



**ФМБА РОССИИ**  
Федеральное медико-биологическое агентство



Медико-биологический университет  
инноваций и непрерывного образования  
ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Адрес: г. Москва, ул. Живописная, д. 46, стр. 8

Тел.: 8 (499) 190-96-92

Сайт: [www.mbufmbc.ru](http://www.mbufmbc.ru)

**Астрелина Т.А., Высочин И.В.**

## **КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ ТРОМБОЦИТОВ**

Учебное пособие

Москва, 2022

Федеральное медико-биологическое агентство Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Государственный научный центр Российской Федерации –  
Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна»  
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИННОВАЦИЙ И НЕПРЕРЫВНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

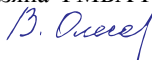
УТВЕРЖДАЮ

Проректор

Медико-биологического университета  
инноваций и непрерывного  
образования ФГБУ ГНЦ ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Олесова В.Н.



ОДОБРЕНО

Ученым советом

Медико-биологического университета  
инноваций и непрерывного  
образования ФГБУ ГНЦ ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Протокол № 2 от 30.04.2022 г.

## **КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ ТРОМБОЦИТОВ**

**Учебное пособие**

**Москва 2022**

**УДК 616.155.2**

**ББК 54.11**

**А91**

**Астрелина Т.А. и др.** Криоконсервирование тромбоцитов: Учебное пособие / Под ред. Высочина И.В. М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2022. 80 с.

**Рецензенты:**

**Рагимов Алигейдар Алекперович** – доктор медицинских наук, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии ИКМ им. Н.В. Склифосовского, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Головкина Лариса Леонидовна** – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией трансфузиологической иммуногематологии, врач клинической лабораторной диагностики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

В настоящем пособии изложены принципы криоконсервации тромбоцитов. Пособие предназначено для специалистов трансфузиологов, гематологов, врачей клинической лабораторной диагностики, а также ординаторов и аспирантов по этим специальностям

**ISBN 978-5-93064-208-7**

© Астрелина Т.А., Высочин И.В., 2022

© ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна  
ФМБА России, 2022

**Авторы:**

**Астрелина Татьяна Алексеевна** – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой регенеративной медицины, гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России

**Аюпова Раиля Фаязовна** – кандидат медицинских наук, заведующая отделом обеспечения безопасности донорской крови и ее компонентов ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови»

**Вафин Игорь Ахметович** – главный врач ГКУЗ «Кузбасский центр крови»

**Власова Елена Васильевна** – заведующая отделом комплектования донорских кадров, врач-трансфузиолог БУ ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск

**Высочин Игорь Валерьевич** – кандидат медицинских наук, сотрудник кафедры регенеративной медицины, гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России

**Галимов Максим Львович** – заместитель главного врача по медицинской части ГАУЗ Свердловской области «Областная станция переливания крови»

**Гаврилей Александр Вячеславович** – главный врач ГБУЗ Тюменской области «Областная станция переливания крови»

**Гончарская Галина Семеновна** – врач-лаборант ГБУЗ Тюменской области «Областная станция переливания крови»

**Горячкина Татьяна Алексеевна** – заведующая отделом заготовки крови и ее компонентов КУ ХМАО-Югры «Станция переливания крови»

**Журавлев Дмитрий Михайлович** – кандидат медицинских наук, главный врач ГБУЗ «Коми республиканский центр крови»

**Зараев Алексей Анатольевич** – главный врач БУЗ Удмуртской Республики «Республиканская станция переливания крови Министерства здравоохранения Удмуртской Республики»

**Ищенко Ирина Владимировна** – главный внештатный специалист Министерства здравоохранения Ростовской области по трансфузиологии, заместитель главного врача по медицинской части ГБУ Ростовской области «Станция переливания крови»

**Кван Оксана Климентьевна** – заведующая отделением отделения клинической и производственной трансфузиологии НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н.Бурденко

**Кобзева Елена Николаевна** – кандидат медицинских наук, врач-трансфузиолог ГБУЗ г.Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

**Козлова Евгения Владимировна** – врач-трансфузиолог ОЗДКиК ГАУЗ Свердловской области «Областная станция переливания крови»

**Козлова Марина Владиленовна** – врач-трансфузиолог ОЗДКиК ГАУЗ Свердловской области «Областная станция переливания крови»

**Копченко Татьяна Георгиевна** – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры регенеративной медицины, гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России

**Кочеткова Марина Александровна** – заведующая отделом, врач-трансфузиолог ГБУЗ Тюменской области «Областная станция переливания крови»

**Макаров Максим Сергеевич** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ГБУЗ г.Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

**Мешеряков Владимир Николаевич** – заместитель главного врача ГБУЗ Астраханской области «Областной центр крови»

**Находкин Дмитрий Александрович** – главный врач ГБУЗ Владимирской области «Областная станция переливания крови»

**Никишина Татьяна Александровна** – заведующая организационно-методическим отделом, врач-трансфузиолог ГБУЗ «Коми республиканский центр крови»

**Обухова Екатерина Евгеньевна** – ассистент кафедры регенеративной медицины, гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России

**Орлов Александр Михайлович** – главный врач ГАУЗ Свердловской области «Областная станция переливания крови»

**Патрина Людмила Александровна** – заведующая отделением комплектования донорских кадров, заготовки крови и ее компонентов ФГБУЗ «Станция переливания крови ФМБА России, г.Екатеринбург»

**Попкова Наталья Геннадьевна** – кандидат медицинских наук, заместитель главного врача по организационно-методической работе ГАУЗ Свердловской области «Областная станция переливания крови»

**Рагожина Светлана Егоровна** – заместитель главного врача ГКУЗ «Кузбасский центр крови»

**Рахманова Гузель Рауфовна** – врач-трансфузиолог ГАУЗ «Республиканский центр крови Министерства здравоохранения Республики Татарстан»

**Саркисов Артур Игоревич** – кандидат технических наук, заместитель генерального директора Научно-производственного предприятия «Биотех-М»

**Саркисов Игорь Юрьевич** – кандидат биологических наук, Генеральный директор Научно-производственного предприятия «Биотех-М»

**Сибгатуллина Лилия Нагимзяновна** – заместитель главного врача по медицинской части ГАУЗ «Республиканский центр крови Министерства здравоохранения Республики Татарстан»

**Силинг Елена Валерьевна** – врач-трансфузиолог высшей категории, заведующая филиалом «Ивановский 1» ОБУЗ «Ивановская областная станция переливания крови»

**Смелянец Светлана Владимировна** – врач-трансфузиолог отделения клинической и производственной трансфузиологии НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н.Бурденко

**Смирнова Марина Ивановна** – главный врач ФГБУЗ «Станция переливания крови» ФМБА России, г.Екатеринбург

**Стрельникова Елена Васильевна** – заместитель главного врача по медицинской части ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови», Уфа

**Судакова Людмила Валерьевна** – заведующая экспедицией с центром управления запасами компонентов донорской крови и группы долгосрочного хранения – врач-трансфузиолог ГБУЗ Владимирской области «Областная станция переливания крови»

**Сухарева Анна Сергеевна** – кандидат медицинских наук, заведующая отделением переливания крови, врач-трансфузиолог БУ ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница», Ханты-Мансийск

**Тураев Рамиль Габдельхакевич** – кандидат медицинских наук, главный врач ГАУЗ «Республиканский центр крови Министерства здравоохранения Республики Татарстан»

**Тюриков Юрий Михайлович** – кандидат медицинских наук, академик Академии медико-технических наук, врач-специалист высшей категории, директор ОБУЗ «Ивановская областная станция переливания крови»

**Фатхуллина Люция Суляймановна** – специалист ГАУЗ «Межрегиональный клинико-диагностический центр»

**Ферапонтова Юлия Владиславовна** – заведующая отделом заготовки крови и ее компонентов ГБУЗ Астраханской области «Областной центр крови»

**Фомина Алена Юрьевна** – главный врач ГБУЗ Астраханской области «Областной центр крови»

**Хамитов Рамиль Галинурович** – главный внештатный специалист по трансфузиологии Министерства здравоохранения Республики Башкортостан, главный врач ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови»

**Хватов Валерий Борисович** – доктор медицинских наук, профессор, научный консультант ГБУЗ г.Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

**Хубутия Могели Шалвович** – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, президент ГБУЗ г.Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

**Чемакин Юрий Алексеевич** – главный врач КУ ХМАО-Югры «Станция переливания крови»

**Широков Дмитрий Владимирович** – заместитель главного врача БУЗ Удмуртской Республики «Республиканская станция переливания крови Министерства здравоохранения Удмуртской Республики»

**Шлыкова Наталья Александровна** – заведующая отделением заготовки крови и ее компонентов ГБУ Ростовской области «Станция переливания крови»

## Содержание

Список сокращений и условных обозначений.....	8
Введение.....	10
Современные способы криоконсервирования тромбоцитов.....	12
Общетоксические свойства и специфическая токсичность криопротекторов на основе диметилсульфоксида .....	27
Методы контроля качества криоконсервированных тромбоцитов.....	31
Карантинизация криоконсервированных тромбоцитов для обеспечения инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии.....	40
Клиническое применение тромбоцитных компонентов.....	42
Иммунологическая совместимость донорских тромбоцитов с реципиентами	51
Организация группы долгосрочного хранения клеток крови (Криобанк) в структуре СПК и ОПК.....	54
Нормативная документация.....	54
Штатные нормативы СПК и ОПК по Криобанку.....	55
Стандарт оснащения Криобанка.....	55
Описание технологии криоконсервирования тромбоцитов.....	57
Стандартная операционная процедура «порядок криоконсервирования тромбоцитов с помощью устройства «Криотромбосет»».....	58
Список литературы.....	67



**Список сокращений и условных обозначений**

АТА – антитромбоцитарные антитела

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГС – геморрагический синдром

ГЭК – гидрокиэтилкрахмал

ДМАЦ – диметилацетамид

ДМСО – диметилсульфоксид

ИК – искусственное кровообращение

ИФА – иммуноферментный анализ

КК – криоконсервирование

КП – криопротектор

КТК – криоконсервированные тромбоциты

ЛЦТ – лимфоцитотоксический тест

НД – нормативные документы

РТ – размороженные тромбоциты

СЗП – свежезамороженная плазма

СПТ – скорректированный прирост тромбоцитов

СП ФАТ – скорректированный прирост функционально активных тромбоцитов

ТК – тромбоцитные концентраты

ТЭГ – тромбоэластография

ФАТ – функционально активные тромбоциты

ЭСК – эритроцитсодержащие компоненты

ЭКМО – экстракорпоральная мембранная оксигенация

ААВВ – Американская ассоциация банков крови

HLA – Human Leucocyte Antigen (антигены лейкоцитов человека)

HPA – Human Platelet Antigen (антигены тромбоцитов человека)

ISBT – международное общество переливания крови

## Введение

Тромбоцитные компоненты интенсивно используют для лечения больных в трансплантологии, кардиохирургии, реаниматологии, гепатологии, гематологии, акушерстве и гинекологии, в педиатрии и неонатологии, хирургии, травматологии [11, 13, 33, 49, 61, 79, 101]. В последние два десятилетия наблюдается устойчивый рост потребности в концентратах тромбоцитов (КТ), как в Российской Федерации [10, 30], так и за рубежом [61, 79, 101]. Трансфузии КТ позволяют останавливать кровотечение у пациентов с тромбоцитопенией и тромбоцитопатией, способствуют разработке и совершенствованию интенсивных лечебных программ во многих областях медицины [49]. При этом заготовка тромбоцитов и их дальнейшее использование сопряжены с известными трудностями. Во-первых, по существующим нормативным документам (НД) хранение КТ не должно превышать 5 суток, что делает невозможной карантинизацию КТ и создает риск передачи гемотрансмиссивных инфекций в условиях серонегативного окна. Во-вторых, возрастающая потребность в тромбоцитах требует создания банков КТ, типированных по системе АВ0, HLA и HPA [43]. Решением этих проблем может быть разработка и внедрение методик длительного хранения тромбоцитов. На сегодняшний день наиболее реализуемым направлением является криоконсервирование (КК) тромбоцитов, т.е. хранение ТК при ультранизких температурах с использованием криопротекторов (КП). Разработка методов КК тромбоцитов ведется с 60-х годов XX-го века, однако до сих пор не предложено стандартных критериев по КК тромбоцитов. КП на основе диметилсульфоксида (ДМСО) считаются «золотым стандартом» для криохранения клеток человека, однако в случае тромбоцитов методика использования ДМСО до сих пор не оптимизирована. Неоднократно показано, что при одном и том же способе КК тромбоцитов с ДМСО сохранность функционально активных тромбоцитов (ФАТ) в криоконсервированных тромбоцитах (ККТ) может значительно варьировать [61, 85]. В результате сохранность ФАТ в ККТ в среднем составляет лишь 30–33% от исходного

уровня [148], доля неэффективных трансфузий ККТ нередко превышает 50% [146]. Во многом трудности обусловлены отсутствием адекватного анализа качества тромбоцитов – как в составе КТ до и после КК, так и в циркулирующей крови самого пациента. В настоящее время для лабораторной оценки эффективности трансфузий КТ используется только один параметр – скорректированный прирост тромбоцитов (СПТ) через 1 и 24 часа после окончания трансфузии – рассчитанный с учетом антропометрических данных реципиента и дозы КТ [29]. СПТ никак не отражает структурную целостность и функциональную активность перелитых тромбоцитов в крови, что не позволяет адекватно корректировать трансфузионную тактику, не позволяет прогнозировать возможное развитие повторных кровотечений.

Таким образом, эффективность трансфузии тромбоцитных компонентов зависит как от исходного качества тромбоцитов, так и от возможности оперативно проводить мониторинг их качества в КТ и в крови пациента. С другой стороны, КК КТ без оценки качества тромбоцитов не позволяет добиться высокой сохранности клеток в составе КТ. В связи с этим актуальным является разработка способа КК тромбоцитов, включающая оценку их морфофункциональных характеристик.

## Современные способы криоконсервирования тромбоцитов

Клиническое применение КТ является рутинным и эффективным методом лечения и профилактики геморрагических осложнений, обусловленных снижением количества тромбоцитов (тромбоцитопения) или их дисфункцией (тромбоцитопатия) [1, 18, 21, 77, 154]. Начиная с середины XX века трансфузии КТ позволили решать проблему купирования тромбоцитопенических геморрагий, которые служат причиной 60–70% летальных исходов у больных с гемобластозами и депрессиями кроветворения [93, 98]. В конце XX и в начале XXI века число трансфузий КТ настолько возросло, что их обеспечение стало огромной нагрузкой для Банков крови во всем мире [2, 48, 74]. Интенсивные трансфузии КТ позволили значительно снизить летальность у больных с тромбоцитопеническим геморрагическим синдромом (ГС), который развивался на фоне гемобластозов, апластической анемии, злокачественных новообразований, лучевой болезни и т.д. Трансфузии КТ способствовали разработке высокотехнологичных лечебных программ в гематологии, онкологии, трансплантологии, что позволило проводить интенсивную высокодозную полихимиотерапию и оперативные вмешательства в сердечнососудистой хирургии, ортопедии, травматологии и т.д. [18, 71, 72, 147, 170].

Однако следует учитывать, что трансфузии КТ могут сопровождаться: аллоиммунизацией и рефрактерностью больных к трансфузиям КТ, передачей опасных гемотрансмиссивных инфекций (вирусных гепатитов, ВИЧ и др.) [40, 59, 153, 162]. Для решения этих проблем могли бы быть использованы технологии КК и долгосрочного хранения тромбоцитов. Эти технологии дали бы возможность дополнительно обследовать донора на наличие возбудителей инфекционных заболеваний, исключить возможность бактериальной контаминации при хранении, создавать банки аутологичных КТ или HLA- и

НРА-типированных аллогенных донорских КТ, транспортировать КТ длительное время на большие расстояния и т. д. [71, 147, 154].

Наличие банка с ККТ может значительно облегчить обеспечение больных достаточным количеством КТ. Анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что основной проблемой КК тромбоцитов является выбор КП, защищающего клетки от разрушения в процессе КК. Установлено, что гибель клетки при замораживании происходит в результате потерь клеточной воды или из-за образования внутриклеточного льда [122, 123, 158]. Согласно теории Н.Мегуман, при медленном замораживании и формировании льда во внеклеточном пространстве происходит концентрирование внеклеточных растворов и увеличение их осмотического давления. В результате возникшего осмотического градиента вода покидает клетку. Обезвоживание клетки и уменьшение ее объема приводят к повреждению мембраны. Наоборот, при быстром замораживании формируется внутриклеточный лед, разрушающий структуру клетки. Добавление КП к суспензии клеток увеличивает концентрацию растворимых веществ, что приводит к снижению точки замерзания и уменьшает количества льда, который образуется при субзамораживающих температурах [122]. Для того чтобы эффективно защищать клетки при замораживании КП должны быть нетоксичными для клеток и легко проникали в них. Большие концентрации КП способны значительно уменьшить количество образуемого льда и повреждение клеток дегидратацией. Однако известно, что тромбоциты, имеют низкую резистентность к неизотоническим условиям. В отличие от эритроцитов, которые выдерживают осмоляльность 1500 мОсмоль и более, тромбоциты начинают терять свои функциональные свойства уже при 800 мОсмоль [122, 123]. Введение и удаление КП обуславливает транзиторный гипер- и гипотонический эффект. Замораживание и размораживания приводит к существенным осмотическим перегрузкам в клетках. В связи с этим становится понятно, что тромбоциты КК труднее, чем другие клетки с более высокой осмотической резистентностью.

Исследования по созданию технологий КК тромбоцитов для клинической практики, за последние 50 лет, оказались не такими успешными, как в случае с другими клетками и тканями. В связи с низкой лечебной эффективностью (30–40% от соответствующего показателя для свежезаготовленных КТ) ККТ пока широко не применяют в лечебной практике [1, 71, 72, 147]. Анализ зарубежной литературы показал, что наиболее эффективным КП для КК и хранения ККТ как при ультранизких, так и при умеренно низких температурах является ДМСО в конечной концентрации 4–6% [2, 69, 157, 170]. В качестве КП испытаны разные соединения – проникающие внутрь клетки (эндоцеллюлярные): диметилацетамид (ДМАЦ) [1, 2], глицерин [27, 69, 157], 1,2-пропандиол (1,2-ПД) [18, 20, 27, 64] – и не проникающие (экзоцеллюлярные – декстран, гидроксипропилированный крахмал [157] и т.д.).

