



Дашкевич Э.В.✉, Романчук И.А., Коледа И.Н.

Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Беларусь

Криоконсервирование тромбоцитов и интегральная оценка их функциональных свойств

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Дашкевич Э.В. – замысел, концепция, редактирование статьи, окончательное одобрение рукописи; Романчук И.А. – сбор и обработка материала; Коледа И.Н. – сбор и обработка материала.

Подана: 21.02.2024

Принята: 09.04.2024

Контакты: eleonoravdoc@gmail.com, ia.romanchuk10@gmail.com, irina.koleda@tut.by

Резюме

Технология криоконсервирования тромбоцитов необходима для создания безопасных банков тромбоцитных компонентов крови (ТК^к), типированных по АВ0, HLA и HPA системам, при аллоиммунизации и рефрактерности.

Исследование посвящено выбору консервантов, техники заготовки и интегральной оценке тромбоцитного компонента крови.

Материалами были 23 образца тромбоцитного концентрата (ТК), полученные на различных сепараторах клеток крови. В качестве криопротектора (КП) применялся диметилсульфоксид (ДМСО) и глицерол.

Проведение контроля качества: количество тромбоцитов – на гематологическом анализаторе Sysmex KX 21N, содержание остаточных лейкоцитов – на анализаторе ADAM-rWBCNanoentek, уровень pH – на универсальном ионметре ЭВ-74. Оценка качества тромбоцитов в концентрате проводилась на основании анализа параметров: выраженность феномена «метели» в ТК в проходящем свете, наличие макроагрегатов, общее количество тромбоцитов в дозе ТК, процент восстановления тромбоцитов после размораживания, микроскопия мазка после окраски по Май-Грюнвальду в световом микроскопе, дифференциальная оценка тромбоцитов по модифицированной шкале Куницкого с подсчетом процента в трех морфологических группах и расчетом интегрального показателя (ИП). Выполнялась агрегатометрия в образцах ТК.

Результаты. Качество ТК^к зависит от качества исходного ТК (от донора, от сепаратора клеток крови, КП и проч.). Так, при подготовке к замораживанию концентратов тромбоцитов, заготовленных на аппарате MCS+, Trima, на стадиях фракционирования (центрифугирования) отмечалось 58% и 65% пригодных для криоконсервирования образцов соответственно. Все образцы, заготовленные на аппарате AmiCORE, были пригодны для замораживания. ТК, замороженный в камере сепарации аппарата AmiCORE, показывает хороший ИП 84–94%. Свойства ТК^к сохраняются в течение 2 часов после размораживания. Результаты изучения стабильности ТК^к с использованием ИП указывают на сохранность параметров в течение 3, 6, 9 и 12 месяцев хранения.

Ключевые слова: тромбоциты криоконсервированные, контроль качества, интегральная оценка



Dashkevich E., Romanchuk I., Koleda I.

Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnology,
Minsk, Belarus

Cryopreservation of Platelets and Integral Assessment of Their Functional Properties

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Dashkevich E. – idea, concept, editing of the article, final approval of the manuscript; Romanchuk I. – collection and processing of the material; Koleda I. – collection and processing of the material.

Submitted: 21.02.2024

Accepted: 09.04.2024

Contacts: eleonoravdoc@gmail.com, ia.romanchuk10@gmail.com, irina.koleda@tut.by

Abstract

The technology of platelet cryopreservation is necessary to create safe banks of PCs typed according to AB0, HLA and HPA systems in case of alloimmunization and refractoriness. The study is devoted to the preservatives choice, preparation techniques and integral assessment of the platelet components of blood.

The materials were 23 platelet concentrate (PC) samples obtained on various blood cell separators. Dimethylsulfoxide (DMSO) ore glycerol were used as cryopreservatives (CP).

Carrying out quality control: the amount of platelets – on the hematological analyzer Sysmex KX 21N, the content of residual leukocytes – on the ADAM-rWBCNanoentek analyzer, pH level – on the universal ion meter EV-74. The quality of PC was carried out based on the parameters analysis: the severity of the "swirling" phenomenon in PC in transmitted light, the presence of macroaggregates, the total number of platelets in a dose of PC, the platelet recovery percent, light microscopy of a smear after May-Grunwald staining, platelet percent in three morphological groups, modified Kunitsky scale with differential assessment and calculation of integral index (II). Agregometry was performed on PC samples.

