 0	АДР 1	АДР 2
АДФ 0	-	$P < 0,0001^*$	-	-	-	-
АДФ 1	$P < 0,0001^*$	-	$P = 0,7^{**}$	-	-	-
АДФ 2	-	$P = 0,7^{**}$	-	-	-	-
АДР 0	-	-	-	-	$P < 0,0001^{**}$	-
АДР 1	-	-	-	$P < 0,0001^{**}$	-	$P = 0,3^{**}$
АДР 2	-	-	-	-	$P = 0,3^{**}$	-

\*Примечание: \* - Манна-Уитни ( $P < 0,05$ ), \*\* - Стьюдента ( $P < 0,05$ )

Оценку морфостатуса тромбоцитов проводили с использованием смеси из двух флуорохромных красителей: трипафлавина и акридинового оранжевого. При этом первый краситель окрашивал цитоплазму тромбоцитов в зеленый цвет, а второй краситель окрашивал гранулы тромбоцитов в оранжевый цвет. Тромбоциты, на основании количества гранул, разделяли на три группы: не содержащие гранул (0), содержащие от 1 до 3 гранул (1-3), содержащие 3 и более гранул ( $>3$ ). Рассчитаны данные описательной статистики для каждой группы в трех точек:

- Точка 0:
  - Не содержащие гранулы –  $13,40 \pm 11,26$ ;12,00;3,5;22,5
  - От 1 до 3 гранул –  $44,32 \pm 21,43$ ;45,00;34,75;57,00
  - Более 3 гранул –  $30,28 \pm 19,69$ ;27,00;18,25;39,25
- Точка 1:

- Не содержащие гранулы – 12,63 ±13,98;6,00;0,00;26,00
  - От 1 до 3 гранул – 33,21±27,31;44,50;0,00;55,00
  - Более 3 гранул – 16,67±17,53;16,50;0,00;29,50
  - Точка 2:
  - Не содержащие гранулы – 35,08±20,48;39,00;23,00;50,25
  - От 1 до 3 гранул – 42,08±21,56;46,00;32,00;57,00
  - Более 3 гранул – 6,84±8,24;3,00;1,50;10,25
- Примечание. Данные представлены, как  $M \pm Std, Me; 25 \div 70\%$

Таблица 2.

Значения критерия при сравнении степени выраженности признака исследуемых точек количества гранул

Точки сравнения	Достоверность (P)
Точка 0 (0) – Точка 1(0)	0,11
Точка 0 (1-3) – Точка 1 (1-3)	0,4
Точка 0 (>3) – Точка 1 (>3)	0,4
Точка 1 (0) – Точка 2 (0)	<0,001
Точка 1 (1-3) – Точка 2 (1-3)	0,8
Точка 1 (>3) – Точка 2 (>3)	<0,001

\*Примечание: Манна-Уитни (P<0,05)

Источником МДА являются фосфолипиды мембраны тромбоцитов, которые под действием АФК подвергаются ПОЛ. Рассчитаны данные описательной статистики для трех точек:

- Точка 0 – 14,51±3,99;14,35;12,56;15,58
- Точка 1 – 13,54±2,28;13,80;11,79;14,62
- Точка 2 – 15,32±2,55;15,12;14,35;16,48

Примечание. Данные представлены, как  $M \pm Std, Me; 25 \div 70\%$

Основываясь на том, что основным источником энергии для тромбоцитов является анаэробный гликолиз было проведено определение содержания лактата. Рассчитаны данные описательной статистики для трех точек:

- Точка 0 – 5,04±2,71;4,10;3,76;4,48
- Точка 1 – 17,62±9,66;14,04;10,11;22,38
- Точка 2 – 35,02±15,89;32,30;24,47;39,40

Примечание. Данные представлены, как  $M \pm Std, Me; 25 \div 70\%$

Таблица 3.

Значения критерия при сравнении степени выраженности признака исследуемых точек лактата и МДА

Точки сравнения	Достоверность (P)	Достоверность (P)
	МДА	Лактат
Точка 0 – Точка 1	0,22	0,001
Точка 1 – Точка 5	0,014	0,001

\*Примечание: Манна-Уитни (P<0,05)

## **ОБСУЖДЕНИЕ**

Проанализировав значения, полученные в ходе исследования результаты можно сделать выводы о целесообразности использования предложенных параметров в качестве маркеров сохранности тромбоцитов в процессе хранения.