Вещество ДМСО обладает уникальными фармакологическими свойствами. Благодаря этому ДМСО нашёл широкое применение в клинической практике для лечения ряда патологических состояний [113]. В основном, методы КК тромбоцитов с ДМСО согласуются между собой и указывают, что количественные потери клеток после размораживания составляют от 5 до 30% [25, 84, 170]. Результаты исследования качества ККТ различными тестами показали, что ФАТ сохраняется на уровне 30–70% [2, 18, 20, 25, 42, 53, 57, 60, 61]. Клинические исследования ККТ, меченных радиофармпрепаратом показали, что размороженные тромбоциты оказывают гемостатический эффект и рециркулируют в кровяном русле реципиента [53, 73, 149, 150, 151]. Некоторыми исследователями ДМСО признан наиболее эффективным КП для КК тромбоцитов [60, 118, 143]. Однако при КК большая часть тромбоцитов не жизнеспособна. Это показано в исследованиях *in vitro*, которые выявили: сниженную резистентность к гипотоническому стрессу после КК, низкую агрегационную активность на действие агонистов, ослабленную способность к поглощению серотонина и др. [71, 87, 128]. G.W. van Imhoff и соавт. было выявлено, что низкая агрегационная активность тромбоцитов, КК с ДМСО, является следствием дефицита в тромбоцитах содержимого плотных телец и

альфа-гранул [71]. Также, тромбоциты после размораживания имели сниженную способность к секреции содержимого этих гранул. Определено 50%-ное падение количества цитозольной АТФ при незначительном уменьшении концентрации АДФ; а содержание связанных с гранулами АТФ и АДФ снижалось на 21 и 17%, соответственно [71]. Т.к. морфологические исследования ККТ показали, что около 40% клеток теряют форму диска, авторы предположили, что страдает не вся популяция тромбоцитов, а лишь ее часть. Подобные изменения выявлены в ТК, которые хранили при комнатной температуре; через 72 ч хранения содержание АТФ и АДФ уменьшилось на 27% и 34%, соответственно, в результате выходы содержимого плотных гранул [139].

Большое число исследований посвящено изучению криопротективных свойств глицерина при замораживании тромбоцитов. Глицерин имеет преимущество перед ДМСО, т.к. длительный опыт его применения для криоконсервирования эритроцитов показал безвредность для реципиентов. Исследования P.Cohen и F.Gardner [82] продемонстрировали, что медленное замораживание тромбоцитов с 12% глицерином привело к значительным клеточным потерям и создало сложности при удалении глицерина из клеточной суспензии после размораживания тромбоцитов. C.Dayian и соавт. [90, 91] определили, что глицерин оказывает повреждающее действие на лизосомы тромбоцитов, которое усиливается при замораживании. Эти авторы установили, что глицерин, относительно медленно проникает внутрь тромбоцитов и уменьшает клетки в объеме [89]. Осмотический стресс, возникающий в момент контакта КП с клетками после размораживания, наиболее выражен при использовании его высоких концентраций, и обусловлен различиями в скорости прохождения воды внутрь тромбоцитов и выхода глицерина из тромбоцитов. Armitage W. и соавт показал, что кинетика проникновения 5-гидрокситриптамина не нарушалась при инкубации тромбоцитов с 0,5 М глицерина [62]. Концентрации глицерина более высокие оказывали влияние на транспорт 5-гидрокситриптамина зависящее от времени.



G.Dayian и A.Rowe [92], впервые разработали метод КК тромбоцитов с глицерином в конечной концентрации 5% для клинического применения. Замораживали ТК со скоростью не более 30 °С/мин до температуры минус 80 °С, затем хранили в жидком азоте. Оценка метода *in vitro* показала, что сохранность тромбоцитов после размораживания составила не более 70%. При этом по тестам поглощения серотонина и АДФ индуцированной агрегации показатели качества тромбоцитов были близки к норме. Однако при повторном применении этого метода КК результаты значительно отличались. Так, Korbling M. и соавт. получили 70% сохранность клеток [73]. Velden K. и соавт. при сравнении методов КК тромбоцитов с ДМСО и глицерином обнаружили, что сохранность тромбоцитов по реакции на гипотонический стресс была близка к нулю [150]. Вероятно, нестабильность результатов, получаемых при использовании глицерина, является медленная диффузия через мембрану тромбоцитов, в связи с чем осмотический градиент, развивающийся во время введения и удаления КП, может быть более высоким и длительным. Armitage W.G. [63] представил данные о том, что тромбоциты толерантны к изменениям объема клетки в пределах от 30% до 40% от их физиологической величины. Группой исследователей [65, 69] при разработке методов КК тромбоцитов с применением КП глицерина и 1,2-пропандиола (1,2-ПД) была установлена эффективная концентрация глицерина (1,4 М), поддерживающая при замораживании концентрацию натрия хлорид, не превышающую предельных для неё значений. Отработаны способы введения и отмывания глицерина, обеспечивающие поддержание физиологического объема клеток в пределах величин, к которым они толерантны. В результате исследований была разработана методика замораживания тромбоцитов с КП, содержащим 1,4 М глицерина, обеспечивающая удовлетворительную сохранность клеток по количественным и качественным параметрам после КК. Так, реакция на гипотонический стресс тромбоцитов сохранилась в среднем почти на 50% и была в 3,5 раза выше, чем при замораживании тромбоцитов с 0,5 М глицерина. Однако при воспроизведении методики для рутинного КК лечебных доз КТ в

банках крови могут возникнуть трудности, связанные со сложностью многоэтапной методики добавления КП в КТ и его удаления после оттаивания.

Большой интерес представляли работы этих же авторов по КК тромбоцитов с использованием КП на основе 1,2-ПД [66–68]. Это вещество нетоксично, скорость его проникновения в тромбоциты в 100 раз больше, чем у глицерина. Установлены предельно допустимые концентрации 1,2-ПД, не оказывающие токсичного влияния на функцию тромбоцитов, отработан метод введения КП в суспензию тромбоцитов и удаления из нее, не вызывающий значимых изменений объема клеток. Авторы оценили эффективность этого КП при замораживании тромбоцитов в жидком азоте. Проведена оценка эффективности концентраций КП в диапазоне от 0,5 до 2,5 М и скорости охлаждения от 0,4 до 100 °С/мин. Полученные результаты оказались очень скромными – АДФ-индуцированная агрегация не превышала 6%. Эти результаты были получены при использовании 1,2-ПД 0,5 М, скорости замораживания 14 °С/мин и быстром оттаивании (150 °С/мин). В результате проведенного исследования было сделано заключение, что токсичность 1,2-ПД резко повышается с увеличением его концентрации.

В качестве КП для КК тромбоцитов достаточно изучен ДМАЦ [1, 2, 18-21, 28, 57, 94]. Это вещество быстро проникает внутрь клетки и дает криозащитный эффект в низкой концентрации (2,5%). Инструкция по КК тромбоцитов с ДМАЦ утверждена РФ в 1995 г. Однако КП «Тромбокриодмац», содержащий ДМАЦ, не зарегистрирован в РФ и не имеет разрешительных документов на медицинское использование. Сравнительное исследование криопротекторных свойств ДМАЦ и ДМСО *in vitro* и *in vivo* показало, что тромбоциты, КК с ДМСО, лучше сохраняются и дают больший СПТ после трансфузии КТ реципиенту по сравнению с КТ, КК с ДМАЦ [47].

Для КК тромбоцитов также испытаны и другие КП, в том числе экстрацеллюлярного типа, т.е. не проникающие в клетку. Использование последних может позволить исключить этап удаления КП из взвеси тромбоцитов после размораживания перед трансфузией. М. Taylor [157] провел

сравнительные исследования *in vitro* 4 методов КК тромбоцитов: с ДМСО, глицерином, гидроксипропилкрахмалом (ГЭК) и декстраном. Полученные результаты показали, что ГЭК и декстран являются неэффективными КП для тромбоцитов. Наибольшая сохранность функциональных свойств тромбоцитов была обнаружена при КК с ДМСО.

Считается, что для улучшения количественных и качественных показателей ККТ перспективно создание комбинаций экстрацеллюлярных и эндоцеллюлярных КП. Ветошкин с соавт., провели исследования по разработке комбинированного КП для КТ на основе ГМБТОЭМ и ДМАЦ. Экспериментально подобранные соотношения этих компонентов позволили добиться наименьшего влияния КП на функциональные свойства тромбоцитов и их осмотическую устойчивость [42]. Результаты исследований, полученные Компаниец А.М. и соавт., показали преимущества КК тромбоцитов с комбинированными КП [18, 20, 27]. Сравнительный анализ свидетельствует о высоком уровне криозащитного действия комбинированных КП: ДМАЦ/ОЭГ, ДМАЦ/1,2-ПД и ДМАЦ/глицерин. Использование 5%-ной концентрации каждого КП (10%-ная суммарная концентрация) значительно повысило сохранность тромбоцитов после КК по сравнению с результатами КК тромбоцитов с моно-КП. Наибольшая сохранность тромбоцитов получена при использовании комбинированного КП, содержащего проникающий ДМАЦ и непроникающий ОЭГ. Вместе с тем, данных о значительном преимуществе ДМСО по сравнению с другими КП не получено; отличия между значениями сохранности не превышали 7–15%. Кроме того, следует подчеркнуть, что для КП: ДМАЦ, 1,2-ПД и ОЭГ – установлены более высокие результаты сохранности КТ для 5–6%-ных концентраций этих веществ в криозащитных растворах.

Из изложенного следует, что разработанные методы КК тромбоцитов для использования в клинической практике не столь эффективны. Вместе с тем интерес исследователей к этой сложной проблеме сохраняется [44, 64, 93], хотя

он сконцентрирован на оптимизации условий замораживания тромбоцитов с ДМСО – “золотым стандартом” методов КК тромбоцитов [71, 85, 86, 146].

В настоящее время практически все страны мира используют метод КК, разработанный R. Valeri и соавт., который предусматривает использование 6% ДМСО и удаление его до замораживания [170]. Этот подход минимизирует токсичность ДМСО для пациента и уменьшает манипуляции после размораживания ККТ. Замораживают ККТ и хранят при температуре минус 80 °С. Напротив, Швейцария использует более высокую концентрацию ДМСО – 10% [172]. В отношении размораживания ККТ между странами достигнут консенсус: ККТ должны быстро размораживаться (10–30 мин) на водяной бане (30–37 °С) и ресуспендироваться в предварительно нагретой плазме (30–37 °С) с легким перемешиванием. В Польше удаляют ДМСО путем отмывания тромбоцитов солевым раствором, содержащим витамин С [121]. В оригинальном протоколе R. Valeri и соавт. тромбоциты ресуспендируют в физиологическом растворе; однако, большинство специалистов предпочитают плазму АВ(IV) [168]. В Швейцарии же размораживают ККТ при температуре 37 °С и сразу переливают больным без удаления ДМСО [148]. В армии США используют небольшой объем нормального физиологического раствора для ресуспендирования ККТ, размороженных при температуре 37 °С [172].

Несмотря на достаточный опыт производства и клинического применения ККТ во всем мире, методики КК тромбоцитов полностью не удовлетворяют современным требованиям по параметрам: функциональные свойства тромбоцитов в исходном КТ, до их КК; большая потеря тромбоцитов в результате удаления КП; низкая сохранность тромбоцитов после размораживания; посттрансфузионные токсические осложнения, к которым приводит переливание больному размороженных тромбоцитов (РТ) без удаления КП; трудозатратность существующих технологий КК тромбоцитов.

Из изложенного следует, что разработка эффективных методов КК тромбоцитов для использования в клинической практике не столь успешна, как разработка аналогичных методов для эритроцитов. Вместе с тем сохраняется

интерес исследователей к этой сложной проблеме [64, 93], хотя он по-прежнему сконцентрирован на оптимизации условий замораживания тромбоцитов с ДМСО – «золотым стандартом» методов криоконсервирования КТ [71, 85, 86].

В литературе описано три основных способа КК тромбоцитов.

**Первый способ** КК [84]. Раствор ДМСО вводится в готовый КТ до конечной концентрации 6% с последующей заморозкой и хранением при температуре минус 80 °С. После размораживания тромбоциты отмывают от ДМСО и разводят плазмой.

**Второй способ** КК [170]. Раствор ДМСО вводится в готовый КТ до конечной концентрации 6%, затем КТ в присутствии ДМСО центрифугируют при 1250g в течение 10 минут с целью удаления супернатанта, содержащего избыток ДМСО. Весь супернатантный раствор удаляют. Это снижает остаточное количество ДМСО в замороженном КТ как минимум на 95%. Оставшийся осадок объемом 10–15 мл ресуспендируют покачиванием в течение 3–5 минут, контейнер с суспензией тромбоцитов помещают в защитный полимерный пакет, затем в картонную коробку и замораживают на дне механического морозильника при температуре минус 80 °С. Размораживание тромбоцитов проводится в водяной бане (Thermogenesis), при температуре 36 °С в течение 5 минут. Размороженную суспензию тромбоцитов разводят 10–20 мл 0,9% раствора NaCl.

**Третий способ** КК [25]. Раствор ДМСО вводится в готовый КТ до конечной концентрации 10% с последующей заморозкой и хранением при температуре минус 196 °С. После размораживания тромбоциты ресуспендируют в 2–3 объемах одногруппной плазмы. Качество РТ определяют по ретрактивной активности тромбоцитов тестом Kissmeyer-Nielsen

На основании проведенного анализа литературы можно предположить, что эмпирические модификации методов криоконсервирования, использующих ДМСО, ДМАЦ, HES или глицерин, не приведут к их существенному

улучшению и более успешное криоконсервирование не может быть достигнуто единственно с помощью эмпирических манипуляций криопротекторами и скоростями замораживания. По-видимому, необходимо методическое изучение реакции этих достаточно чувствительных клеток на различные изменения окружающей среды, которые сопровождают процедуру КК. Установление влияния осмотического стресса, химического токсического эффекта криопротекторов, поиск комбинаций КП с целью снижения их побочных воздействий и оказание влияния на процессы кристаллообразования, расчет и отработка оптимальных скоростей охлаждения и оттаивания клеток помогут найти новые пути для разработки более эффективных методов КК тромбоцитов. Возможности оптимизации результатов КК тромбоцитов на основании применения лишь какого-то одного из КП, вероятно, себя исчерпали.

Существующие в настоящее время методики замораживания тромбоцитов не удовлетворяют современным требованиям по следующим параметрам: отсутствию учета качества клеток в исходном КТ при КК тромбоцитов; увеличению потери тромбоцитов в результате удаления КП и низкой сохранности клеток после размораживания; токсическим осложнениям, к которым приводит переливание больному РТ без удаления КП; трудозатраты существующих технологий КК.

В НПП «Биотех-М», совместно со специалистами ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И.Бурназяна ФМБА России, разработана технология и медицинское изделие (Криотромбосет®) для получения ККТ. Медицинское изделие Криотромбосет® запатентовано (патент RU 2715746) и зарегистрировано в РФ (РУ Росздравнадзора: РЗН 2021/14101) (рис. 1).



Рис. 1. Устройство Криотромбосет®, предназначенное для КК и подготовки тромбоцитов к трансфузии

**Устройство «Криотромбосет» состоит:** из контейнеров для тромбоцитного концентрата и плазмы, стерилизующих инфузионных фильтров, коннекторов с колпачками, клапана, автоматического регулятора скорости потоков, соединённых трубками с зажимами.

**Работа с устройством:** КК заготовленного КТ проводят в устройстве «Криотромбосет» с использованием КП, плазмы или замещающего плазму добавочного раствора для ресуспендирования РТ.

**Устройство «Криотромбосет» в закрытом виде** обеспечивает выполнение 12 технологических операций, необходимых для КК с последующей подготовкой тромбоцитов к трансфузии:

- перевод в устройство дозы КТ, полученных от донора;
- концентрирование тромбоцитов и отделение плазмы от тромбоцитного концентрата;
- извлечение части плазмы и разведение ею КП;
- перевод оставшейся плазмы в отдельный контейнер;
- введение по определенной программе (скорость, время, концентрация, объем) порции разведенной плазмой КП в контейнер с КТ при помешивании;
- удаление воздуха из устройства;
- замораживание в отдельных контейнерах плазмы и суспензии тромбоцитного концентрата в КП, разведенной плазмой;
- длительное хранение при низких отрицательных температурах;
- программное размораживание тромбоцитного концентрата и плазмы;
- ресуспендирование плазмой или добавочным раствором тромбоцитного концентрата по определенной программе (скорость, время, концентрация, объем) при помешивании;
- перевод ресуспендированных тромбоцитов в газопроницаемый контейнер;
- хранение до трансфузии в газопроницаемом контейнере ресуспендированных тромбоцитов при помешивании.



**Устройство «Криотромбосет»** – стерильно, апиrogenно, нетоксично, выполнено из гемосовместимых полимеров и эластомеров. Не требует сборки на месте применения. Стерилизовано радиационным методом. Срок годности – 3 года.

**Работу с устройством** проводят в соответствии с Постановлением Правительства РФ № 797 от 22.06.2019 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов...».

**Устройство сохраняет** жизнеспособность и гемостатическую активность тромбоцитов. Обеспечивает после размораживания и ресуспендирования повышенный выход функционально активных тромбоцитов.

**Новая технология** криоконсервирования и подготовки тромбоцитов к трансфузии с использованием устройства **«Криотромбосет»**:

- позволяет реализовывать многоэтапную технологию в одном устройстве замкнутого типа и не требует при технологических манипуляциях соблюдения асептических условий окружающей среды,
- использует штатное оборудование СПК и ОПК лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ),
- исключает потребность в дополнительном оборудовании и расходных материалах, обязательных для известной технологии, которая требует ручной сборки в стерильных условиях нескольких устройств, приобретаемых у разных производителей.
- снижает организационные и материальные затраты, экономит время и упрощает работу персонала,
- превосходит по параметрам качества, эффективности и безопасности известную технологию КК КТ в криоконтейнерах.