Results. The quality of cryopreserved platelets (CPP) depends on the quality of the original PC (from the donor, from the blood cell separator, CP, etc.). So, when preparing PC to cryopreservation from the MCS+ ore Trima cell separators at the fractionation stage (centrifugation) 58% and 65% of suitable samples were noted for freezing respectively. All of PCs from AmiCORE cell separator were suitable for freezing. Platelets frozen in the separation chamber of the AmiCORE device show good II of 84–94%. The properties of CPP are saved mainly for 2 hours after thawing. The results of studying stability of CPP using II indicate the safety of the parameters after 3, 6, 9 and 12 months of storage.

Keywords: cryopreserved platelets, quality control, integral index

■ ВВЕДЕНИЕ

Современные успехи в лечении пациентов в гематологии, онкологии, кардиохирургии, ортопедии, травматологии, реаниматологии, акушерстве и других областях медицины невозможны без использования заместительной терапии компонентами

крови. Трансфузии тромбоцитов являются в настоящее время общепринятым методом лечения и профилактики геморрагического синдрома при тромбоцитопении и тромбоцитопатии. Однако короткий срок хранения тромбоцитного концентрата (ТК) накладывает определенные ограничения в случае массового поступления пациентов (при чрезвычайных ситуациях), при проведении экстренных операций. Ограниченность срока хранения ТК исключает также возможность карантинизации, увеличивая риск трансмиссивных инфекций. Возможным решением данных проблем является внедрение процедуры криоконсервирования тромбоцитов. Без технологии криоконсервирования тромбоцитов невозможно также создание банков тромбоцитных компонентов крови (ТК^к), типированных по системе АВ0, HLA и HPA, для оказания помощи при аллоиммунизации и рефрактерности, что требует иммунологического подбора тромбоцитов [1–3]. Криоконсервирование применяется при аутозаготовке тромбоцитов в период ремиссии у пациентов с ожидаемой рефрактерностью. Согласно современным требованиям GMP неотъемлемой частью криоконсервирования тромбоцитов является контроль качества ТК^к на всех этапах технологического процесса, начиная от контроля качества тромбоцитов у донора и заканчивая контролем качества тромбоцитов после размораживания [4]. В публикациях показано, что в процессе хранения нативного ТК при температуре 20–24 °С и при непрерывном помешивании содержание функционально активных тромбоцитов (ФАТ) в течение первых 2 суток хранения значимо не снижается. Следовательно, в течение этого времени заготовленные тромбоциты должны быть подвергнуты криоконсервации [5, 6].

Существует несколько способов криоконсервирования тромбоцитов с добавлением КП, содержащих диметилсульфоксид (ДМСО), глицерол и др. Одним из способов является получение суперконцентрата тромбоцитов из ТК посредством центрифугирования с последующим добавлением криоконсерванта (КК) и замораживанием при температуре минус 80 °С [7]. Методы проведения контроля качества тромбоцитов, применяемые в настоящее время, не позволяют оценить функциональные свойства криоконсервированных тромбоцитов, что требует разработки новых подходов.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение возможностей практического использования интегрального показателя свойств тромбоцитов при криоконсервировании.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись 23 образца ТК. Образцы были получены на следующих сепараторах клеток крови: AmiCORE (Fresenius Kabi, ФРГ; 16 образцов), TRIMA ACCEL (Terumo BCT, США; 6 образцов), MCS+ (Haemonetics, США; 1 образец).

В качестве КП применялся ДМСО (16 образцов) и глицерол (7 образцов). КК приготавливался на реополиглюкине 10% (10 образцов) и аутологичной плазме (13 образцов).

В качестве контейнеров для замораживания тромбоцитов применялись контейнеры из ПВХ КомПоКон (9 образцов), контейнеры из ЭВА CryoMACS (7 образцов), а также камера сепарации сета к сепаратору клеток крови AmiCORE (7 образцов).