В случае агрегатометрии обнаружена зависимость изменения агрегационной способности тромбоцитов в крови доноров непосредственно после донации и на первые сутки хранения тромбоконцентрата. Однако зависимости изменения агрегационной способности тромбоцитов в тромбоконцентрата на первые и пятые сутки хранения отсутствует, так как уже на первые сутки хранения происходит полное падение агрегации. Такие результаты могут быть связаны с составом консервирующей среды, используемой для приготовления тромбоцитарной массы, в которой содержится цитрат натрия, связывающий ионы кальция, что и приводит к падению агрегационной способности.

Исследование морфологического статуса позволило установить, что количество гранул тромбоцитов в крови донора и в тромбоконцентрате первых суток хранения достоверной зависимости не имеет, что может быть обусловлено спецификой приготовления тромбоконцентрата, а именно большим количеством тромбоцитов в единице объема. При этом количество пустых тромбоцитов и тромбоцитов, содержащих три и более гранул при сравнении первых и пятых суток хранения, имеет статистическую значимость, в отличие от тромбоцитов содержащих от одной до трех гранул. Подобный результат можно объяснить тем, что в ходе хранения, из группы тромбоцитов содержащих от одной до трех гранул, происходит убыль в пустые, но, при этом, также происходит поступление новых тромбоцитов из группы, содержащих более трех гранул. Вследствие такой миграции количество тромбоцитов содержащих от одной до трех гранул мало отличается в процессе хранения.

Определение уровня МДА показало отсутствие зависимости между кровью доноров и тромбоцитами первых суток хранения, что свидетельствует об низкой активности ПОЛ и, как следствие, низком уровне МДА. При этом зависимость между первыми и пятыми сутками имеется, что связано с активацией ПОЛ по мере хранения тромбоцитов.

Проведение определения уровня лактата показала наличие статистической значимости для всех точек. Исходя из это следует, что по мере хранения происходит прогрессивное увеличение концентрации лактата.

## **ВЫВОДЫ**

Тромбоконцентрат является наиболее дорогостоящим компонентом крови, поэтому поиск маркеров сохранности тромбоцитов во время хранения является перспективным направлением. Исходя из результатов исследования установлено, что:

1. Использование агрегометрии в качестве показателя статуса тромбоцитов требует дальнейшего исследования для установления причины падения агрегационной способности;

2. В ходе хранения тромбоконцентрата происходит умеренное снижение морфостатуса;

3. Наличие связи между сроком хранения тромбоцитарной массы и содержанием в ней МДА и лактата.

### **СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

1. Искусственные и лиофилизированные тромбоциты: реальная альтернатива тромбоконцентратам? / Атауллаханов Ф. И., Воробьев А.И., Емельяненко В.М., Пантелеев М.А // Гематология и трансфузиология. - 2010. - Т.55, № 5. - С. 14-19.

2. Губанова М.Н. Полиморфизм заготовки, применения и эффективности концентратов донорских тромбоцитов/ Губанова М.Н., Аюпова Р.Ф., Жибурт Е.Б. // Анестезиология и реаниматология. -2017. - Т.62, № 1. - С. 77-79.

3. Изучение морфофункциональных свойств тромбоцитов новорожденных в норме, при гипоксии и синдроме системного воспалительного ответа с использованием витального окрашивания / Леонтьев М.А., Родзаевская Е. Б., Пылаев Т. Е. [и др.] // Медицинские науки. Теоретическая медицина. - 2018. - Т.48, № 4. - С. 30-39;

4. Макаров М.С. Физиологическое и прогностическое значение тромбоцитов без гранул / Макаров М.С. // Медицинский алфавит. - 2018. - Т.26, № 3. - С. 32-36.

5. Нурканова А.А. Сравнительная характеристика качества тромбоцитов, полученных в результате разных методов (на опыте Костанайского областного центра крови)/ Нурканова А.А., Хабиева Т.Х. // Вестник КазНМУ. - 2019. - № 2. - С. 170-171

6. Novel system for storage of buffy-coat-derived platelet concentrates in a glucose-based platelet additive solution: parameters and metabolism during storage and comparison to plasma / Gyongyossy-Issa M.I.C., Zhang J.G., Culibrk B. [et al.] // Vox Sang - 2009. - Vol.97. - P. 102-109.

### **Сведения об авторах:**

Г.А. Лысанов\* – ординатор

Д.А. Мазеин – кандидат медицинских наук

Л.И. Савельев – кандидат медицинских наук, доцент

### **Information about authors:**

G.A. Lysanov - Postgraduate student

D.A.Mazein - Candidate of Sciences (Medicine)

L.I.Savelyev – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor

**\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):**

lysanov1996@inbox.ru