**В результате использования новой технологии и устройства «Криотромбосет» СПК и ОПК ЛПУ:**

- получают повышенный выход полноценных тромбоцитов с высокой долей функционально активных клеток при их размораживании и ресуспендировании;

- выигрывают время для карантинизации тромбоцитов;
- заранее формируют стратегический запас карантинизированных тромбоцитов с учетом антигенного разнообразия, готовых в случае острой потребности в любое время к транспортировке и экстренному переливанию независимо от наличия донора;
- могут индивидуально подбирать тромбоцитные компоненты, учитывая иммунологическую совместимость и предотвращая рефрактерность, что сокращает количество трансфузий;
- в отличие от краткосрочно хранящихся – не более 4-х суток нативных тромбоцитных компонентов, резко снижающих функциональную активность при хранении, исключают их частое списание по сроку годности;
- с наименьшими затратами заготавливают ККТ длительного хранения – до 3-х лет, снижают себестоимость и увеличивают прибыль от реализации тромбоцитов;

Разработанная и запатентованная в РФ технология КК тромбоцитов внедрена в производство в семнадцати регионах РФ. По этой технологии восемнадцать ЛПУ заготавливают и используют ККТ с 2012 г.: ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии имени акад. Н.Н.Бурденко» Минздрава России, Москва (НХ); ГБУЗ Владимирской области «Областная станция переливания крови» (Владимир); ГБУЗ Тюменской области «Областная станция переливания крови» (Тюмень); БУЗ УР «Республиканская станция переливания крови МЗ УР» (Ижевск); ГАУЗ «Республиканский центр крови МЗ РТ», Казань (РТ); ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови» (Уфа); ГБУЗ «Коми республиканский центр крови» (Сыктывкар); БУ ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница» (Ханты-Мансийск); ОБУЗ «Ивановская областная станция переливания крови» (Иваново); ГАУЗ СО «ОСПК» (Екатеринбург); КУ ЧМАО Югры «Станция переливания крови» (Сургут); ГБУЗ МКДЦ, Казань (МКДЦ); Станция переливания крови ФМБА России, Екатеринбург (ФМБА); ГКУЗ «Кузбасский центр крови», Кемерово (Кузбас); ГБУ Ростовской области «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону (Ростов); ГКУЗ «Станция

переливания крови» МЗ КБР (Нальчик); ГБУЗ Астраханской области «Областной центр крови» (Астрахань), ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» (Москва).

Технология производства и качество получаемых ККТ характеризуются следующими параметрами:

- 1) концентрация тромбоцитов в аферезных КТ составляет от 1 до  $2 \times 10^9$ /мл;
- 2) количество ДМСО (не более 1300 мг/доза) не требует удаления криопротектора и обеспечивает низкую концентрацию (менее 0,5%) ДМСО после размораживания ККТ;
- 3) осмолярность размороженного ККТ не превышает 380 мосмоль/л;
- 4) рН размороженного КТ составляет 7,1–7,3;
- 5) сохранность тромбоцитов — не менее 70% исходной концентрации; сохранность функционально-активных тромбоцитов — не менее 50%.

Внедрение технологии криоконсервирования тромбоцитов позволило увеличить срок хранения КТ с 5 суток до 2 лет ККТ (в 150 раз дольше), создать стратегический резерв КТ длительного хранения, карантинизировать ККТ и обеспечить безопасность и высокую эффективность гемокомпонентной терапии.

## **Общетоксические свойства и специфическая токсичность криопротекторов на основе диметилсульфоксида**

Диметилсульфоксид — бесцветная жидкость с сероподобным запахом. Он высокополярен и растворяет многие водо- и жирорастворимые вещества. Поскольку смешивание его с водой приводит к высвобождению тепла, ДМСО следует вводить в раствор КП и охлаждать смесь до ее добавления к клеточной суспензии. При внутривенном введении ДМСО могут возникнуть тошнота, рвота, местное сужение сосудов и ощущение вкуса и запаха чеснока [50].

Максимальная рекомендуемая доза ДМСО при внутривенном введении составляет 1 г/кг. Regan с соавт. сообщили, что токсичность ДМСО при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, как правило, минимальная и временная [145]. В связи с токсическими проявлениями ДМСО при клиническом использовании для замораживания клеток крови, Федотенковым А.Г. и соавт. были проведены токсикологические исследования на животных [52]. При трансфузии 400 мл размороженного костного мозга (содержание ДМСО – 10%) человеку весом 60 кг на 1 кг веса приходится 0,66 мл препарата. В пересчете на мышь весом 20 г доза ДМСО составляет 0,013 мл. При применении 10% раствора ДМСО (4-кратной дозы) на мышах в течение нескольких секунд после его введения наблюдали судороги. В печени и почках развивались очаговые некробиотические изменения. Реакций на введение 5% раствора ДМСО (2-кратная доза), равно как и патологических изменений, свидетельствующих о токсичности препарата, выявлено не было. При внутривенном введении собакам 0,6 мл/кг 10% ДМСО обнаружено его токсическое действие в виде некробиотических изменений в паренхиматозных органах, особенно в печени. В дозе 0,3 мл/кг токсическое действие не определяется, однако и при этой дозе у некоторых животных в печени отмечалась блокада ретикуло-эндотелиальной системы гемосидерином и образование агглюнационных тромбов в капиллярах – свидетельство гемолиза.

Помимо общетоксического действия ДМСО вызывает эмбриотоксичность и тератогенность после интраперитонеального введения беременным хомякам (100% ДМСО; 15 г/кг). Тератогенное действие ДМСО проявляется после введения его беременным крысам и мышам (50% ДМСО; 5–12 г/кг) [88]. Токсичность ДМСО определяется не только его концентрацией, но и техникой введения в организм. При введении 20% ДМСО-солевого раствора в вену хвоста здоровых крыс Sprague Dawley (250–300 gm), гемолиз и гематурия наблюдались в течение 1 часа после инъекции. Гемолиз и гематурия отсутствовали при введении 20% ДМСО-солевого раствора в яремную вену крыс. Эта разница объясняется быстрым разбавлением ДМСО при относительно высоком кровотоке в яремной вене по сравнению с веной хвоста [161].

Клиническое применение ДМСО в качестве КП подтвердило его токсическое действие при введении в организм, которое проявляется в виде тошноты, рвоты, лихорадки, озноба, приливов, одышки, гипоксемии, гипертензии, тахикардии, брадикардии, гематурии, головной боли. Премедикация жаропонижающими, препаратами антагониста гистамина и кортикостероидами способна снизить частоту и интенсивность инфузионных реакций. Также возможны тяжелые реакции: дыхательная недостаточность, тяжелый бронхоспазм, выраженная брадикардия с блокадой сердца или другие аритмии, остановка сердца, гипотензия, гемолиз, повышенная концентрация ферментов печени, энцефалопатия, потеря сознания. Многие из этих реакций связаны с объемом ДМСО. Снижение количества ДМСО уменьшает риск их возникновения, хотя даже малые дозы ДМСО могут вызывать идиосинкразические реакции. Фактическое количество ДМСО зависит от способа приготовления компонента для инфузии. При более высоких дозах ДМСО были зарегистрированы несколько случаев изменения психического состояния и кома.

ДМСО эффективно используется не только для КК ядерных клеток (гемопоэтических стволовых клеток), но и безъядерных – тромбоцитов. Для

приготовления замороженных тромбоцитов в основном применяются два метода: один с использованием диметилсульфатоксида (ДМСО, 6% в/о), другой – с очень низкой концентрацией глицерина (5% в/о) [41]. Перед использованием тромбоциты размораживают, отмывают и ресуспендируют в (аутологичной) плазме или в соответствующем добавочном растворе.

Удаление криофиликта не исключает, а только снижает риск развития или степень проявления токсичности ДМСО. Так Фефелова И.В. и др. сообщили, что остаточное количество ДМСО после двукратного отмывания, установленное с помощью газожидкостного хроматографа, составляло всего 0,05%. Несмотря на это, все переливания сопровождались запахом ДМСО в выдыхаемом реципиентами воздухе, а 33% инфузий вызывали у пациентов озноб и лихорадку [53].

Напротив, Djerassi и соавт. наблюдали, что нечастые инъекции малых доз криотромбоцитов (20 мл на введение) без удаления КП (концентрация ДМСО – 5%) не оказывали токсического действия на больных детей с тромбоцитопенией [137].

Специалистами РОНЦ им. Н.Н. Блохина предложена оригинальная методика замораживания тромбоцитов с использованием КП на основе ДМСО (доза 100% раствора ДМСО – 5–6 мл) [56]. Тромбоциты вводят больному сразу же после их размораживания струйно внутривенно без удаления КП. В большинстве случаев трансфузия размороженных тромбоцитов (РТ) хорошо переносится больными и не вызывает серьезных осложнений. В числе вероятных реакций – тошнота, затруднение дыхания, спастические боли в животе, брадикардия и гипотония покраснение кожи лица и шеи. Во время трансфузии размороженных клеток больному проводят стандартную десенсибилизирующую премедикацию кортикостероидными гормонами и антигистаминными препаратами для профилактики токсических, пирогенных и аллергических реакций.

Сравнительные исследования современных методик КК тромбоцитов – R.Valery с редукцией ДМСО до замораживания и Khuri S.F. с отмыванием от

ДМСО и разведением плазмой после размораживания – показали низкое остаточное количество ДМСО: 600 мг и 400 мг, соответственно [84, 169]. В обоих случаях такое остаточное количество значимо не влияло на качество тромбоцитов и не вызывало у больных токсического проявления ДМСО.

В настоящее время в РФ разрешен для медицинского использования только один КП CryoSure-Dex40 (Wak-Chemie), который предназначен для КК гемопоэтических стволовых клеток. Этот КП нетоксичный, апирогенный и хорошо переносится больными после трансфузии РТ [5, 6, 51, 54].

Таким образом, учитывая высокую токсичность ДМСО, перед введением клеток крови больному следует либо удалять избыток КП, выбирая при этом наиболее щадящие методы его удаления для снижения потерь клеток при отмывании, либо снижать концентрацию ДМСО методом дилуции.

## Методы контроля качества криоконсервированных тромбоцитов

Основные функции тромбоцитов в процессе остановки кровотечения – это адгезия к поверхности повреждения, агрегация тромбоцитов между собой и поддержание реакций плазменного звена свертывания крови. При этом для выполнения своих функций тромбоциты способны проходить через ряд необратимых изменений, называемых активацией [167]. В процессе активации происходит масштабная перестройка цитоскелета и изменение формы тромбоцитов, активация основного агрегационного рецептора – гликопротеина Пб/Ша, а также экзоцитоз гранул и экспонирование фосфатидилсерина на внешнем слое мембраны. В физиологических условиях активация происходит при прикреплении тромбоцитов к месту повреждения под действием агонистов, таких как коллаген, тромбин, АДФ и др. Однако, может происходить неспецифическая активация тромбоцитов в процессе забора крови, их выделения и дальнейшего хранения. Такие неспецифически активированные тромбоциты необратимо теряют возможность выполнять свои основные функции в процессе остановки кровотечения.

Неактивированные тромбоциты – клетки «покоя» или дискоциты – составляют большую часть тромбоцитов периферической крови здоровых людей. Для определения функциональной активности дискоцитов используют методы морфофункциональной оценки нефиксированных тромбоцитов. В клинической практике широко используют: метод агрегометрии, проточной цитометрии, способ оценки морфо-функционального статуса тромбоцитов человека [22, 46].

Методы агрегометрии позволяют определить лишь общую характеристику функциональной активности всей популяции тромбоцитов не оценивая содержание функционально активных клеток и их структурной целостности и имеют технические ограничения: отсутствие возможности анализа в бесплазменной среде, ограниченность анализа концентрацией тромбоцитов в пробе или малым объемом пробы [22].



Метод проточной цитометрии не позволяет оценить морфологию клеток. Однако использование антител, конъюгированных с различными флуорохромами, позволяет качественно и количественно оценить экспрессию различных маркеров на мембране клеток [100]: антитело CD62p (связывается с компонентом альфа-гранул, Р-селектином) – маркер выплеска альфа-гранул тромбоцитов; Annexin V (связывается с фосфатидилсеринном) – маркер клеточной смерти; антитело PAC-1 (связывается с активной формой гликопротеина 2b3a – рецептора агрегации тромбоцитов) – маркер активации тромбоцитов.

В соответствие со специфической меткой тромбоциты характеризуются как: фосфатидилсеринположительные тромбоциты; PAC-1 положительные тромбоциты; CD62-положительные тромбоциты.

Во всем мире специфические показатели контроля качества ККТ до и после КК включают как количественные, так и качественные параметры. До замораживания большинство лабораторий, в том числе и в РФ, отслеживают объем гемоконцентрации, количество тромбоцитов и лейкоцитов, некоторые также измеряют рН [29, 172]. В Чешской Республике и Бразилии определяют функцию тромбоцитов методами тромбоэластографии и агрегометрии [79]. В Сингапуре не только выполняют ТЭГ и определяют агрегацию тромбоцитов, но и измеряют средний объем тромбоцитов и концентрацию электролитов. Количество ДМСО в ККТ тщательно отслеживается Нидерландами и Австралией [101, 115, 126]. В США и Бельгии изучают генерацию тромбина в качестве главного критерия качества в дополнение к количеству тромбоцитов и рН [111, 125]. Количество тромбоцитов после размораживания учитывается во всех странах, но только Австралия и Франция используют минимальное количество –  $2,0 \times 10^{11}$  тромбоцитов /дозе [112, 114, 115, 116, 124]. Согласно правилам Австралии, после размораживания ККТ должно сохраняться не менее 40% от исходного количества тромбоцитов [115, 144]; в Польше рекомендуется – не менее 70% от исходного количества тромбоцитов [121]. В Испании и Швейцарии оценивают качество ККТ по показателю прироста тромбоцитов в

крови больных после трансфузии ККТ. Значение рН определяется только в нескольких странах и должен быть больше 6,4 [116, 124, 125]. В Австралии дополнительно контролируется бактериальная контаминация после размораживания ККТ [102, 115].

Наиболее пригодными для анализа качества тромбоцитов в КТ и в ККТ представляются морфофункциональные методы исследования, поскольку определяемые в них параметры непосредственно отражают морфологию тромбоцитов, их структурную целостность, а также функциональную активность. Морфофункциональный анализ нефиксированных тромбоцитов можно проводить с помощью фазово-контрастной, флуоресцентной, интерференционной микроскопии, однако большинство известных методик не содержит прямого исследования функций тромбоцитов [31]. В 2011–2012 годах в ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» был разработан способ оценки морфофункционального статуса тромбоцитов при витальном окрашивании клеток с помощью флуоресцентных красителей с последующей микроскопией.

#### **Морфофункциональный анализ тромбоцитов**

Метод основан на витальном окрашивании тромбоцитов флуорохромным красителем: трипафлавин и акридиновый оранжевый – с последующим их анализом во флуоресцентном микроскопе [7]. Позволяет одновременно оценить структурную целостность и ФАТ независимо от их концентрации в пробе, в том числе – в бесплазменной среде. Для этого готовят витальный краситель для тромбоцитов путем разведения 10 мг трипафлавина и 20 мг акридинового оранжевого при комнатной температуре в 100 мл фосфатного буфера (рН – 7,2–7,4), окрашивают анализируемые пробы из расчета 200 мкл готового красителя на 1 мл пробы в течение 2-5 мин при комнатной температуре, после чего 5 мкл пробы с окрашенными тромбоцитами переносят на предметное стекло и накрывают покровным стеклом. Витально окрашенный препарат анализируют на флуоресцентном микроскопе “Nikon Eclipse 80i” с флуоресцентной насадкой “Nikon D-eclipse C1si” (фирма “Nikon”, США) или аналогичном. Препараты

тромбоцитов микроскопируют под объективом  $\times 100$  с числовой апертурой 1,25. Для получения флуоресцентного изображения используют светофильтр ( $\lambda$  возбуждения 450–490 нм,  $\lambda$  эмиссии – от 520 нм). Полученные изображения фотографируют с помощью цифровой фотокамеры “Nikon” (“Nikon”, США) при экспозиции 0,25–0,5 сек. Для морфометрического исследования тромбоцитов используют программу Adobe Photoshop 7.

В ходе анализа определяют следующие параметры тромбоцитов:

1) Общая концентрация тромбоцитов,  $\times 10^9/\text{л}$ .

2) Содержание ФАТ, относительное (%) и абсолютное ( $\times 10^9/\text{л}$ ). Параметр ФАТ отражает структурную и функциональную полноценность тромбоцитов в пробе. К ним относятся тромбоциты, содержащие гранулы, с нормальной структурой цитоплазмы и способные к адгезии на стекле. Содержание гранул на 1 тромбоцит должно составлять от 5 до 20, если размер отдельно взятых гранул составляет не менее 300 нм, или 3–4, если размер отдельно взятых гранул составляет не менее 500 нм [26, 46]. Целостность цитоплазмы определяют по уровню ее яркости при витальном окрашивании. В структурно полноценных тромбоцитах яркость цитоплазмы составляет не менее 24–25 фотокандел [46]. При адгезии тромбоциты претерпевают морфологические изменения: увеличение диаметра тромбоцита; образование ламеллоподий; смещение тромбоцитарных гранул к периферии цитоплазмы и выход за ее пределы.

Например, при исследовании 150 тромбоцитов в анализируемом образце 85 клеток содержат гранулы, имеют нормальную яркость цитоплазмы и адгезируют на стекле. Таким образом, относительное содержание ФАТ в таком образце составляет  $85:150 \times 100 = 56,7\%$ .

Концентрацию ФАТ ( $K_{\text{ФАТ}}$ ),  $\times 10^9/\text{л}$ , рассчитывают по формуле:

$$K_{\text{ФАТ}} = \text{ФАТ} (\%) \times K / 100 \%$$

3) Сохранность количества тромбоцитов в ККТ после размораживания ( $C_{\text{К}}$ , %) рассчитывают по формуле:  $C_{\text{К}} = K_1/K_0$ , где

$K_0$  – количество тромбоцитов в КТ до КК,  $\times 10^9/\text{мл}$

$K_1$  – количество тромбоцитов в КТ после КК и размораживания,  $\times 10^9/\text{мл}$ ;

4) Сохранность ФАТ ( $C_{\text{ФАТ}}$ , %) после КК и размораживания ККТ.  $C_{\text{ФАТ}}$  рассчитывают по формуле:

$C_{\text{ФАТ}} = K_{\text{ФАТ криво}} / K_{\text{ФАТ исх}} \times 100\%$ , где

$K_{\text{ФАТ исх}}$  – количество тромбоцитов с гранулами и способных к адгезии в КТ до КК,  $\times 10^9/\text{мл}$ ;

$K_{\text{ФАТ криво}}$  – количество тромбоцитов с гранулами и способных к адгезии в КТ после КК и размораживания,  $\times 10^9/\text{мл}$

В крови здоровых людей ФАТ составляет 30–75% [26]. В проведенных исследованиях показано, что процедура тромбоцитафереза значимо не влияет на содержание ФАТ в КТ. В связи с этим концентрация ФАТ в КТ аналогична крови доноров КТ и составляет 30–75%.

Зная, как количественные, так и качественные показатели нормы рассчитаны значения нормы для интегральных показателей. В результате расчетов получены референсные значения для трех интегральных показателей:

1. Количество ФАТ для КТ из дозы крови –  $18\text{--}40 \times 10^9$  в дозе.
2. Количество ФАТ для КТ, полученных методом афереза –  $60\text{--}140 \times 10^9$  в дозе.
3. Концентрация ФАТ в крови –  $54\text{--}224 \times 10^9/\text{л}$ .