Приготовление КК для образцов, подвергшихся фракционированию, и образцов, замораживаемых в камере сепарации:



- 1) на основе ДМСО, глицерола для замораживания в контейнерах КомПоКон, CryoMACS, Криотромбосет (в технологиях с фракционированием нативного ТК). КП – ДМСО, глицерол разводился в реополиглюкине 10% до концентрации 13,75%;
- 2) на основе ДМСО, глицерола для замораживания в контейнерах КомПоКон, CryoMACS, Криотромбосет (в технологиях с фракционированием нативного ТК). КП – ДМСО, глицерол разводился в плазме того же донора до концентрации 13,75%;
- 3) на основе ДМСО, глицерола для замораживания в камере сепарации аппарата AmiCORE. КП – ДМСО, глицерол разводился в реополиглюкине 10% до концентрации 28%;
- 4) на основе ДМСО, глицерола для замораживания в камере сепарации аппарата AmiCORE. КП – ДМСО, глицерол разводился в аутологичной плазме до концентрации 28%.

Эффективность различных составов КК может быть оценена только после размораживания всех образцов и проведения контроля качества ТК^к.

Количество тромбоцитов в полученном ТК^к определяли по стандартной инструкции на гематологическом анализаторе Sysmex KX 21N (Япония), содержание остаточных лейкоцитов – на анализаторе остаточных лейкоцитов ADAM-rWBCNanoentek (Корея). Измерение уровня pH проводили на универсальном ионометре ЭВ-74 (Россия).

Для анализа качества тромбоцитов в ТКК применяли морфофункциональные методы исследования, поскольку определяемые в них параметры непосредственно отражают морфологию тромбоцитов, их структурную целостность, а также функциональную активность.

Для оценки качества ТКК была применена методика окраски тромбоцитов по методу Май-Грюнвальда с последующим морфологическим анализом по модифицированной шкале Куницкого. Подсчет клеток проводится в световом иммерсионном микроскопе с объективом $\times 100$. Тромбоциты окрашиваются в розово-фиолетовый цвет, имеют вид округлых образований размером 2–4 мкм. Морфологическая шкала «MS» исчислялась по модифицированной методике Куницкого и основывалась на следующих изменениях в структуре тромбоцитов и их форме в следующих группах:

- а) формы покоя: тромбоциты с гладкими контурами – диски и сферы небольших размеров, которые неразличимы при световой микроскопии, поэтому собраны в одну группу (рис. 1);
- б) формы раздражения: дендритные – тромбоциты, у которых появились псевдоподии; длинные тубулярные формы – тромбоциты, которые превратились в продолговатые трубочки; тромбоциты причудливых форм. В эту группу мы также отнесли крупные шарообразные формы с гранулами внутри (рис. 2);
- в) дегенеративные формы: шары (пузыри) – тромбоциты, которые подверглись набуханию после потери способности поддерживать осмотический градиент через мембрану, не содержат гранулы. В эту группу также входят фрагменты разрушенных тромбоцитов, агрегаты (рис. 3).

Высчитывался процент форм в каждой группе и умножался на ряд поправочных коэффициентов: группа а $\times 2$, группа б $\times 1$, группа в $\times 0$. Эти три позиции суммировались с расчетом баллов по модифицированной шкале Куницкого. Максимальная оценка может быть 200, что говорит об отличном качестве ТК^к.

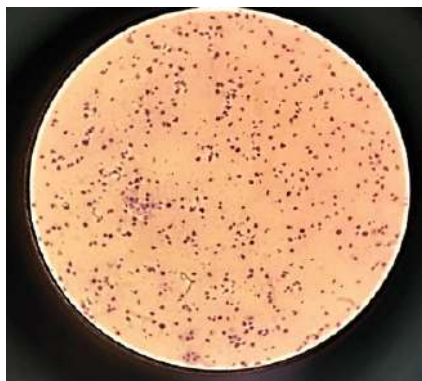


Рис. 1. Формы покоя тромбоцитов
Fig. 1. Forms of platelet rest

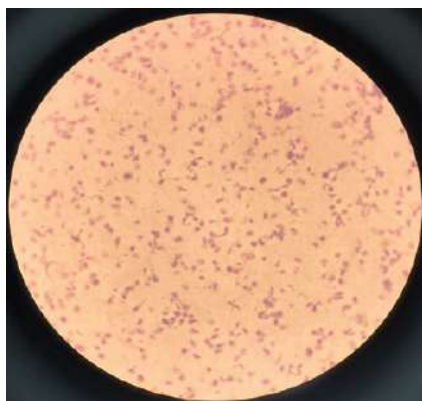


Рис. 2. Большое количество клеток второй группы, агрегаты в ТК
Fig. 2. A large number of cells of the second group, aggregates in PC