Для получения КТ высокого качества методом тромбоцитафереза следует допускать активных кадровых доноров: мужчин в возрасте от 31 до 40 лет с концентрацией тромбоцитов в крови – не менее  $250 \times 10^9/\text{л}$  и ФАТ – не менее 50%; женщин в возрасте от 31 до 40 лет с концентрацией тромбоцитов в крови – не менее  $260 \times 10^9/\text{л}$  и ФАТ – не менее 60%. Такие КТ будет эффективны не только как гемокомпоненты для трансфузионной терапии, но и как исходные компоненты для КК тромбоцитов.

**Определение рН и осмолярности в тромбоцитных концентратах и криоконсервированных тромбоцитах**

Измерение рН в КТ и в РТ проводят неинвазивным методом на приборе BCSI рН1000 (Blood Cell Storage Inc., США). Для измерений на приборе BCSI рН1000 переводят КТ и ККТ в специальные азируемые контейнеры, предназначенные для хранения тромбоцитов, содержащие оптический порт. Измеряют рН в КТ каждые сутки. После измерения рН хранят КТ и ККТ (до трансфузии) в этих контейнерах при температуре от 20 до 24 °С и непрерывном помешивании в течение 5 суток.

Осмолярность КТ и ККТ определяют на осмометре Osmomat 030. Для этого 50 мкл образца КТ и ККТ переносят в измерительную кювету и фиксируют в термисторе прибора. Перед началом измерения прибор калибруют с помощью калибровочных растворов с известной осмолярностью 850 и 2000 мОсмоль/л.

Значение рН в КТ является маркером метаболических изменений в КТ, косвенным показателем жизнеспособности тромбоцитов и бактериальной контаминации [36]. В процессе хранения рН в КТ постепенно повышается – с 7,11 в день получения ТК до 7,43 на 3 сутки хранения. На 4-е и 5-е сутки рН незначительно снижается, составляя 7,32 и 7,37 соответственно. В ККТ, ресуспендированных размороженной плазмой, значение рН составляет 7,1–7,2, что сопоставимо с КТ в день заготовки. Напротив, при разведении разводящим раствором, рН в ККТ варьирует от 6,7 до 6,9 и достоверно ниже нормального [7].

При проведении трансфузионной терапии большое значение имеет мониторинг осмотических свойств крови. В связи с этим возникает необходимость оценки осмолярности КТ, полученных в процессе КК. В исходных КТ значение осмолярности составляло в среднем  $312 \pm 24$  мОсмоль/л, что соответствует норме (300–380 мОсмоль/л). В РТ, после разведения плазмой, осмолярность составляет  $393 \pm 25$  мОсмоль/л, т.е. в пределах нормы. В то же время, при разведении ККТ с помощью разводящего раствора осмолярность

составляет  $402 \pm 17$ , что достоверно выше, чем при разведении РТ плазмой ( $p < 0,05$ ) [7].

Таким образом, по показателям рН и осмолярность, ресуспендирование РТ в плазме наиболее предпочтительно по сравнению с разводящим раствором.

### **Проточная цитометрия тромбоцитов с флюорохромной меткой**

Исследование тромбоцитов проводят на цитометре Accuri C6. Образцы КТ разводят в 10 раз буфером А (20 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 1 мМ  $MgCl_2$ , 0,4 мМ  $NaH_2PO_4$ , 5 мМ глюкозы, 0,5% бычий сывороточный альбумин, рН 7.4). К 10 мл разведенного КТ добавляют по 10 мкл раствора антитела в буфере А с  $CaCl_2$ (5мМ). Инкубируют тромбоциты с антителами 5 минут при комнатной температуре. Каждую пробу разводят в 10 раз буфером А с  $CaCl_2$ (2,5мМ), после чего проводят анализ. Для выявления необратимо активированных тромбоцитов используют антитела к CD62p (P-селектин), для выявления тромбоцитов в состоянии апоптоза используют маркер фосфатидилсерина Annexin V.

Анализ маркеров тромбоцитарной активации и апоптоза показал, что через 4 суток хранения наблюдается резкое увеличение доли необратимо активированных тромбоцитов (CD62P-положительных) тромбоцитов на фоне очень низкого числа апоптотических клеток в ТК (табл. 1) в течение всего срока наблюдения [7].

Эти данные позволяют заключить, что выявление аннексин V-положительных тромбоцитов не позволяет адекватно оценить качество тромбоцитов в КТ. Количество CD62P-положительных тромбоцитов напрямую не коррелирует с параметром ФАТ, и практически не меняется в течение 2 суток хранения.

Таким образом, определение ФАТ представляется наиболее чувствительной для оценки качества тромбоцитов в процессе хранения.

**Оценка качества тромбоцитов в процессе хранения КТ**

Срок хранения, сут	Общее количество тромбоцитов, $\times 10^9$ /дозе $M \pm \sigma$	Относительное содержание ФАТ, % $M \pm \sigma$	Общее количество ФАТ, $\times 10^9$ /дозе $M \pm \sigma$	CD62P-положит. тромбоциты, % $M \pm \sigma$	Аннексин V-положит. тромбоциты, % $M \pm \sigma$
0 (контроль) (n=224)	250±21	52±5	130±10	9±3	1,0±1,0
1 (n=259)	250±20	44±7*	110±70*	9±3	1,1±0,2
2 (n=330)	260±21	38±7**	100±30**	9±2	3,0±1,0
3 (n=271)	250±20	20±8***	50±10***	10±3	3,3±0,9
4 (n=215)	270±29	12±7 <sup>#</sup>	32±9 <sup>##</sup>	64±10 <sup>#</sup>	2,0±0,4 <sup>#</sup>
5 (n=239)	250±22	0,8±1 <sup>###</sup>	2±2 <sup>###</sup>	72±11 <sup>###</sup>	4,2±0,7 <sup>###</sup>
P≤0,05 * - относительно контроля; ** - относительно 1 суток хранения; *** - относительно 2 суток хранения; <sup>#</sup> - относительно 3 суток хранения; <sup>##</sup> - относительно 4 суток хранения					

**Определение концентрации диметилсульфоксида в криоконсервированных тромбоцитах**

Количество ДМСО в РТ определяют на газовом хроматографе Shimadzu GC-17A (Япония) с пламенно-ионизационным детектором и автосамплером [51]. Для хроматографирования применяют капиллярную колонку HP-FFAP фирмы Agilent Technologies (США) с полярной фазой (100% полиэтиленгликоль), длина – 25 м, диаметр – 0,32 мм, толщина привитой фазы 0,5 мкм, орбитальный шейкер Elmi S-3L, центрифуга Eppendorf 5804. Используют

следующие реактивы и органические растворители: метанол (о.с.ч.), хроматографические стандарты диметилсульфоксид и диметилформамид. В качестве газа-носителя используют гелий. Перед хроматографированием проводят экстракцию ДМСО. Для этого 100 мкл тромбоцитарной массы помещают в пробирку объемом 2 мл, добавляют 900 мкл метанола и 50 мкл метанольного раствора диметилформамида в концентрации 22 мг/мл. Полученную смесь перемешивают на орбитальном шейкере Elmi S-3L в течение 30 минут. Затем центрифугируют при 3000 об/мин 10 минут. Надосадочный слой декантируют и переносят в другую пробирку. Затем 1 мкл полученного раствора инжестируют в хроматограф.

Концентрацию ДМСО следует определять до замораживания и после размораживания ККТ (особенно на этапах отработки технологии КК тромбоцитов). Конечная концентрация ДМСО в суспензии тромбоцитов составляет до 7,5%. После разморозки ККТ и разведения плазмой или разводящим раствором в 10–11 раз, конечная концентрация ДМСО составляет до 0,7%.



## **Карантинизация криоконсервированных тромбоцитов для обеспечения инфекционной безопасности гемокомпонентной терапии**

КТ ограничены коротким сроком хранения, до 5 суток, что не позволяет проводить повторное обследование донора по истечении серонегативного окна опасных гемотрансмиссивных инфекций. КК и длительное хранение тромбоцитных компонентов, до 2 лет, обеспечивает карантинизацию ККТ и выбраковку гемокомпонентов по Гепатиту В и С, ВИЧ и сифилису. Производство ККТ является предпочтительным в связи с возможностью карантинизации и обеспечения инфекционной безопасности трансфузии тромбоцитных компонентов.

Карантинизацию ККТ проводят по аналогии с СЗП в соответствии с Постановлением Правительства РФ № 797 от 22.06.2019 [29]. Карантинизация плазмы осуществляется при температуре ниже минус 25 градусов Цельсия в течение не менее 120 суток со дня заготовки. В случае выявления в образце крови донора маркеров гемотрансмиссивных инфекций, а также поступления в субъект обращения донорской крови и (или) ее компонентов, заготовленные от этого донора, идентифицируют и те, которые находятся на хранении в субъекте обращения донорской крови и (или) ее компонентов, незамедлительно изымаются и признаются непригодными для клинического использования [29].

Так, например, в ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» за период с 2013 по 2019 год было заготовлено и карантинизировано более 1000 доз ККТ в соответствии с предшествующими нормативными документами [34, 35, 36]. До 2019 года карантинизация СЗП в РФ проводилась в течение 180 суток. Карантин с ККТ снимали после повторного обследования доноров на наличие вирусов: ВИЧ, Гепатит В и С – через 180 суток после заготовки крови. Большая часть РТ (70%), перелитых больным, прошла карантинизацию [7]. Остальная часть (30%) была условно-карантинизирована – прошла карантинизацию уже после размораживания и выдачи компонента больным. Условная

карантинизация обусловлена недостаточным количеством ККТ в Криобанке (300 доз ККТ) для индивидуального подбора «донор-реципиент» на момент размораживания компонентов. В результате проведенной карантинизации было изъято из хранения и утилизировано 39 доз (6%) ККТ. Структура брака ККТ, следующая: превышение АЛТ в 2 раза и более (6 доз), положительный тест на HbsAg (9 доз), положительный тест на HCV (7 доз), положительный тест на ВИЧ (17 доз) [7]. Другие центры крови в РФ, криоконсервирующие тромбоциты, по состоянию на 2021 год не имеют достаточный запас ККТ, а также с быстрым их оборотом, не успевают проводить карантинизацию даже в режиме 120 суток.

Замораживание и длительное хранение ККТ позволило проводить их карантинизацию в связи с длительным сроком хранения – до 2-х лет. Карантинизация ККТ обеспечила безопасность трансфузионной терапии за счет выбраковки и утилизации образцов по гемотрансмиссивным инфекциям: HCV, HBV и HIV – а также по RW и АЛТ [7].

## Клиническое применение тромбоцитных компонентов

В XXI веке принята стратегия профилактического и лечебного переливания тромбоцитов [105, 133]. Стратегия трансфузии КТ основана как на тяжести тромбоцитопении, так и на степени проявления геморрагического синдрома (ГС). Для определения тяжести ГС принята шкала ВОЗ, включающая степени от 0 до IV степени [142]. Степень 0 – отсутствие геморрагий. Степень I – петехии/экхимозы, носовое кровотечение менее 1 часа, скрытая кровь в кале и гемоглобинурия (следы), кровоизлияние в сетчатку без изменения зрения, скудное маточное кровотечение. Степень II – мелена, гематурия, кровохарканье, обильное маточное кровотечение, носовое кровотечение более 1 часа, скрытая кровь в кале и гемоглобинурия (умеренная). Степень III – мелена, кровохарканье, гематурия, обильное маточное кровотечение, носовое кровотечение, требующее переливания одной или нескольких доз эритроцитов/день, кровоизлияние в центральную нервную систему, кровотечение из мест венепункции и центрального венозного катетера, которые требуют гемокомпонентной терапии. Степень IV - кровоизлияние в сетчатку с изменением зрения, кровоизлияние в центральную нервную систему с неврологическими признаками, кровотечение в жизненно важные органы (перикард или легкие), массивная кровопотеря с изменением гемодинамики или угрозой наступления смерти. Степень ГС по шкале ВОЗ объективизирует показания для назначения трансфузии КТ.

Лечебные трансфузии КТ проводятся больным с тромбоцитопенией и с клиническим проявлением ГС при следующих патологических состояниях:

1. больным после трансплантации аутологичных стволовых клеток. Степень проявления ГС II и более по шкале ВОЗ, независимо от количества тромбоцитов [70];
2. хирургическим больным с продолжающимся кровотечением при тромбоцитопении менее  $50 \times 10^9/\text{л}$  [77, 134, 136, 140];

3. больным с сочетанной травмой и продолжающимся кровотечением, с тромбоцитопенией менее  $75 \times 10^9/\text{л}$ , которым проводится интенсивная гемотерапия эритроцитсодержащими компонентами (ЭСК) [77, 78];
4. больным после операций с использованием экстракорпоральных методов (независимо от уровня тромбоцитопении исходя из тяжести анемии на фоне кровотечения) [77, 136];
5. больным с острым ДВС-синдромом при выраженном ГС и тромбоцитопении менее  $50 \times 10^9/\text{л}$  [77, 119, 163];
6. больным с нарушениями функции тромбоцитов [77, 136];
7. больным с аутоиммунной тромбоцитопенией при угрозе кровотечения (желудочно-кишечное, внутриглазного и внутримозгового) [76, 77, 130, 136];
8. больным с посттрансфузионной пурпурой для лечения острого кровотечения на фоне введения иммуноглобулинов [77, 136];

Профилактические трансфузии КТ показаны клинически стабильным пациентам с выраженной тромбоцитопенией (концентрация тромбоцитов в крови –  $10 \times 10^9/\text{л}$ ) [77, 134, 136, 173]. При этом у больных не должно быть следующих клинических состояний: лихорадка  $> 38,5$  °С, сепсис, инвазивный аспергиллез, терапия амфотерицином, нарушение плазменного звена гемостаза, нарушение сознания, снижение зрения, состоявшееся кровотечение, значимое снижение тромбоцитов, лейкоцитоз  $> 75 \times 10^9/\text{л}$  [70, 77, 97, 134, 163, 165]. При проведении операций, таких как: люмбальная пункция, эпидуральная анестезия, биопсия печени, эндоскопия с биопсией, постановка центрального венозного катетера – количество тромбоцитов в крови больных должно быть более  $50 \times 10^9/\text{л}$ ; а при оперативном лечении нейрохирургических и офтальмохирургических больных – более  $100 \times 10^9/\text{л}$  [77, 134, 140, 156].

Трансфузии КТ не показаны больным со следующей патологией:

1. больным с тромботической тромбоцитопенической пурпурой и другими микроангиопатиями: гемолитикоуремический синдром и HELLP-синдром – при отсутствии кровотечения [77, 106, 136];

2. больным с гепарин-индуцированной тромбоцитопенией при отсутствии кровотечения [77, 136, 160];

3. больным с аутоиммунной тромбоцитопенией при отсутствии кровотечения [77, 78, 136];

4. больным с хроническим ДВС-синдромом при отсутствии кровотечения [77, 78, 136].

5. больным во время проведения экстракорпоральных методов лечения [77, 136].

В соответствии с рекомендациями AABB следует переливать КТ с профилактической целью больным для снижения риска спонтанных кровотечений при тромбоцитопении:  $10 \times 10^9/\text{л}$  и менее, которая развилась на фоне терапии;  $20 \times 10^9/\text{л}$  и менее, у больных с центральным венозным доступом;  $50 \times 10^9/\text{л}$  и менее, у больных, которым показано выполнение диагностической люмбальной пункции, или нейрохирургических больных; при наличии кровотечения во время кардиохирургического шунтирования [132]. Европейские правила также придерживаются стратегии лечебных трансфузий, ориентированной больше на клинические проявления ГС, а профилактические трансфузии назначают при тромбоцитопении разной степени выраженности [77, 154].

Профилактические трансфузии КТ проводят по решению лечащего врача и рекомендованы с целью коррекции тромбоцитопении менее  $20 \times 10^9/\text{л}$ , с целью профилактики тромбоцитопенической кровоточивости при тромбоцитопении менее  $50 \times 10^9/\text{л}$  в случае необходимости выполнения инвазивных вмешательств, а также при наличии сепсиса у больных на фоне агранулоцитоза и ДВС-синдрома. Лечебные трансфузии (с гемостатической целью) абсолютно показаны при любой выраженности ГС в сочетании с тромбоцитопенией менее  $50 \times 10^9/\text{л}$ , либо при большем уровне тромбоцитов в случаях наличия тромбоцитопатии, на фоне острого ДВС-синдрома, массивной кровопотери,

любых нейрохирургических и кардиохирургических вмешательствах, особенно операциях с использованием аппарата искусственного кровообращения (АИК). При этом переливание тромбоцитов не проводят при тромбоцитопении иммунного генеза, за исключением случаев наличия жизненных показаний при развившемся кровотечении.

Таким образом, решение о переливании КТ не должно основываться только на концентрации тромбоцитов в крови больного. Абсолютным показанием является выраженная тромбоцитопения, сопровождающаяся клинически значимым кровотечением [107]. Все остальные показания более или менее относительны и зависят от клинического состояния пациента.

ККТ производят в центрах крови нескольких стран мира [172]. Польша ежегодно готовит и переливает примерно 11000-13000 доз ККТ. В течение 15 лет в Нидерландах криоконсервировали 2554 доз и перелили 1143 доз ККТ 349 пациентам. В Чешской Республике произвели 268 доз ККТ в период между 2014 и 2016 годами и перелили 163 дозы 53 пациентам. В Швейцарии получили 40 аутологичных доз ККТ и перелили их девяти пациентам через 10 лет, а в Испании приготовили 24 дозы ККТ, которые перелили через 3 года. В Австралии заморозили 100 доз ККТ для военных и для клинических испытаний. Во Франции, Бразилии, Бельгии и Сингапуре заготовили ККТ только для клинических исследований. Ни Канада, ни США не производят ККТ несмотря на то, что у армии США есть активная программа развития криотехнологий крови, которая в настоящее время переходит во 2-ю фазу клинических испытаний. Сложности в производстве ККТ определяются нормативными барьерами. FDA не одобрила ККТ для общего клинического применения, и Австралийское управление контроля оборота лекарств (TGA) не разрешило использовать ККТ в гражданской медицине. Высокая стоимость является еще одним барьером для многих стран. Австралийцы отмечают, что дополнительные этапы производства ККТ и требования к ДМСО клинического класса удорожают стоимость гемокомпонента. Кроме того, сухой лед, необходимый для транспортировки и поддержания единиц при температуре минус 80 °С, также увеличивает расходы. Отсутствие чётких европейских

директив для производства и применения ККТ является препятствием для их использования в клинической практике.

В РФ производство ККТ основано как на комбинации ранее разработанных КП, так и на применении современных разрешенных для медицинского применения. Трансфузии КТ, КК с КП «Тромбокриодмац», эффективно корректируют ГС у гематологических больных. Применение КТ и ККТ с профилактической целью предупреждает появление «значимой» кровоточивости, а также безопасно и эффективно у аллоиммунизированных гематологических больных [55, 148]. При сравнении терапевтической эффективности КТ и ККТ было показано, что ККТ, давая необходимый лечебный эффект, были менее эффективны по сравнению с КТ, заготовленными от одного донора (по результатам теста СПТ через 1ч и 24 ч после трансфузии) [58]. Вместе с тем в Балтиморском центре изучения рака (США), по данным Shiffer С.А. с соавт. [118, 149-151], аулотромбоциты, заготовленные от больных лейкемией в период ремиссий и КК с ДМСО, стали основным гемокомпонентом трансфузионной программы для лечения этих больных. Замораживание 4–6 доз аутологичных КТ осуществляли при температуре минус 120 °С и хранили в жидком азоте. Эти и др. авторы свидетельствуют, что переливание аутологичных КТ значительно увеличило количество тромбоцитов в кровяном русле больных и оказывает документированный гемостатический эффект, который заключается в укорочении времени кровотечения и прекращении ГС [148].

В Российской Федерации в 2012 г. начато многоцентровое клиническое исследование эффективности трансфузии ККТ, полученных с использованием разработанной отечественной технологии. В 2021 г. проведен анализ результатов, полученных за 9 лет [5]. Технология криоконсервирования тромбоцитов, разработанная в РФ, внедрена в работу в восемнадцати ЛПУ РФ с 2012 г.: ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» (Склиф), Москва; ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии имени ак. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва (НХ); ГБУЗ Владимирской области «Областная станция переливания крови» (Владимир); ГБУЗ Тюменской области «Областная

станция переливания крови» (Тюмень); БУЗ УР «Республиканская станция переливания крови МЗ УР» (Ижевск); ГАУЗ ГАУЗ «Республиканский центр крови МЗ РТ», Казань (РТ); ГБУЗ «Республиканская станция переливания крови» (Уфа); ГБУЗ «Коми республиканский центр крови» (Сыктывкар); БУ ХМАО-Югры «Окружная клиническая больница» (Ханты-Мансийск); ОБУЗ «Ивановская областная станция переливания крови» (Иваново); ГАУЗ СО «ОСПК» (Екатеринбург); КУ ЧМАО Югры «Станция переливания крови» (Сургут); ГБУЗ МКДЦ, Казань (МКДЦ); Станция переливания крови ФМБА России, Екатеринбург (ФМБА); ГКУЗ «Кузбасский центр крови», Кемерово (Кузбас); ГБУ Ростовской области «Станция переливания крови», Ростов-на-Дону (Ростов); ГКУЗ «Станция переливания крови» МЗ КБР (Нальчик); ГБУЗ Астраханской области «Областной центр крови» (Астрахань). Концентраты тромбоцитов (КТ) получали методом афереза. Кримоконсервировали тромбоциты по единой технологии в течение 24 часов с момента заготовки. Хранили и транспортировали размороженные тромбоциты при температуре от 20 до 24<sup>0</sup>С не более 6 часов до трансфузии. Переливали ККТ больным для коррекции тромбоцитопении. Рассчитывали скорректированный прирост тромбоцитов (СПТ) через 1 час и 24 часа после окончания трансфузии ККТ. Все ЛПУ заготавливали КТ методом афереза на оборудовании разных производителей. При этом качество полученных КТ значительно не отличалось ни по объему, ни по количеству тромбоцитов. Объем КТ составил 250±15 мл, а количество тромбоцитов – 255±20x10<sup>9</sup>/дозе. Производство ККТ проводили единым запатентованным в РФ способом. Так в *Склифе* с 2012 по 2021 гг. получено 2500 (14%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 850 доз. *НХ* 2020-2021 гг. заготовлено 285 КТ и 198 (70%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 75 доз. Во *Владимире* 2017-2021 гг. – 7438 КТ и 2386 (32%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 2161 доза. В *Тюмени* 2017-2021 гг. – 18986 КТ и 1576 (8,3%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 1355 доз. В *Ижевске* 2017-2021 гг. – 5731 КТ и 123 (2%) дозы ККТ. Разморожено и перелито больным 121 доза. В *РТ* 2020-2021 гг. – 4225 КТ и 283 (7%) дозы ККТ. Разморожено и перелито больным 227 доз. В *Уфе* 2019-2021 гг. – 2626 КТ и 141



(5%) доза ККТ. Разморожено и перелито больным 49 доз. В *Ханты-Мансийске* 2018-2021 гг. – 798 дозы ККТ. Разморожено и перелито больным 678 доз. В *Сыктывкаре* 2019-2021 гг. – 3273 КТ и 174 (5%) дозы ККТ. Разморожено и перелито больным 123 дозы. В *Иваново* 2020-2021 гг. – 232 доз ККТ. Разморожено и перелито больным 155 доз. В *Екатеринбурге* 2019-2021 гг. – 3037 КТ и 1631 доза ККТ. Разморожено и перелито больным 1301 доза. В *Сургуте* 2020-2021 гг. – 6729 КТ и 142 (2%) дозы ККТ. Разморожено и перелито больным 91 доза. В *МКДЦ* 2019-2021 гг. – 328 КТ и 226 (69%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 146 доз. В *ФМБА* 2021 гг. – 108 КТ и 12 (11%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 1 доза. В *Кузбасе* 2021 гг. – 3878 КТ и 50 (1,3%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 2 дозы. В *Ростов* 2020-2021 гг. – 4158 КТ и 135 (3,2%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 17 доз. В *Нальчик* 2021 гг. – 926 КТ и 39 (4,2%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 0 доз. В *Астрахань* 2019-2021 гг. – 2919 КТ и 241 (8,3%) доз ККТ. Разморожено и перелито больным 159 доз. Итого, за девять лет работы восемнадцати ЛПУ, заготовлено 10887 (13% от объема заготовки КТ) доз ККТ, разморожено и перелито больным 7511 лечебных доз ККТ. Сохранность тромбоцитов после размораживания во всех ЛПУ значимо не отличалась и составила  $87\pm 5\%$ . Единая методика криоконсервирования тромбоцитов показала свою высокую воспроизводимость и технологичность.

Потребность в ККТ значимо отличалась. В НХ, Склифе, Казани, Сургуте, Коми, Тюмени трансфузии ККТ проводили больным хирургического профиля. В восьми субъектах РФ – преимущественно онкогематологическим больным: во Владимире – 74%, Ижевске – 57%, Уфе – 51%, Ханты-Мансийске – 50%, Иваново – 68%, Ростове – 81%.

После трансфузии ККТ больным посттрансфузионных осложнений не выявлено во всех ЛПУ. При этом скорректированный прирост тромбоцитов составил: через 1 час более  $7500 \text{ м}^2/\text{мкл}$  и через 24 часа не менее  $4500 \text{ м}^2/\text{мкл}$ . Переливаемые ККТ содержали не менее  $250 \times 10^9$  тромбоцитов в дозе и, несмотря на снижение дозы в 1,2 раза относительно рекомендованных мировыми стандартами ( $3,0 \times 10^{11}$  в дозе) [61], показали высокую клиническую

эффективность. Часть ККТ перед клиническим использованием проходили карантинизацию. Индивидуальный подбор проводили по системе АВОи резус-фактору, а некоторым больным дополнительно с учетом HLA и HPA [60, 62–65]. После трансфузии ККТ больным геморрагический синдром скорректирован, а посттрансфузионных осложнений не выявлено во всех ЛПУ. При этом скорректированный прирост тромбоцитов составил: через 1 час более 7500 м<sup>2</sup>/мкл и через 24 часа – более 4500 м<sup>2</sup>/мкл [66–76].

На международном форуме под эгидой ISBT, посвященном ККТ, проведен опрос о преимуществах ККТ перед КТ [172]. По результатам опроса основным преимуществом ККТ явился длительный срок хранения КТ, обеспечиваемый криоконсервацией. Увеличенный срок хранения обеспечивает большую доступность в сельских и удаленных местах, включая условия боевых действий [117, 126, 127]. Поддержание запасов ККТ позволило увеличить контроль над запасами при резком изменении спроса или сокращении числа доноров. ККТ, также, транспортабельны на сухом льду и быстро доступны для использования [61]. Поскольку многие страны ресуспендируют РТ с плазмой группы крови АВ(IV), они также были универсальны для переливания. Windelov NA с соавт. и Tegegn TZ с соавт. отмечали прокоагулянтные свойства ККТ, необходимые при лечении больных с сочетанными травмами [81, 120]. Специалисты из Швейцарии, Испании и Польши считают, что возможность выбора ККТ, совместимых по HLA в паре донор-пациент, особенно при рефрактерности у пациента, является важным преимуществом. Для гематологических больных с ожидаемой рефрактерностью переливание ККТ, собранных во время ремиссии больного, является предпочтительным гемокомпонентом.

Клиническими критериями эффективности трансфузии (переливания) тромбоцитов являются прекращение спонтанной кровоточивости, отсутствие свежих геморрагий на коже и видимых слизистых [36]. Лабораторным показателем эффективности переливания ТК является СПТ, рассчитанный с учетом антропометрических данных реципиента и дозы КТ через 1 и 24 часа после окончания трансфузии и составляющий более 7500/мкл и 4500/мкл соответственно [142].

Расчет СПТ проводят по формуле:

$$\text{СПТ} = \frac{\text{ПТр} * \text{ПТ}}{\text{ДТр}}$$

где

СПТ – скорректированный прирост тромбоцитов,  $\times 10^9$

ПТр – прирост тромбоцитов,  $\times 10^9$

ПТ – поверхность тела,  $\text{м}^2$

ДТр – доза перелитых тромбоцитов,  $\times 10^{11}$

Дополнительно для оценки эффективности трансфузии КТ и ККТ некоторые авторы используют – тромбоэластографию (ТЭГ), проточную цитометрию и др. [39, 56, 88, 147]. При выполнении ТЭГ для исключения влияния фибриногена Ivo Fluger, с соавт. использовали функциональный фибриноген-реагент (лиофилизированный тканевой фактор с ингибитором тромбоцитов – блокатором рецепторов ГП IIb/IIIa). Он полностью ингибирует тромбоциты, исключая их вклад в прочность сгустка и измеряет только вклад фибриногена в сгусток. Таким образом, максимальная амплитуда формируется – только за счет фибриногена – «функциональный фибриноген» [88]. Проточная цитометрия позволяет тестировать поверхностные маркеры тромбоцитов, в частности комплекс ГП IIb. Лучший *in vivo* прирост количества тромбоцитов через 1-2 часа после окончания трансфузии и продолжительность жизни тромбоцитов связаны с нормальным содержанием ГП IIb и сниженным связыванием аннексина V [147]. Возможные действия аллогенных тромбоцитов в гемостазе включают прямое формирование гемостатического сгустка, увеличение адгезии тромбоцитов реципиента, поддержание развития протромбиназного комплекса и регуляцию формирования тромба.

## **Иммунологическая совместимость донорских тромбоцитов с реципиентами**

Правила переливания КТ, принятые в РФ, США и Европе, не предусматривают индивидуального подбора КТ перед трансфузией реципиенту несмотря на то, что тромбоциты являются носителями трех аллогенных систем: ABO, HLA и HPA [17].

В соответствии с Постановлением Правительства РФ № 797 от 22.06.2019 совместимость донора и взрослого реципиента по Резус-принадлежности и антигенам эритроцитов С, с, Е, е, К не учитывается при трансфузии концентратов тромбоцитов, полученных методом афереза либо с использованием добавочного раствора или патогенредуцированного КТ. Допускается трансфузия неидентичного по системе ABO КТ, полученного с использованием добавочного раствора. По жизненным показаниям допускается трансфузия КТ из единицы крови О группы или концентрата тромбоцитов, полученных методом афереза АВ группы, реципиенту с любой группой крови [29].

Однако, следует помнить, что в КТ содержится остаточное количество эритроцитов, которые могут привести к аллоиммунизации реципиента, выработке антиэритроцитарных антител и низкой клинической эффективности КТ [17]. В связи с этим для обеспечения высокой клинической эффективности требуется тщательный иммунологический подбор КТ [4, 148].

Длительная и интенсивная трансфузионная терапия приводит к появлению анти-HLA и анти-HPA антител не только у пациентов, страдающих онкогематологическими заболеваниями (лейкоз, миелодисплазия и др.), но и у кардиохирургических больных [3, 15, 152]. Последствием аллоиммунизации является рефрактерность, выражающаяся в отсутствии как прироста тромбоцитов в крови, так и гемостатического эффекта, которая требует увеличения количества трансфузий по сравнению с обычной практикой на 40–60% [35, 36]. Образование антитромбоцитарных антител (АТА) является причиной посттрансфузионных реакций и требует подбора доноров

тромбоцитов по системам HLA и HPA [36]. Независимо от специфичности, их действие приводит либо к лизису тромбоцитов, либо к фагоцитозу тромбоцитов макрофагами [17]. Анализ 788 цитат и 30 докладов, посвященных HLA-типированию и выявлению анти-HLA, проведенный Pavenski K с соавторами, показал, что более высокий СПТ и высокий процент восстановления тромбоцитов через 1 час наблюдали после трансфузии HLA-совместимых КТ больным с рефрактерностью; эффект через 24 часа не был доказан [99].

Выявление аллоантител основано на принципе взаимодействия антииммуноглобулина с находящимися на поверхности тромбоцита антителами. К таким методам относят твердофазный метод и лимфоцитотоксический тест (ЛЦТ), направленный на выявление анти-HLA антител, иммунохимические методы ИФА, метод иммобилизации антигенов на моноклональных антителах, [17]. В РФ наибольшую популярность получили ИФА и ЛЦТ, с помощью которых специалистам Гематологического научного центра (Москва) удавалось подбирать КТ, избегать развития посттрансфузионных осложнений у пациентов и сокращать в несколько раз количество трансфузий КТ [14, 15].

Один из таких методов реализован на аппарате Immucor NEO. Прилагаемый к нему Реагент Capture-P<sup>®</sup> Ready-Screen – для выявления АТА к антигенам систем HLA и HPA – представляет стрипы 2x8 с лунками, на стенках которых иммобилизованы высушенные тромбоциты. Метод позволяет выявлять АТА как к антигенам систем HPA и HLA – к антигенам локусов HLA-A и HLA-B. Вначале на поверхности лунок формируют подложку из тромбоцитов донора, которые связывают антитела реципиента. После добавления индикаторных эритроцитов с фиксированными антителами анти-IgG происходит связывание с иммуноглобулинами, присоединившихся к фиксированным на поверхности лунок тромбоцитам. При положительной реакции индикаторные эритроциты не могут мигрировать на дно лунок и распределяются равномерно по поверхности лунки. При отрицательной реакции – осаждаются на дно лунки образуя «пуговицу» (рис. 2).

А

В

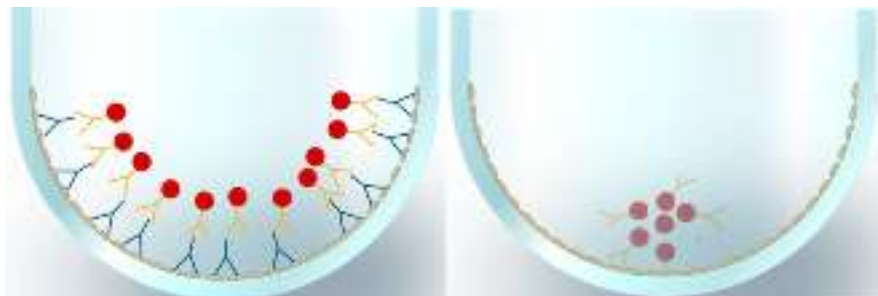


Рис. 2. Результаты реакции Capture-P. А. *При положительной реакции* индикаторные эритроциты выстилают дно лунки. В. *При отрицательной реакции* индикаторные эритроциты мигрируют на дно лунки, образуя «пуговицу»

Процедуру определения АТА и совместимости проводят в соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору реагентов, с учетом концентрации используемого КТ и ККТ, которая должна составлять от  $0,8$  до  $2,0 \times 10^9$ /мл. Анализ оценивают по наличию адгезии индикаторных эритроцитов в лунках планшеты. Положительная реакция – наличие адгезии эритроцитов по всей поверхности. Отрицательная реакция – адгезия отсутствует и на дне лунки формируется осадок «пуговица». При сравнении результатов с отрицательным и положительным контролем тест считают отрицательным, если в обеих лунках и в лунке аутоконтроля донора получен отрицательный результат. Тест считают положительным, если в обеих лунках получен положительный результат при отрицательном результате аутоконтроля донора.

Таким образом, внедрение технологии индивидуального совмещения тромбоцитов в паре донор-реципиент позволило снизить количество трансфузий – получить мощный экономический эффект, выраженный в экономии более 1050 Евро на одного аллоиммунизированного пациента в месяц [14, 152].

## **ОРГАНИЗАЦИЯ ГРУППЫ ДОЛГОСРОЧНОГО ХРАНЕНИЯ КЛЕТОК КРОВИ (КРИОБАНК) В СТРУКТУРЕ СПК И ОПК**

В соответствии с приказом МЗ РФ № 1167 от 28.10.2020 г. «Об утверждении требований к организации деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов по заготовке, хранению, транспортировке донорской крови и (или) ее компонентов, включая штатные нормативы и стандарт оснащения» в структуру центра крови, станции переливания крови и отделения переливания крови рекомендовано включать группу долгосрочного хранения клеток крови (криобанк) либо в состав экспедиции, либо в отдел заготовки донорской крови и ее компонентов.

### **Нормативная документация**

Организация и работа криобанка проводится в соответствии с требованиями следующей нормативной документации.

1. Федеральный закон от 20.07.2012 № 125-ФЗ (ред. от 04.06.2014, с изм. от 14.12.2015) «О донорстве крови и ее компонентов».
2. Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ (ред. от 29.12.2015) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.01.2016).
3. Постановление Правительства Российской Федерации от 22 июня 2019 №797 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации».
4. Приказ МЗ РФ № 1167 от 28.10.2020 г. «Об утверждении требований к организации деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов по заготовке, хранению, транспортировке донорской крови и (или) ее компонентов, включая штатные нормативы и стандарт оснащения».

5. Инструкция по криоконсервированию клеток крови. Утверждена первым заместителем министра здравоохранения РФ А.Д. Царегородцевым 29.05.1995.
6. ГОСТ Р 53420–2009 «Кровь донорская и ее компоненты. Общие требования к обеспечению качества при заготовке, переработке, хранении и использовании донорской крови и ее компонентов».
7. Руководство по приготовлению, использованию и обеспечению качества компонентов крови, издано Директоратом по качеству лекарственных средств и здравоохранения Совета Европы (ЕДКЛС).17-е издание.
8. Техническое руководство ААВВ. Пер. с англ. Милан, Европейская школа трансфузионной медицины, 2000. 1056 с.