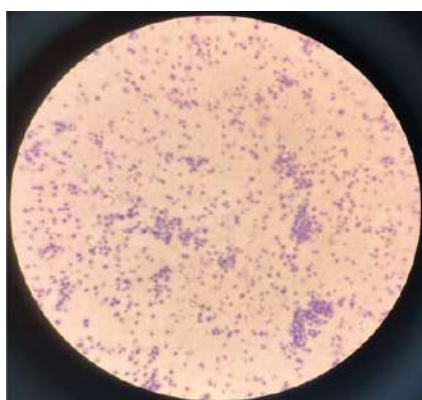


Рис. 3. Агрегаты тромбоцитов
Fig. 3. Platelet aggregates



Для комплексной оценки характеристик ТК, подвергнутых криозамораживанию, разработан способ интегральной оценки качества тромбоцитов с расчетом интегрального показателя (ИП) до и после размораживания с включением нескольких традиционно применяемых способов [8]. Оцениваются следующие параметры: наличие и выраженность феномена «метели» («вихрения») при визуальном осмотре ТК в проходящем свете, наличие макроагрегатов, общее количество тромбоцитов в дозе ТК, процент восстановления тромбоцитов после размораживания, микроскопия мазка тромбоцитов после окраски по Май-Грюнвальду в световом микроскопе: процентное содержание тромбоцитов в трех морфологических группах, выделение процентного содержания первой морфологической группы, наличие тромбоцитов с гранулами, наличие клеточного детрита в мазке ТК и ТК^к. Подсчет в баллах в модифицированной шкале Куницкого с ее дифференциальной оценкой:

- А – наличие и выраженность феномена «метели».

Выполняют визуальный осмотр ТК и ТК^к, просматривая контейнер с тромбоцитами в проходящем свете. Оценивают наличие и выраженность феномена «метели» («вихрения»). Считается, что чем больше в ТК и ТК^к содержится дисковидных форм тромбоцитов, тем лучше выражен феномен «метели» и тем лучше качество ТК^к;

- В – наличие макроагрегатов в ТК^к;
- С – восстановление тромбоцитов после размораживания: подсчитывают общее количество тромбоцитов в дозе ТК^к с помощью калькулятора клеток крови. Оценивают процент восстановления тромбоцитов после размораживания, принимая исходное количество тромбоцитов в дозе за 100%;
- D – содержание клеток первой морфологической группы «а» при окраске по Май-Грюнвальду;
- E – наличие клеток тромбоцитов с гранулами;
- F – наличие клеточного детрита в мазке ТК;
- G – дифференциальная оценка модифицированной шкалы Куницкого.

Далее подсчитывают интегральный показатель (ИП) качества ТК и ТК^к по формуле (в баллах):

$$\text{ИП} = A - B + C + D + E - F + G,$$

где 16–19 баллов – ТК отличного качества, а ИП ≤3 балла – ТК неудовлетворительного качества, то есть брак.

Данный способ интегральной оценки качества тромбоцитов позволяет оценить степень воздействия на ТК и ТК^к не только температурного фактора, но и повреждения при длительном хранении и т. д.

Методика оценки агрегационной ФАТ турбидиметрическим методом с индуктором агрегации с АДФ в дозе 5 мкМ, используемая традиционно для оценки качества тромбоцитов, не является приемлемой для оценки ТК^к ввиду отсутствия агрегации. Однако размороженные ТК^к с КП ДМСО показывают способность к агрегации при индукции коллагеном. Выполнялась агрегатометрия в образцах ТК^к после размораживания и ресуспендирования ТК^к плазмой, а также спустя 4 часа после размораживания.

Для обработки данных использовали программное обеспечение MS Excel (Microsoft, США), статистический анализ проводили с помощью программы STATISTICA v.10 (StatSoft Inc., США).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализировались образцы ТК* по комплексным параметрам. Пример фрагмента дизайна исследования – табл. 1.1, 1.2.