### **Штатные нормативы СПК и ОПК по Криобанку**

Требования к штатным нормативам медицинского персонала группы долгосрочного хранения клеток крови (криобанк) представлены в Приказе МЗ РФ № 1167 от 28.10.2020 г. «Об утверждении требований к организации деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов по заготовке, хранению, транспортировке донорской крови и (или) ее компонентов, включая штатные нормативы и стандарт оснащения».

В штате криобанка предусмотрены следующие должности:

- 1) врач-трансфузиолог (1 штат. ед.);
- 2) медицинская сестра (1 штат. ед.);
- 3) медицинский регистратор (2,0 штат. ед.);
- 4) инженер (1 штат. ед.);
- 5) техник (1 штат. ед.).

### **Стандарт оснащения Криобанка**

Законодательством РФ не определен точный перечень оборудования, необходимого для работы криобанка. В соответствии Приказом МЗ РФ № 1167 от 28.10.2020 г. «Об утверждении требований к организации деятельности субъектов обращения донорской крови и (или) ее компонентов по заготовке,



хранению, транспортировке донорской крови и (или) ее компонентов, включая штатные нормативы и стандарт оснащения» рекомендовано оснастить криобанк, оборудованием для замораживания и хранения клеток крови при сверхнизкой температуре, а также низкотемпературным ( $-80^{\circ}\text{C}$ ) медицинским холодильником.

Оснащение оборудованием осуществляется в соответствии с обоснованной потребностью организаций здравоохранения, осуществляющих заготовку, переработку, хранение и обеспечение безопасности донорской крови и ее компонентов, и Программой государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи, утвержденной Постановлением Правительства РФ, в соответствии с частью 4 статьи 80 Федерального закона «Об охране здоровья граждан в РФ». В связи с интенсивным развитием технологий и автоматизации процесса криоконсервирования комплектование отделения проводится исходя из доступности и наличия разрешения на медицинское использование оборудования и расходных материалов.

Так, например, для обеспечения оборота криоконсервированных тромбоцитов до 500 доз в год используется оборудование (табл. 2).

Таблица 2

#### Перечень оборудования для Криобанка

1.	Размораживатель плазмы.....	1
2.	Аппарат стерильного соединения трубок.....	1
3.	Запаиватель трубок.....	1
4.	Центрифуга напольная.....	1
5.	Плазмоэкстрактор.....	2
6.	Морозильная камера.....	2
7.	Тромбомиксер с термостатом.....	1
8.	Весы-миксер для крови.....	1

\* При использовании современных технологий криоконсервирования хранение замороженных тромбоцитов допустимо осуществлять при температуре  $-80-85^{\circ}\text{C}$  в морозильных камерах, что исключает необходимость монтажа и обслуживания дорогостоящего криогенного оборудования

### **Описание технологии криоконсервирования тромбоцитов**

Для длительного хранения тромбоцитов Научно-производственным предприятием «Биотех-М» разработана технология криоконсервирования с использованием медицинского изделия Криотромбосет<sup>®</sup>, позволяющего замораживать и хранить тромбоциты при температуре минус 85 °С в течение 24–36 месяцев.

## НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ «БИОТЕХ-М»

Россия, 123181, Москва, ул. Маршала Катукова, 5

### СТАНДАРТНАЯ ОПЕРАЦИОННАЯ ПРОЦЕДУРА

<b>Наименование: ПОРЯДОК КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ТРОМБОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ УСТРОЙСТВА «КРИОТРОМБОСЕТ»</b>			
Номер: Редакция:	Дата введения в действие: «__»____20 г. Дата пересмотра «____»____20 г.	Номер издания	
Взамен		/Введена впервые	Экземпляр <input type="checkbox"/>
Местонахождение оригинала:		Кол-во изменений <input type="checkbox"/>	
<b>Разработана:</b> Врач-трансфузиолог, к.м.н.	подпись	«__» ____20 г.	И.В. Высочин
<b>Проверена:</b> Зам. Ген. директора, к.т.н.	подпись	«__» ____20 г.	А.И. Саркисов
<b>Согласована:</b> Генеральный директор, к.б.н.	подпись	«__» ____20 г.	И.Ю. Саркисов
Местонахождение электронной копии:			
<b>Нормативные ссылки:</b> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Постановление Правительства РФ от 22.06.2019 г. № 797 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации».</li> <li>2. Руководство по приготовлению, использованию и обеспечению качества компонентов крови, издано Директоратом по качеству лекарственных средств и здравоохранения Совета Европы (ЕДКЛС).17-е издание.</li> </ol>			

Этот документ является собственностью **НПП «Биотех-М»** и носит конфиденциальный характер. Содержание данного документа не может воспроизводиться целиком или по частям, либо передаваться третьим лицам, не являющимся сотрудниками **НПП «Биотех-М»** без предварительного согласования с генеральным директором, к.б.н. Саркисовым И.Ю. Копии,

переданные третьим лицам, по согласованию с генеральным директором, должны быть отмечены штампом «**НЕКОНТРОЛИРУЕМАЯ КОПИЯ**» красного цвета.

### **Назначение**

Настоящая СОП описывает процесс криоконсервирования тромбоцитов с комбинированным криопротектором на основе ДМСО или глицерина. Замораживание тромбоцитов проводится в морозильной камере при температуре минус 80–85 °С. Последующее хранение допустимо при температуре минус 80–85 °С в течение 24–36 месяцев.

- Время хранения замороженных (криоконсервированных) донорской крови и (или) ее компонентов определяется технической документацией производителя оборудования и расходных материалов (Постановление Правительства РФ от 22.06.2019 г. № 797 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации»).
- Допускается размещение донорской крови и (или) ее компонентов разной группы крови и резус-принадлежности в одном медицинском изделии, предназначенном для хранения донорской крови и (или) ее компонентов, на разных полках, которые соответственно маркируются (Постановление Правительства РФ от 22.06.2019 г. № 797 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации»).
- Раздельное хранение пригодных для использования донорской крови и (или) ее компонентов, по видам донорства, группам крови АВ0 и резус-принадлежности (Постановление Правительства РФ от 22.06.2019 г. № 797 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического

использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации»).

При использовании технологий криоконсервирования концентраты тромбоцитов замораживаются не позднее чем через 24 часа после донации... (Постановление Правительства РФ от 22.06.2019 г. №797 «Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации»).

- Допускается замораживание двойной дозы концентрата тромбоцитов (содержащих от 300 до 600 млрд клеток и объемом до 500 мл) в одном устройстве «Криотромбосет».

## **Персонал**

Исполнители:

Врач-трансфузиолог отдела заготовки донорской крови и ее компонентов, включая группу долгосрочного хранения (для СПК), или врач-трансфузиолог экспедиции с центром управления запасами компонентов крови, включающая группу долгосрочного хранения клеток крови (криобанка) (для ОПК), несёт персональную ответственность за чёткое и своевременное выполнение данной СОП по криоконсервированию тромбоцитов.

Операционная медицинская сестра несет персональную ответственность за чёткое и своевременное выполнение СОП.

Старшая медицинская сестра осуществляет контроль и несёт персональную ответственность за выполнение СОП.

Заведующий отделом (для СПК) или экспедицией (для ОПК) контролирует и несёт административную ответственность за выполнение СОП.

### Оборудование и расходные материалы для криоконсервирования тромбоцитов

1. Размораживатель.
2. Аппарат стерильного соединения трубок.

3. Запаяватель трубок.
4. Центрифуга напольная с охлаждением.
5. Плазмоекстрактор.
6. Морозильная камера на минус 80 °С (предпочтительно горизонтальная).
7. Тромбомиксер в термостате.
8. Весы-перемешиватель.
9. Криопротектор на основе ДМСО или глицерина.
10. «Криотромбосет».

### **Медицинская документация и отчётность**

Журнал учета криотромбоцитов.

Паспорт качества размороженных тромбоцитов.

## **ПРОЦЕДУРА**

### **Заготовка исходных КТ**

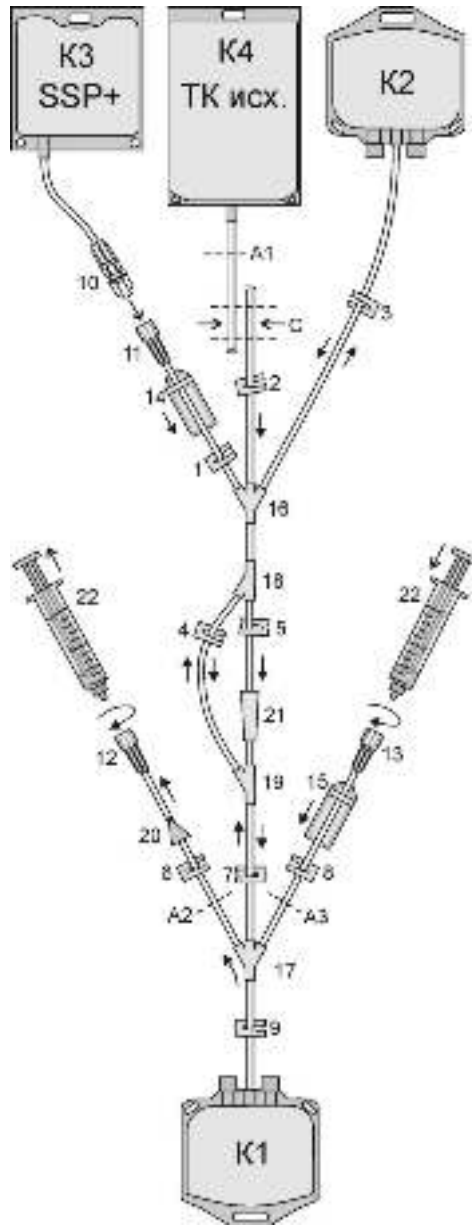
Заготовьте исходный КТ, методом афереза, на клеточном сепараторе.

Хранить КТ до замораживания следует при 22 °С не более 24 часов.

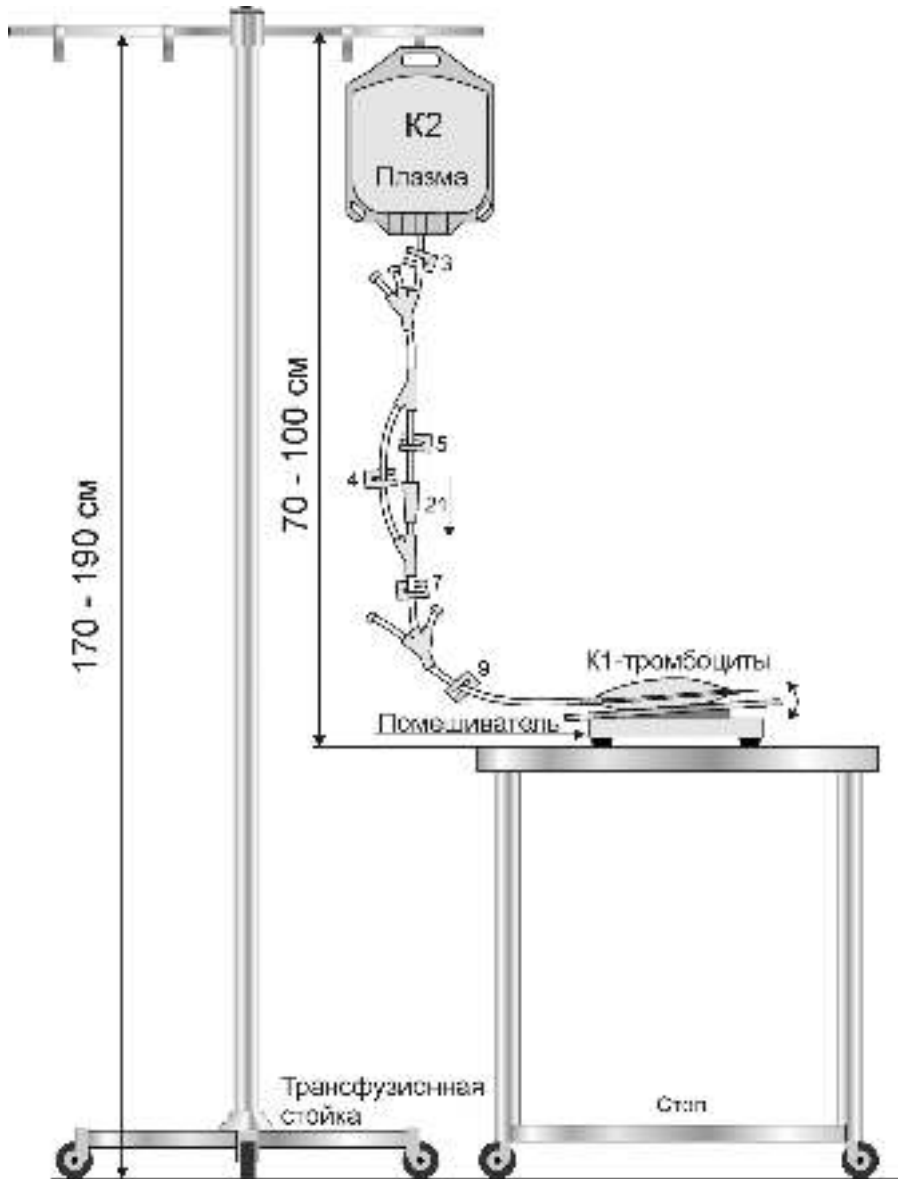
### **Оценка качества исходного КТ**

Определите объем КТ, количество тромбоцитов и лейкоцитов. Количество тромбоцитов в КТ ( $10^9$  в дозе) определяют на геманализаторе.

Полученный КТ должен содержать тромбоциты от 200 до  $250 \times 10^9$  и иметь объем 200 мл.



**Рис. 1.** Схема присоединения к устройству контейнера с исходным концентратом тромбоцитов



**Рис. 2.** Вариант взаимного расположения контейнеров с размороженной плазмой и тромбоцитным концентратом на этапе ресуспендирования и помешивания тромбоцитов после размораживания



На рис. 1 и 2 показана схема расположения частей устройства и пути перемещения тромбоцитного концентрата, плазмы, разводящего раствора для тромбоцитов, а также места присоединения к устройству других контейнеров и шприца. На рис. 2 показано как расположить устройство на трансфузионной стойке для его работы на этапе ресуспендирования размороженных тромбоцитов.

1. Осмотреть упаковку устройства: при нарушении ее целостности, устройство не применять. Визуально проверить целостность устройства: при обнаружении дефектов – устройство не применять.

2. Закрыть зажим 1, 3, 5, 6, 8. Все остальные зажимы (9, 7, 4, 2) – открыты (рис. 1).

3. Присоединить (на аппарате для спаивания трубок) контейнер К4 с исходным концентратом тромбоцитов к линии с зажимом 2. Убедиться в герметичности сварного шва.

4. Закрыть зажимы 9, 7, 4, 2.

5. Перевести концентрат тромбоцитов из контейнера К4 в контейнер К1 (рис. 1).

6. Центрифугировать устройство с контейнерами, заполненными тромбоцитным концентратом.

7. После центрифугирования разместить контейнер К1 в плазмаэкстрактор.

8. Открыть зажимы (9, 7, 4, 3) и перевести над осадочную плазму в контейнер К2.

9. В шприц 22 набрать 2,5 мл (4,0 мл для двойной дозы) криопротектора на основе ДМСО или Глицерина 57% и подсоединить к соединителю 12.

10. В шприц 22 набрать плазму до 10 мл по мениску жидкости.

11. Отсоединить шприц 22 от соединителя 12 и подсоединить к соединителю 13.

12. Перевести воздух из контейнеров К2 в К4.

13. Открыть зажим 8 и ввести дробно содержимое шприца 22 в контейнер К1 через фильтр 15. Сначала 4 мл, а затем с интервалом 2–3 минуты по 2 мл.

14. Отпаять трубки в местах А2 и А3.

15. Разместить устройство в защитный пластиковый контейнер и запаять его.

16. Заморозить и хранить при температуре минус 80–85 °С.

Длительность криоконсервирования тромбоцитов до замораживания составляет не более 1 часа. Следует замораживать устройство с тромбоцитами и плазмой в вакуумной упаковке на дне морозильника при температуре минус 80–85 °С не менее 2 часов. Хранить тромбоциты в замороженном виде следует до 24–36 месяцев.

Размораживать тромбоциты и плазму следует при температуре +37 °С до температуры +20 °С. Затем необходимо разместить устройство на стойке, как показано на рис. 2.

1. Контейнер с размороженной плазмой (К2) или с разводящим раствором для тромбоцитов (К3) следует разместить на инфузионной стойке.
2. Контейнер с размороженными тромбоцитами (К1) необходимо поместить внизу на весы-перемешиватель на расстоянии 70–100 см от К2 или К3.
3. Открыть зажимы 3, 5, 7, 9.
4. Включить весы-перемешиватель.
5. Перевести плазму или разводящий раствор для тромбоцитов в контейнер К1 для ресуспендирования тромбоцитов при постоянном перемешивании.
6. Поднять контейнер К1 с ресуспендированными тромбоцитами и разместить его наверху инфузионной стойки.
7. Контейнер К4 из-под исходного концентрата тромбоцитов разместить

внизу, на весах-перемешивателях.

8. Перевести ресуспендированные тромбоциты в контейнер К4.
9. Запаять трубку у контейнера К4, в точке А1, (рис. 1) и отсоединить его.
10. Наклеить этикетку на контейнер К4 и использовать «концентрат тромбоцитов криоконсервированный, размороженный» для трансфузии реципиенту.

#### **Хранение размороженных тромбоцитов**

Размороженные и ресуспендированные тромбоциты в плазме или разводящем растворе для тромбоцитов следует хранить при температуре от +20 до +24<sup>0</sup>С и непрерывном помешивании в течение 4-6 часов до трансфузии.

#### **Оценка эффективности трансфузии размороженных тромбоцитов**

Трансфузию размороженных тромбоцитов реципиенту проводите через систему для трансфузии с фильтром 170 мкм.

После окончания трансфузии размороженных тромбоцитов в венозной крови пациента определите содержание тромбоцитов через 1 и 24 часа после окончания трансфузии.

Рассчитайте скорректированный прирост тромбоцитов (СПТ) тромбоцитов, учитывая поверхность тела реципиента и количество тромбоцитов в перелитом ТК.