Стандартные параметры контроля качества ТК* (количество тромбоцитов, pH, остаточное количество лейкоцитов) соответствуют нормативному документу по качеству.

На основании анализа полученных данных на этом этапе можно сделать вывод о том, что дорогостоящая оценка качества ТК с помощью маркеров CD41/61, Annexin V

Таблица 1.1
Данные контроля качества ТК*
Table 1.1
Quality control data of PC

Образец		Исходные показатели		После размораживания			
№	Ф. И. О.	ОАК доно- ра в день заготовки	ТК до за- морозки	ТК* сразу после раз- морозки	ТК*, 2 часа после раз- морозки	ТК*, 4 часа после раз- морозки	ТК*, 24 часа после размо- розки
1	Донор Я.В.Г. 1792889 / дата	17.10.2022	18.10.2022	17.01.2023	17.01.2023	17.01.2023	18.01.2023
2	Сведения о технологии						
	Аппарат сепарации / КП		AmiCORE / ДМСО на реополиглюкине				
	Контейнер для замороз- ки/хранения		Камера сепарации		Оригинальный контейнер		
3	Показатели крови						
	PLT, ×10 ⁹ /л	208		1296	1249	1182	–
	К-во PLT в дозе (200 мл), ×10 ⁹		250	259	249,8 (–3,5%)	236,4 (–8,7%)	
	PDW, fL	13,1	13,5	11,5	11,9	11,4	
	MPV, fL	10,9	11,3	10,6	10,7	10,5	
	P-LCR, %	31,8	34,7	28,5	29,7	27,8	
	PCT, %	0,23	1,31	1,37	1,33	1,24	
	pH	–	–	7,3	–	–	–
	Остаточные лейкоциты, ×10 ⁶ /доза	–	0,2	0,2	–	–	–
	Визуальный контроль	–	Гомогенный гиперкон- центрат	Феномен «вихре- ния» ++, диски 87%	Феномен «вихре- ния» ++, диски 88%. По- явились длинные отростки	Феномен «вихре- ния» ++, диски 88%. Появились макро- агрегаты	Феномен «вихрения» ++, диски 68%. Макроагрегаты в большом количестве
4	Оценка по шкале Куниц- кого, баллы		194	182	183	184	139
5	CD маркеры						
	CD 62P (%/интенсив- ность)		55,5/18 391	64,5/7106	–	–	70,1/322
	Annexin V (%/интенсив- ность)		1,5/961	6,2/807	–	–	25,1/793



Таблица 1.2
Данные контроля качества ТК*
Table 1.2
Quality control data of PC

Образец		Исходные показатели		После размораживания		
№	Ф. И. О.	ОАК донора в день заготовки	ТК до заморозки	ТК* сразу после разморозки	ТК*, 2 часа после разморозки	ТК*, 4 часа после разморозки
1	Донор М.М.В. 1793031 / дата	25.10.2022	26.10.2022	12.05.2023	12.05.2023	12.05.2023
2	Данные о технологии					
	Аппарат сепарации / КП	MCS+ / ДМСО в плазме				
	Контейнер для заморозки	Криотромбосет				
3	Показатели крови					
	PLT, $\times 10^9/\text{л}$	253	785	666	640	620
	К-во PLT в дозе (250 мл), $\times 10^9$		196	166,5 (85%)	160 (82%)	155 (79%)
	PDW, fL	10,5	7,5	10	11	12,1
	MPV, fL	9,8	8,6	9,6	10,1	10,6
	P-LCR, %	22,9	12,3	20,4	24,6	29
	PCT, %	0,25	0,67	0,64	0,65	0,66
	pH			7,3		
	Остаточные лейкоциты, $\times 10^6/\text{доза}$		0,04	0,04		
	Визуальная оценка		Гомогенный, феномен «вихрения» +++	Гомогенный, феномен «вихрения» –	Гомогенный, феномен «вихрения» –	–
4	Оценка по шкале Куницкого, баллы		196	74	76	18
5	CD маркеры					
	CD 62P (%/интенсивность)		7,7/22 814	65,1/22 225	–	–
	Annexin V (%/интенсивность)		0,4/651	2,4/4546	–	–

(увеличение % интенсивности) не имеет существенных преимуществ по сравнению с оценкой по модифицированной шкале Куницкого (снижение количества баллов).

При анализе количества тромбоцитов, подсчитанного на аппарате Sysmex XN-350 сразу после размораживания и спустя 2 и 4 часа после размораживания, можно сделать вывод, что оно уменьшалось на 11,1% сразу после размораживания, на 13,8% через 2 часа хранения и 17,1% через 4 часа хранения и находится в пределах допустимых значений – не менее 50% от исходного числа [9]. Феномен «вихрения» при заготовке в камере сепарации аппарата AmiCORE сохраняется после размораживания ТК* в течение 4 часов, в отличие от заготовки в контейнере аппарата MCS+.

Аппаратные характеристики тромбоцитов неинформативны ввиду малого разброса значений.

Все 23 исследуемых образца через 4 часа после размораживания продемонстрировали соответствие показателей качества по нормативным документам качества, однако в 18% образцов наблюдались макроагрегаты с оценкой по ИП менее 3 баллов и непригодность для клинического применения. Через 2 часа все 23 образца показали достаточный ИП (более 4 баллов), такие ТК^к могут быть рекомендованы для трансфузии.

Как видно из табл. 2, при замораживании тромбоцитов в камере сепарации ИП на 18% выше – 16,6 балла по сравнению с 13,6 балла при замораживании в контейнерах после фракционирования. Вероятно, это связано со снижением активации тромбоцитов в процессе заготовки на сепараторе крови AmiCORE, а также отсутствием одного этапа обработки – фракционирования – при подготовке тромбоцитов к замораживанию в камере сепарации.

Была проведена интегральная оценка нативных тромбоцитов (ИП) по суткам хранения. Результаты представлены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, снижение ИП по суткам хранения указывает на снижение качества ТК. И это сопоставимо для трех исследуемых аппаратов заготовки, что отражает процесс повреждения тромбоцитов во время хранения.

В изучаемых образцах ТК^к сразу после размораживания и спустя 4 часа после размораживания была выполнена агрегатометрия с индуктором коллаген. ТК^к, замороженный с КП ДМСО, показывал хорошую способность к агрегации (рис. 4, 5).

Агрегатометрия с коллагеном с разведением пулированной плазмы донора АВ группы может применяться для оценки ФАТ ТК^к. Контроль функциональной активности размороженных ТК^к при агрегации с коллагеном составляет 63% от нормального значения для тромбоцитов крови донора [10].

Таблица 2
Сравнение качества ТК^к, полученных на аппарате AmiCORE и замороженных технологией фракционирования и без нее в камере сепарации аппарата AmiCORE, с помощью ИП (баллы и % от исходного)
Table 2
Comparison of the quality of PC obtained on the AmiCORE apparatus and frozen by fractionation technology and without it in the separation chamber of the AmiCORE apparatus using integrated index (points and % of the original)

№ образца	ИП, баллы, фракционирование	ИП, %, фракционирование	ИП, баллы, камера сепарации	ИП, %, камера сепарации
1	–	–	17	89
2	–	–	16	84
3–4	–	–	17	89
5	14	74	–	–
6	13	86	–	–
7	13	87	–	–
8	13	93	–	–
9	13	81	–	–
Среднее	13,6	84,2	16,6	87,3



Таблица 3
ИП нативных ТК по суткам хранения на трех аппаратах заготовки
Table 3
Integrated index of native PC for days of storage on three machines of the workpiece

Аппарат заготовки	Сутки хранения	ИП, баллы	ИП, %
MSC	1	16	100
	2	12	75
	3	8	50
	4	6	38
	5	5	31
TRIMA	1	18	100
	2	12	67
	3	11	61
	4	5	28
	5	6	33
AmiCORE	1	19	100
	2	10	52
	3	8	42
	4	9	47
	5	7	36