Трансфузия размороженных тромбоцитов считается эффективной при значении СПТ тромбоцитов через 1 и 24 часа после трансфузии гемокомпонента более 7500 м<sup>2</sup>/мкл и 4500 м<sup>2</sup>/мкл соответственно.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аграненко, В.А. Кривоконсервированные тромбоциты и их клиническая эффективность [Текст] / В.А. Аграненко, Ф.Э. Файнштейн, В.Л. Голубева // Гематология и трансфузиология. – 1987. – Т. 32, № 5. – С. 8–12.
2. Азовская, С.А. Кривоконсервирование тромбоцитов и их функциональная полноценность [Текст] / С.А. Азовская, Р.И. Волкова, В.Ф. Сокольников // Гематология и трансфузиология. – 1995. – Т. 40. – № 5. – С. 44–46.
3. Аллоиммунизация тромбоцитами антигенами кардиохирургических больных после трансфузионной терапии [Текст] / И.В. Плугарёва [и др.] // Проблемы заместительной терапии концентратами тромбоцитов: материалы научно-практической конференции. – М., 2010. – С.46-47.
4. Бутина, Е.В. Эффективность иммунологического подбора доноров тромбоцитов [Текст] / Е.В. Бутина, Г.А. Зайцева, Ф.С. Шерстнев // Проблемы заместительной терапии концентратами тромбоцитов: материалы научно-практической конференции. – М., 2010. – С.36-37.
5. Высочин, И.В. Опыт производства и клинического применения кривоконсервированных тромбоцитов в российской федерации [Текст] И.В. Высочин, О.К. Кван, С.В. Смелянец и др. // Тезисы доклада на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «проблемы иммуногенетики в трансплантации органов, тканей и гемопоэтических стволовых клеток», Санкт-Петербург, 17-18 июня 2021 г. – Вестник гематологии. – 2021. Т. XVII, № 3. – С. 45-46.
6. Высочин, И.В. Обеспечение иммунологической и инфекционной безопасности путем кривоконсервирования тромбоцитов [Текст] / И.В. Высочин, Е.Н. Кобзева, А.И. Костин // Трансфузиология. – 2016. – Т. 17, № 2. Прил. 1: Актуальные вопросы развития безвозмездного донорства крови: тезисы докл. II Евраз. конгр. – С.14-15.
7. Высочин, И.В. Особенности заготовки и кривоконсервирования тромбоцитов для клинического применения [Рукопись]: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.21. – Гематология и переливание крови / И.В. Высочин. - М., 2019. – 153 с.
8. Головкина, Л.Л. Антигены тромбоцитов и их значение в медицине [Текст] / Л.Л. Головкина // Гематология и трансфузиология. – 2010. – Т.55, № 4. – С. 24-31.
9. Головкина, Л.Л. Рестрикции гуморального иммунного ответа на антигены тромбоцитов систем HPA и HLA у гематологических больных [Текст] / Л.Л. Головкина, Г.В. Атрощенко, Т.Д. Пушкина // Гематология и трансфузиология. – 2014. – Т.59, № 1. – С. 39-40.
10. Губанова, М.Н. Инактивация патогенов в клеточных компонентах крови [Текст] / М.Н. Губанова, И.Г. Чемоданов, В.В. Гайворонская // Трансфузиология. – 2017. – Т.18, № 3. – С.15-36.

11. Долгосрочные результаты лечения больных острыми миелоидными лейкозами по протоколу российского многоцентрового рандомизированного исследования омл-10 [Текст] / В.Г. Савченко [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2016. – № 2. – С. 60-65.
12. Дополнительные критерии оценки состояния здоровья доноров аппаратного тромбоцитафереза [Текст] / С.В. Варламова [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2014. – Т. 59, № 1. – С. 19-25.
13. Жибурт, Е.Б. Заготовка и переливание тромбоцитов: рук-во для врачей [Текст] / Е.Б. Жибурт, С.Р. Мадзаев. – М.: РАЕН, 2013. – 376 с.
14. Журавлёв В.В. Клинико-экономический анализ переливания тромбоцитных концентратов у больных онкогематологическими заболеваниями [Текст] / В. В. Журавлёв // Гематология и трансфузиология. – 2010. – Т.55, № 5: Проблемы заместительной терапии концентратами тромбоцитов: материалы науч.-практ. конф., (г. Москва, 19 октября 2010 г.). – М. – 2010. – С.42-43.
15. Журавлев, В.В. Снижение риска посттрансфузионных реакций в результате переливания индивидуально подобранных тромбоцитных концентратов [Текст] / В.В. Журавлев, Г.В. Атрощенко, Л.Л. Головкина // Гематология и трансфузиология. – 2010. – Т.55, № 5: Проблемы заместительной терапии концентратами тромбоцитов: материалы науч.-практ. конф., (г. Москва, 19 октября 2010г.). – М., 2010. – С.41-42.
16. Зайцева, Г.А. Показатели гомеостаза у различных категорий доноров [Текст] / Г.А. Зайцева, М.Е. Ковтунова, Н.В. Исаева // Вестник службы крови России. – 2013. – № 4. – С. 20-22.
17. Зотиков, Е.А. Тромбоциты и антитромбоцитарные антитела [Текст] / Е.А. Зотиков, А.Г. Бабаева, Л.Л. Головкина. – М.: Монолит, 2003. – 128 с.
18. Компаниец, А.М. Консервирование концентратов тромбоцитов и их лечебная эффективность [Рукопись]: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.29. – Гематология и переливание крови / А.М. Компаниец. - М., 1992. – 241с.
19. Компанієць, А.М. Дослідження морфофункціональної збереженості тромбоцитів на етапах кріоконсервування [Текст] / А.М. Компанієць, О.В. Книш, Т.М. Гуріна // Пробл. кріобіології. – 2006. – Т. 16, № 2.– С. 182–191.
20. Компаниец, А.М. Крiоконсервирование тромбоцитов с веществами ряда полиолов [Текст] / А.М. Компаниец, А.В. Николенко, В.И. Луговой // Труды Междунар. конф. по крiобіології. – Харьков, 1992. – С. 86.
21. Лебедева, Е.А. Клиническая эффективность концентрата тромбоцитов у гематологических больных [Текст] / Е.А. Лебедева, С.Ю. Ефимова // Проблемы гематологии и переливания крови. – 2000.– № 2.– С. 27–28.
22. Льюис, С.М. Практическая и лабораторная гематология [Текст] / С.М. Льюис, Б. Бэйн, И. Бэйтс // пер. с англ. под ред. А.Г.Румянцева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 672с.

23. Мазуров, А.В. Физиология и патология тромбоцитов [Текст] / А.В. Мазуров. – М.: Литерра, 2011. – 480 с.
24. Макаров, М.С. Морфологическая оценка адгезивной активности тромбоцитов человека с помощью витального окрашивания [Текст] / М.С. Макаров, Н.В. Боровкова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 7. – С. 58-61.
25. Методы долгосрочного хранения в замороженном состоянии эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, предназначенных для трансфузий [Текст]: метод. письмо / ЦОЛИПК; сост.: Ф.Р. Виноград-Финкель [и др.]. – М., 1969. – 60 с.
26. Морфофункциональный анализ тромбоцитов человека с помощью витального окрашивания [Текст] / М.С. Макаров [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 156, № 9. – С. 388-391.
27. Николенко, А.В. Криопротекторные свойства полиолов и их производных при замораживании тромбоцитов [Рукопись]: дис. ... канд. биол. наук: 03.02.22 – Кробиология / А.В. Николенко. – Х., 1991. – 129 с.
28. Николенко, А.В. Криопротекторные свойства полиолов и их производных при замораживании тромбоцитов [Текст] / А.В. Николенко, А.М. Компаниец, В.И. Луговой // Проблемы кробиологии. – 1995. – №4. – С. 36–40.
29. Об утверждении Правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и ее компонентов и о признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации: Постановление Правительства Российской Федерации от 22 июня 2019 № 797. – М., 2019.
30. Основные показатели деятельности службы крови Российской Федерации [Текст] / А.В. Четкин [и др.] // Трансфузиология. – 2018. – Т. 19, № 3. – С. 4-13.
31. Пат. 2485502 Российская Федерация, МПК51 G01N 33/48 Способ оценки морфофункционального статуса тромбоцитов человека / М.Ш. Хубутия, М.С. Макаров, В.Б. Хватов, И.В. Высочин, Е.Н. Кобзева, Н.В. Боровкова, О.И. Конюшко; заявитель и патентообладатель ГУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г.Москвы» – 2012105560/15; заявл. 17.02.2012; опубл. 20.06.2013. – Бюл. № 17. – 7 с.
32. Потапский, В.М. Алгоритм активизации донорского движения среди студентов и курсантов учебных заведений Москвы [Текст] / В.М. Потапский, Е.И. Неминушая // Трансфузиология. – 2011. – Т.12, № 3. – С. 4-16.
33. Правила и протоколы переливания крови [Текст] / Е.Б. Жибурт [и др.] // Национальный медико-хирургический центр имени Н.И. Пирогова. – М., 2014. – 32 с.
34. Приказ МЗ РФ от 14.09.2001 г. № 364 «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов».
35. Приказ МЗ РФ от 25.11.2002 г. № 363 «Инструкция по применению компонентов крови».

36. Приказ МЗ РФ от 02.04.2013 г. № 183н «Правила клинического использования донорской крови и (или) ее компонентов».
37. Применение витального окрашивания для морфофункционального анализа тромбоцитов человека короткого хранения [Текст] / М.С. Макаров [и др.] // Альманах клинической медицины. – 2014. – № 30. – С. 83-87.
38. Протопопова, Е.Б. Качество регулярных донаций тромбоцитов [Текст] / Е.Б. Протопопова, Н.Г. Филина, Н.С. Кузьмин // Вестник службы крови России. – 2015. – № 2. – С. 35-38.
39. Рагимов, А.А. Общая характеристика трансфузиологических методов гемокоррекции и методов экстракорпоральной гемокоррекции. // Трансфузиологическая гемокоррекция: учебное пособие для врачей под ред. А.А.Рагимова [Текст] / А.А. Рагимов, И.Н. Соловьева. – М.: Практическая медицина, 2008. – С. 29-61.
40. Ронин, В.С. Способ окраски тромбоцитов для подсчета в счетной камере [Текст] / В.С. Ронин // Лаб. дело. – 1983. – №1. – С. 61–62.
41. Руководство по приготовлению, использованию и обеспечению качества компонентов крови // Европейский директорат по качеству лекарственных средств и здравоохранения. – 17-е изд. – Страсбург, 2013. – 565 с.
42. Свойства комбинированного консерванта для замораживания тромбоцитных концентратов [Текст] / К.А. Ветошкин [и др.] // Пермский медицинский журнал. – 2013. – № 6. – С. 87-92.
43. Сидоров, С.К. Стандарты и индивидуальные подходы в клинической трансфузиологии [Текст] / С.К. Сидоров, И.Г. Чемоданов, Р.Ф. Аюпова // Трансфузиология. – 2017. – Т.18, № 2. – С. 55-60.
44. Совершенствование технологии криоконсервирования тромбоцитного концентрата при сверхнизкой температуре [Текст] / Ш.М. Багаутдинов [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2010. – № 5. – С. 37.
45. Современные технологические подходы к обеспечению вирусной безопасности препаратов иммуноглобулинов человека [Текст] / Э.Ю. Кудашева [и др.] // Успехи современного естествознания. 03.01.00 Физико-химическая биология. – 2015. – № 5. – С. 132-138.
46. Способ оценки морфофункционального статуса тромбоцитов человека и его применение в клинической практике [Текст] / М.С. Макаров [и др.] // Медицинский алфавит. – 2012. – № 3. – С.32-34.
47. Сравнительное изучение крипротекторных свойств диметацетамида и диметилсульфоксида при хранении тромбоцитов в условиях умеренных температур [Текст] / С.А. Азовская [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 1989. – № 12. – С. 18-21.

48. Степанова, И.П. Состояние и актуальные задачи службы крови в России [Текст] / И.П. Степанова, Е.В. Белов, Е.А. Селиванов // Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: материалы научно-практ. конф. – СПб., 2000. – С. 4–7.
49. Трансфузиология. Национальное руководство [Текст] / под ред. А.А. Рагимова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 1104 с.: ил.
50. Техническое руководство американской ассоциации банков крови: пер. с англ. – Милан, Европейская школа трансфузионной медицины, 2000. – 1056 с.
51. Тюрин, И.А. Методика газохроматографического определения диметилсульфоксида и возможности применения ее в медицине [Текст] / И.А. Тюрин, А.Е. Клюев А.Е., И.В. Высочин // Современные технологии и методы диагностики различных групп заболеваний, лабораторный анализ: материалы VI научно-практической конференции. – М., 2013. – С. 42-43
52. Федотенков, А.Г. К вопросу о токсичности диметилсульфоксида [Текст] / А.Г. Федотенков, И.Д. Шишкина, Л.А. Данилова // Проблемы гематологии и переливания крови. - 1969. - № 5. – С. 36-38.
53. Фефелова, И.В. Криоконсервирование тромбоцитов с диметилсульфоксидом [Текст] / И.В. Фефелова, Д.М. Мхеидзе, Г.Д. Селидовкин // Гематология и трансфузиология. – 1991.— № 6. – С. 30–32.
54. Хубутя, М.Ш. Производство и клиническое применение криоконсервированных тромбоцитов и тромбоцитных концентратов [Текст] / М.Ш. Хубутя, И.В. Высочин, М.С. Макаров // Вестник службы крови России. – 2015. – № 3. – С. 45-51.
55. Шерстнев, Ф. С. Эффективность трансфузий криоконсервированных донорских тромбоцитных концентратов в гематологической клинике [Текст] / Ф.С. Шерстнев, А.А. Костяев, Т.П. Загоскина // Пермский медицинский журнал. – 2012. – С. 5-10.
56. Энциклопедия клинической онкологии [Текст] / под. ред. М.И. Давыдова. – М.: ГУ РОНЦ им. Блохина РАМН, 2004. – 1456с.
57. Эффективность криоконсервирования при -80 °С тромбоцитных концентратов для клинического применения [Текст] / Ф.С. Шерстнев [и др.] // Медицина экстремальных ситуаций. – 2017. – С. 59-64.
58. A comparison of frozen and fresh platelet concentrates in the support of thrombocytopenic patients [Text] / B.L. Towell [et al.] // Transfusion. – 1986. – Vol. 26, No. 6. - P. 525—530.
59. Agranenko, V.A. Factors influencing on the efficacy of platelet transfusion therapy [Text] / V.A.Agranenko, A.M. Kompaniets // Proceedings of XXIII Congress of ISBT. – Amsterdam, 1994. – P. 94.
60. Angelini, A. Evaluation of four different methods for platelet freezing. In vitro and in vivo studies [Text] / A. Angelini, A. Dragani, A. Berardi // Vox Sang. – 1992. – Vol. 62, No. 3. – P. 146-51.



61. A randomized controlled trial evaluating recovery and survival of 6% dimethyl sulfoxide-frozen autologous platelets in healthy volunteers [Text] / L.J. Dumont [et al.] // *Transfusion*. – 2013. – Vol. 53, No. 1 – P. 128–137.
62. Armitage, W. J. Transport of 5-hydroxytryptamine by human platelets incubated in glycerol [Text] / W.J. Armitage // *Transfusion*. – 1982. – Vol. 22, No. 3. – P. 203–205.
63. Armitage, W. J. Osmotic stress as a factor in the detrimental effect of glycerol on human platelets [Text] / W.J. Armitage // *Cryobiology*. – 1986. – Vol. 23, No. 2. – P. 116–125.
64. Arnaud, F.G. Frozen/thawed platelets: importance of osmotic tolerance and platelet subpopulations [Text] / F.G. Arnaud // *Cryobiology*. – 1999. – Vol. 38, No. 3. – P. 192–199.
65. Arnaud, F.G. Cryopreservation of human platelets with 1.4m glycerol at  $-196^{\circ}\text{C}$  [Text] / F.G. Arnaud, D.E. Pegg // *Thrombos. Res.* — 1989. – Vol. 53, No. 6. – P. 585-594.
66. Arnaud, F.G. Permeation of glycerol and propane-1,2-diol into human platelets [Text] / F.G. Arnaud, D.E. Pegg // *Cryobiology*. – 1990. – Vol. 27, No. 2. – P. 107-118.
67. Arnaud, F.G. Some effects of propane-1,2-diol on human platelets [Text] / F.G. Arnaud, C.J. Hunt, D.E. Pegg // *Cryobiology*. – 1990. – Vol. 27, No 2. – P. 119-129.
68. Arnaud, F.G. Cryopreservation of human platelets with propane-1,2-diol [Text] / F.G. Arnaud, D.E. Pegg // *Cryobiology*. – 1990. – Vol. 27, No 2. – P. 130–136.
69. Arnaud, F.G. Cryopreservation of human platelets with 1.4 M glycerol at  $-75$  degrees C in PVC blood packs [Text] / F.G. Arnaud, D.E. Pegg // *Thromb. Res.* – 1990. – Vol. 57, No. 6. – P. 919–924.
70. A therapeutic platelet transfusion strategy is safe and feasible in patients after autologous peripheral blood stem cell transplantation [Text] / H. Wandt [et al.] // *Bone Marrow Transplant.* – 2006. – Vol. 37, No. 4. – P. 387-392.
71. Autologous cryopreserved platelets and prophylaxis of bleeding in autologous bone marrow transplantation [Text] / G. W. van Imhoff [et al.] // *Blut.* – 1983. – Vol. 47, No. 2. – P. 203–209.
72. Autologous platelet transfusion in patients receiving high-dose chemotherapy and circulating progenitor cell transplantation for stage II/III breast cancer [Text] / P. Pedrazzoli [et al.] // *Haematologica.* – 1998. – Vol. 83, No. 8. – P. 718– 723.
73. Autologous transplantation of a bone marrow graft manipulated by chemoseparation to eliminate residual tumor cells [Text] / M. Korbling [et al.] // *International Congress International Society of Hematology and International Society of Blood Transfusion: Abstracts.* Budapest, 1982. – P. 285.
74. Blood collection and transfusion in the United States in 2001 [Text] / M.T. Sullivan [et al.] // *Transfusion.* – 2007. – Vol. 47, No. 3. – P. 385–394.
75. Blood Policy and Technology (Washington, DC: U.S. Congress, Office of Technology Assessment, OTA-H-260, January 1985).