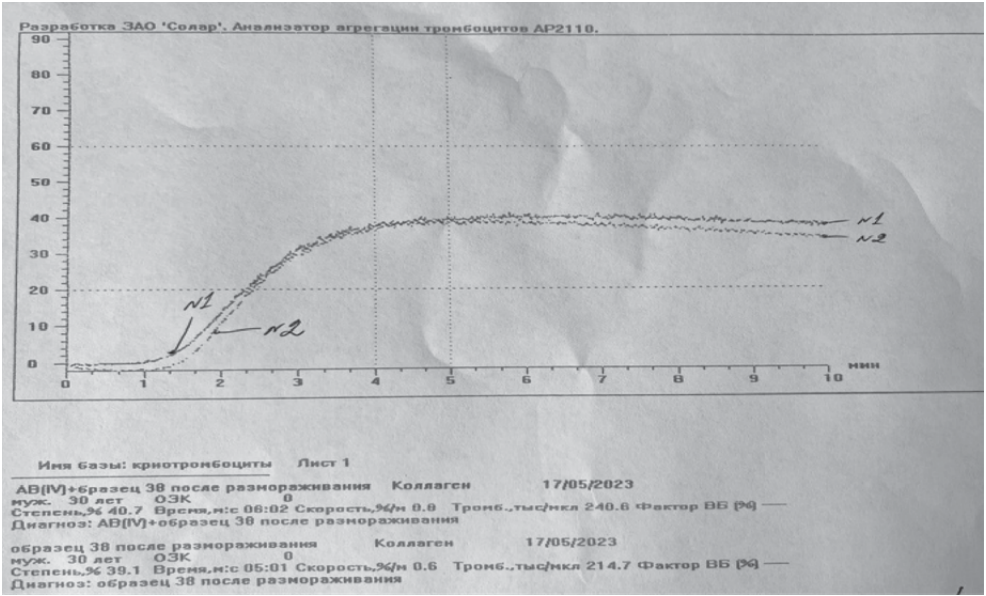


Рис. 4. Агрегатограмма тромбоцитов в образце сразу после размораживания. График 1 – с разведением пулированной плазмой донора АВ группы, график 2 – с разведением плазмой исследуемого донора
Fig. 4. Platelet aggregatogram in the sample immediately after defrosting. Graph 1 – with dilution of the pooled plasma of the AB group donor, graph 2 – with dilution of the plasma of the studied donor

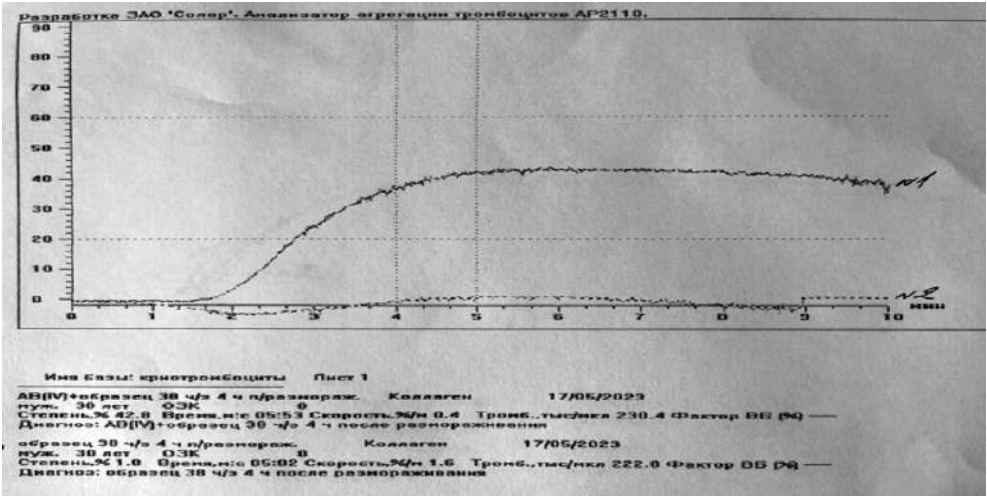


Рис. 5. Агрегатограмма тромбоцитов в образце через 4 часа после размораживания. График 1 – с разведением пулированной плазмой донора АВ группы, график 2 – с разведением плазмой исследуемого донора

Fig. 5. Platelet aggregatogram in the sample 4 hours after defrosting. Graph 1 – with dilution of the pooled plasma of the AB group donor, graph 2 – with dilution of the plasma of the studied donor

Таблица 4

Результаты изучения стабильности опытных образцов ТК^к в течение 12 месяцев

Table 4

The results of studying the stability of PC prototypes for 12 months

№ маркировки образца	12 месяцев хранения					
	Описание	Объем, мл	Сод. тр. в кон. ед. (дозе), ×10 ⁹ л.	Ост. сод. лейкоц., 10 ⁶ /ед.	pH	ИП, %
2756783(1)	Соотв.	250	153	0,0	7,4	64
2756783(2)	Соотв.	250	186	0,04	7,4	63
4206708	Соотв.	200	199	0,1	7,4	66
4206745(1)	Соотв.	200	146	0,1	7,3	93
4206745(2)	Соотв.	200	149	0,1	7,3	91
Среднее значение	Соотв.	220	166,6	0,068	7,36	75,4

Изучение стабильности выполнялось на опытных сериях ТК^к по показателям: объем (50–250 мл), содержание тромбоцитов в конечной единице (дозе) (не менее 50% от содержания тромбоцитов до замораживания), остаточное содержание лейкоцитов (менее 1×10⁶ клеток в единице (дозе)), pH (более 6,4) в соответствии с нормативными документами. Результаты изучения стабильности ТК^к указывают на сохранность параметров через 3, 6, 9 и 12 месяцев хранения (табл. 4).

Разность между средним и истинным значением для серий не выходит за рамки доверительного интервала, что подтверждает стабильность исследуемого показателя при хранении в течение 12 месяцев.



Изучение ИП в сериях в течение 12 месяцев показало сохранность качества ТК^к и пригодность для клинического применения.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценку качества тромбоцитов криоконсервированных до замораживания и после размораживания целесообразно проводить по интегральному показателю, учитывающему как количественные, так и качественные параметры тромбоцитного компонента крови.

В дополнение может использоваться агрегатометрия с индуктором коллаген с разведением пулированной плазмы доноров АВ группы в течение 4 часов после размораживания и ресуспендирования.

Предложенная технология замораживания тромбоцитов в камере сепарации аппарата AmiCORE с использованием криоконсерванта на основе ДМСО или глицерола позволяет отказаться от одного из этапов подготовки ТК – фракционирования, что способствует улучшению качества тромбоцитов после размораживания по ИП на 18%.

Результаты изучения стабильности серий компонента крови тромбоциты криоконсервированные с использованием ИП (75,4% от исходного) указывают на сохранность параметров в течение 12 месяцев хранения.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Mineeva N.V. Antigens and antibodies to platelets (literature review). *Onkogematologiya*. 2013;3:60–68. (in Russian)
2. Hubutiya M.Sh., Makarov M.S., Hvatov V.B., Vysochin I.V., Kobzeva E.N., Borovkova N.V., Konyushko O.I. RF patent for invention No. 2485502 "Method for assessing the morphofunctional status of human platelets", 20.06.2013.
3. Makarov M.S. Morphofunctional analysis of human platelets using vital staining. *Byulleten' eksperim. biologii i mediciny*. 2013;9:388–391. (in Russian)
4. Makarov M.S. *Features of the morphofunctional status of human platelets in norm and pathology* (PhD Thesis). 2014. (in Russian)
5. Vysochin I.V. Harvesting and clinical use of cryopreserved erythrocytes and platelets. *Al'manah klinich. mediciny*. 2014;30:70–74. (in Russian)
6. Karpova O.V. Comparison of platelet morphofunctional properties depending on different processing methods. *Onkogematologiya*. 2014;4:37–44. (in Russian)
7. Vysochin I.V. *Features of platelet harvesting and cryopreservation for clinical use* (PhD Thesis). M., 2019. (in Russian)
8. Patent application "Method for integral assessment of platelet quality obtained by automatic apheresis during cryopreservation" dated September 22, 2023 No. a 20230229. A positive result of the preliminary examination was received on 11.23.2023.
9. Tynngård N. Haemostatic responsiveness and release of biological response modifiers following cryopreservation of platelets treated with amotosalen and ultraviolet A light. *Blood Transfus.* 2020;18:191–200.
10. Dashkevich E.V., Peshnyak Zh.V., Rod'ko E.V., Buhval'd N.A. Patent for the invention of the Republic of Belarus No. 23671 "Method for determining the aggregation activity of platelets in platelet components of blood" 08.2020.