76. British Committee for Standards in Hematology General Haematology Task Force. Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy [Text] / D. Provan [et al.] // Br. J. Haematol. – 2003. – Vol. 120, No. 4. – P. 574-596.
77. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force: Guidelines for the use of platelet transfusions [Text] // Br. J. Haematol. – 2003. – Vol. 122, No 1. – P. 10–23.
78. British Committee for Standards in Hematology. Guidelines on the management of massive blood loss [Text] // Br. J. Haematol. – 2006. – Vol. 135, No 5. – P. 634-641.
79. Bohonek, M. Frozen platelets in clinical use [Text] / M. Bohonek, L. Landova, D. Kutak // Vox Sang. – 2016. – V. 111, Suppl. 1. – P. 60-61.
80. Cerus - Home [Electronic source]. URL: <http://www.cerus.com/> (accessed: 08.12.2017).
81. Characterization of procoagulant extracellular vesicles and platelet membrane disintegration in DMSO-cryopreserved platelets [Text] / T.Z. Tegegn [et al.] // J Extracell Vesicles. – 2016. – Vol. 5, No 1. – P. 304-322.
82. Cohen, P. Platelet preservation. IV. Preservation of human platelet concentrates by controlled slow freezing in a glycerol medium [Text] / P. Cohen, F.H. Gardner // N. Engl. J. Med. – 1966. – Vol. 274, No 25. – P. 1400–1407.
83. Comparison of functional fibrinogen assessment using thromboelastography with the standard von Clauss method [Text] / I. Fluger [et al.] // Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc. Czech. Repub. – 2012. – Vol. 156, No 3. – P. 260–261.
84. Comparison of the effects of transfusions of cryopreserved and liquid-preserved platelets on hemostasis and blood loss after cardiopulmonary bypass [Text] / S.F. Khuri [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 1999. – Vol. 117, No 1. – P. 172-183.
85. Comparison of various dimethylsulphoxide containing solutions for cryopreservation of leucoreduced platelet concentrates [Text] / M.J. Dijkstra-Tiekstra [et al.] // Vox. Sang. – 2003. – Vol. 85, No 4. – P. 276–282.
86. Controlled-rate versus uncontrolled-rate freezing as predictors for platelet cryopreservation efficacy [Text] / B. Balint // Transfusion. – 2006. – Vol. 46, No 2. – P. 230–235.
87. Crowely, J.P. Changes in platelet shape and structure after freeze preservation [Text] / J.P. Crowely, A. Rene, C.R. Valeri // Blood. – 1974. – Vol. 44, No. 4. – P. 599–603.
88. David, N. The Pharmacology of Dimethylsulfoxide 6544 [Text] / N. David // Annu. Rev. Pharmacol. – 1972. – Vol. 12, No. 2. – P. 353-374.
89. Dayian, G. Differences in human platelet permeability to glycerol and DMSO [Text] / G. Dayian, S.N. Chin, A.W. Rowe // Cryobiology. – 1971. – Vol. 8, No. 4. – P. 376.

90. Dayian, G. Cryoprotection of human platelets: The influence of cooling rate and glycerol concentration on activation of the lysosomal enzyme,  $\beta$ -glucuronidase [Text] / G. Dayian, S.N. Chin, A.W. Rowe // *Cryobiology*. – 1971. – Vol. 8, No. 4. – P. 393–394.
91. Dayian, G. Activation of lysosomal enzymes in human platelets during cryopreservation [Text] / G. Dayian, A. W. Rowe // *Cryobiology*. – 1970. – Vol. 6, No. 6. – P. 579–580.
92. Dayian, G.M. Cryopreservation of human platelets for transfusion: a glycerol-glucose, moderate rate cooling procedure [Text] / G.M. Dayian, A.W. Rowe // *Cryobiology*. – 1976. – Vol. 13, No. 1. – P. 1–8.
93. Development of optimal techniques for cryopreservation of human platelets. I. Platelet activation during cold storage (at 22 and 8 degrees C) and cryopreservation [Text] / D.Y. Gao [et al.] // *Cryobiology*. – 1999. – Vol. 38, No. 3. – P. 225–235.
94. Dimethylacetamide, a New Cryoprotective Agent for Platelets [Text] / S. Djerassi [et al.] // *Transfusion*. – 1971. – Vol. 11, No. 2. – P. 72–76.
95. Dimethyl Sulfoxide Inhibits Tissue Factor Expression, Thrombus Formation, and Vascular Smooth Muscle Cell Activation: A Potential Treatment Strategy for Drug-Eluting Stents [Text] / G.G. Camici [et al.] // *Circulation*. – 2006. – Vol. 114, No. 14. – P. 1512–1521.
96. DMSO inhibits human platelet activation through cyclooxygenase-1 inhibition. A novel agent for drug eluting stents? [Text] / L. Asmis [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 391, No. 4. – P. 1629–1633.
97. Do basic laboratory tests or clinical observation predict bleeding in thrombocytopenic oncology patients? [Text] / A.M. Friedman [et al.] // *Transfus. Med. Rev.* – 2002. – No. 16. – P. 34–45.
98. Effect of platelet transfusion on hemorrhage in patients with acute leukemia [Text] / T. Han [et al.] // *Cancer*. – 1966. – Vol. 19, No. 12. – P. 1937–1942.
99. Efficacy of HLA-matched platelet transfusions for patients with hypoproliferative thrombocytopenia: a systematic review [Text] / K. Pavenski [et al.] // *Transfusion*. – 2013. – Vol. 53, No. 10. – P. 2230–2242.
100. Flow cytometric analysis of platelet function in stored platelet concentrates [Text] / C. Wang [et al.] // *Transfusion science*. – 1999. – Vol. 20, No. 2. – P. 129–139.
101. Frozen blood products: clinically effective and potentially ideal for remote Australia [Text] / A. Holley [et al.] // *Anaesth Intensive Care*. – 2013. – Vol. 41, No. 1. – P. 10–19.
102. Frozen platelets for rural Australia: the CLIP trial [Text] / M.C. Reade [et al.] // *Anaesth Intensive Care*. – 2013. – Vol. 41, No. 6. – P. 804–805.
103. Gender Dependence for a Subset of the Low-Abundance Signaling Proteome in Human Platelets [Text] / O. Eidelman [et al.] // *Human Genomics and Proteomics*. – 2010. – V. 2010: 164906.

104. Genetic risk factors in humoral immune response to platelet antigens HLA and HPA systems in multitransfused hematological patients [Text] / L.L. Golovkina [et al.] // *Haematologica*. – 2015. – Vol. 100, No. S1. – P. 630.
105. Gernsheimer, T.B. Platelet transfusion in the 21<sup>st</sup> century: where we've been and where we're going [Text] / T.B. Gernsheimer // *ISBT Science Series*. – 2011. – Vol. 6, No. 1. Special Issue: State of the Art Presentations. 21<sup>st</sup> Region. Congr. the ISBT, (Europe – Lisbon, Portugal, June 18–22, 2011). – P. 245-248.
106. Haemostasis and Thrombosis Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the diagnosis and management of the thrombotic microangiopathic haemolytic anaemias [Text] / S.L. Allford, B.J. Hunt, P. Rose, S. Machin // *Br. J. Haematol.* – 2003. – Vol. 120, No. 4. – P. 556-573.
107. Heal, M.H. Optimizing platelet transfusion therapy [Text] / M.H. Heal, N. Blumberg // *Blood Rev.* – 2004. – Vol. 18, No. 3. – P. 149-165.
108. Houseworth, J. L. Use of the Trima accel to collect platelets from pregnant patients for treatment of nait [Text] / J.L. Houseworth // Abstracts from the American Society for Apheresis 26 annual meeting, (2005, April 27-30; Chicago, Illinois). – P. 26.
109. Inactivation of viruses in platelet and plasma products using a riboflavin-and-UV-based photochemical treatment [Text] / S.D. Keil [et al.] // *Transfusion*. – 2015. – Vol. 55, No. 7. – P. 1736-1744.
110. INTERCEPT® Blood System for Platelets –Dual Storage (DS) Processing Set Rx Only Caution: US Federal law restricts this device to sale by or on the order of a licensed healthcare practitioner [Electronic source]. – URL: <https://www.fda.gov/downloads/biologicsbloodvaccines/bloodbloodproducts/approvedproducts/premarketapprovals/pmas/ucm427522.pdf> (accessed: 06.12.2017).
111. In vitro evaluation of the hemostatic effectiveness of cryopreserved platelets [Text] / Cid. J. Escolar [et al.] // *Transfusion*. – 2016. – Vol. 56, No. 3. – P. 580–586.
112. In vitro comparison of cryopreserved and liquid platelets: potential clinical implications [Text] / L. Johnson [et al.] // *Transfusion*. – 2015. – Vol. 55, No. 4. – P. 838–847.
113. Jacob, W. Pharmacology of DMSO [Text] / W. Jacob, R. Herschler // *Cryobiology*. – 1986. – Vol. 23, No. 1. – P. 14–27.
114. Johnson, L. The hemostatic activity of cryopreserved platelets is mediated by phosphatidylserine-expressing platelets and platelet microparticles [Text] / L. Johnson, C.P. Coorey, D.C. Marks // *Transfusion*. – 2014. – Vol. 54, No. 8. – P. 1917–1926.
115. Johnson, L.N. The Australian experience with deep frozen blood products [Text] / L.N., S.J. Reid, K.M. Winter // 32<sup>rd</sup> International Congress of the ISBT, Cancun, Mexico, July, 2012.
116. Journal officiel de la Republique francaise – No. 276 du 28, Novembre, 2010. – P. 1–44.

117. Kelly, K. Frozen platelets [Text] / K. Kelly, L.J. Dumont // *Transfusion Apher Sci.* – 2018. – pii: S1473-0502(18)30483-X. [Epub ahead of print].
118. Kotelba-Witkowska, B. Cryopreservation of platelet concentrates using glycerol-glucose [Text] / B. Kotelba-Witkowska, C.A. Schiffer // *Transfusion.* – 1982. – Vol. 22, No. 2. – P. 121–124.
119. Levi, M. Current understanding of disseminated intravascular coagulation [Text] / M. Levi // *Br. J. Haematol.* – 2004. – Vol. 124, No. 5. – P. 567-576.
120. Low level of procoagulant platelet microparticles is associated with impaired coagulation and transfusion requirements in trauma patients [Text] / N.A. Windelov [et al.] // *The journal of trauma acute care surgery.* – 2014. – Vol. 77, No. 1 – P. 692–700.
121. Medyczne zasady pobierania krwi, oddzielania jej składników i wydawania, obowiązujące w jednostkach organizacyjnych publicznej służby krwi [Text] / M. Łęztowska [et al.] // Warszawa, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, 2014.
122. Meryman, H.T. Cryopreservation of blood cells and other tissues: current status [Text] / H.T. Meryman // *Haematologia (Budap).* – 1982. – Vol. 15, No. 4. – P. 337- 350.
123. Meryman, H. T. Freezing injury from “solution effects” and its prevention by natural or artificial cryoprotection [Text] / H.T. Meryman, R.J. Williams, M.S. Douglas // *Cryobiology.* — 1977. – Vol. 14, No. 3. – P. 287-302.
124. Ministère du travail, de l’emploi et de la santé Décision du 20 Octobre 2010 fixant la liste et les caractéristiques des produits sanguins labiles [Text] // *J. Republiq. France.* – 2010. – No. 276, du 28 Novembre. – P. 12–64.
125. Nasiri, S. Infusible platelet membrane as a platelet substitute for transfusion: an overview [Text] / S. Nasiri // *Blood Transfus.* – 2013. – Vol. 11, No. 3. – P. 337–342.
126. Noorman, F. -80 °C Frozen platelets are activated compared to 24 hour liquid-stored platelets and quality of frozen platelets is unaffected by a quick preparation method (15 min) which can be used to prepare platelets for the early treatment of trauma patients in military theatre [Text] / F. Noorman, R. Strelitski, J.F. Badloe // *Transfusion.* – 2012. – Vol. 52, Suppl. 3. – P. 33A.
127. Norman, F. -80°C Frozen red blood cells, plasma and platelets, efficient logistics, available, compatible, safe and effective in the treatment of trauma patients with or without massive blood loss in military theatre [Text] / F. Noorman, J.F. Badloe // *AABB Meeting, (Boston, USA, Oct. 2012).* – Boston, 2012.
128. Odink, J. The influence of DMSO on the serotonin uptake of human platelets [Text] / J. Odink, R. Sprokholt, F.G.J. Offerijns // *Cryobiology.* – 1974. – Vol. 11, No. 6. – P. 564.
129. Plasma concentrations and pharmacokinetics of dimethylsulfoxide and its metabolites in patients undergoing peripheral-blood stem-cell transplants [Text] / M.J. Egorin [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1998. – Vol. 16, No. 2. – P. 610-615.

130. Platelet immunopathology and therapy: a Canadian Blood Services Research and Development Symposium [Text] / A.T. Tinmouth [et al.] // *Transfus. Med. Rev.* – 2006. – Vol. 20, No. 4. – P. 294-314.
131. Platelet-rich plasma in patients with tibiofemoral cartilage degeneration [Text] / R. Hart [et al.] // *Arch. Orthop. Trauma. Surg.* – 2013. – Vol. 133, No. 9. – P. 1295-1301.
132. Platelet transfusion: a clinical practice guideline from the AABB [Text] / R.M. Kaufman [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2015. – Vol. 162, No. 3. – P.205-213.
133. Platelet transfusion: a systematic review of the clinical evidence [Text] / A. Kumar [et al.] // *Transfusion.*–2015. – Vol. 55, No. 5. – P. 1116-1127.
134. Platelet transfusion for patients with cancer: clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology [Text] / C.A. Schiffer [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19, No. 5. – P. 1519-1538.
135. Platelets The INTERCEPT Blood System by Cerus Corporation [Electronic source]. URL: [www.аmоtосален+УФА.bloodsystem.com](http://www.аmоtосален+УФА.bloodsystem.com) (accessed: 06.12.2017).
136. Practice Guidelines for Blood Transfusion: A Compilation from Recent Peer-Reviewed Literature. American Red Cross 2002 [Electronic source]. – URL: [http://chapters.redcross.org/br/indianaoh/hospitals/transfusion\\_guidelines.htm](http://chapters.redcross.org/br/indianaoh/hospitals/transfusion_guidelines.htm).
137. Preparation and in vivo circulation of human platelets preserved with combined dimethylsulfoxide and dextrose [Text] / I. Djerassi [et al.] // *Transfusion.* – 1966. – Vol. 6, No. 6. – P. 572-576.
138. Proplatelet formation of megakaryocytes is triggered by autocrine-synthesized estradiol [Text] / Y. Nagata [et al.] // *Genes and Development.* – 2003. – Vol. 17, No. 23. – P. 2864–2869.
139. Rao, A. K. Acquired granular pool defect in stored platelets [Text] / A.K. Rao, S. Niewiarowski, S. Murphy // *Blood.* – 1981. – Vol. 57, No. 2. – P. 203–208.
140. Rebull, P. Revisitation of the clinical indications for the transfusion of platelet concentrates [Text] / P. Rebull // *Rev. Clin. Exp. Hematol.* – 2001. – Vol. 5, No. 3. – P. 288-310.
141. Rebull, P. Platelet transfusion trigger in difficult patients [Text] / P. Rebull // *Transfus. Clin. Biol.* – 2001. – Vol. 8, No. 3. – P. 249-254.
142. Recommendations for the transfusion of plasma and platelets [Text] / G. Liunbruno [et al.] // *Blood Transfus.* – 2009. – Vol. 7, No. 2. – P. 132-150.
143. Redmond, J. Glycerol-glucose cryopreservation of platelet: in vivo and in vitro observations [Text] / J. Redmond, R.B. Bolin, B.A. Cheney // *Transfusion.* – 1983. – Vol. 23, No. 3. – P. 213–214.
144. Refrigeration and cryopreservation of platelets differentially affect platelet metabolism: a comparison with conventional platelet storage conditions [Text] / L. Johnson [et al.] // *Transfusion.* – 2016. – Vol. 56, No. 7 – P. 1807–1818.

145. Regan, D.M. Comparison of cord blood thawing methods on cell recovery, potency, and infusion [Text] / D.M. Regan, J.D. Wofford, D.A. Wall // *Transfusion*. – 2010. – Vol. 50, No. 12. – P. 2670-2675.
146. Review of in vivo studies of dimethylsulfoxide cryopreserved platelets [Text] / S.J. Slichter [et al.] // *Transfusion medicine reviews*. – 2014. – Vol. 28, No. 4. – P. 212-225.
147. Safety and efficacy of autologous platelet transfusion in cardiac surgery: comparison of cryopreservation, blood collection on the day before surgery and blood collection during surgery [Text] / M. Yokomuro [et al.] // *Cryobiology*. – 1999. – Vol. 38, No. 3. – P. 236-242.
148. Safety and efficacy of cryopreserved autologous platelet concentrates in HLA-alloimmunized patients with hematologic malignancies [Text] / B. Gerber [et al.] // *Transfusion*. – 2016. – Vol. 56, No. 10. – P. 2426-2437.
149. Schiffer, C.A. Clinical experience with transfusion of cryopreserved platelets [Text] / C.A. Schiffer, J. Aisner, P.H. Wiernik // *Br. J. Haematol.* – 1976. – Vol. 34, No. 3. – P. 377-385.
150. Schiffer, C.A. Frozen autologous platelet transfusion for patients with leukemia [Text] / C.A. Schiffer, J. Aisner, P.H. Wiernik // *N. Engl J. Medicine*. – 1978. – Vol. 299, No. 1. – P. 7-12.
151. Schiffer, C.A. Cytapheresis and Plasma Exchange: Clinical Indications [Text] / C.A. Schiffer, J. Aisner, P.H. Wiernik // *Progress in clinical and biological research*. – New York: Alan R. Liss Inc., 1982. – P. 165-180.
152. Serological compatibility tests in alloimmunized oncohematological patients before platelet transfusions: clinical and economical effectiveness [Text] / L.L. Golovkina [et al.] // *Vox Sang.* – 2013. – Vol. 105, Suppl. 1. – P. 241-242.
153. Slichter, S.J. Mechanisms and management of platelet refractoriness [Text] / S.J. Slichter // *Transfusion Medicine in the 1990s* / Ed. by S.J. Nance – Arlington, 1990. – P. 95-178.
154. Slichter, S.J. Platelet transfusion: future directions [Text] / S.J. Slichter // *Vox Sang.* – 2004. – Vol. 8, Suppl. 2. – P. 47-51.
155. Smith, J.F. Retention of coagulation factors in plasma frozen after extended holding at 1-6 degrees C [Text] / J.F. Smith [et al.] // *Vox Sang.* – 2000. – Vol. 78, No. 1. – P. 28-30.
156. Superior Health Council. Guidelines for the transfusion of platelets (SCH 8068); 2005 [Electronic source]. - URL: [http:// www.health.fgov.be/CSH\\_HGR](http://www.health.fgov.be/CSH_HGR).
157. Taylor, M.A. Cryopreservation of platelets: an in vitro comparison of four methods [Text] / M.A. Taylor // *J. Clin. Pathol.* – 1981. – Vol. 34, No. 1. – P. 71-75.
158. The high-order kinetics of cytolysis in stressed red cells [Text] / H.T. Meryman [et al.] // *International Congress International Society of Hematology and International Society of Blood Transfusion: Abstracts*. – Budapest, 1982. – P. 419.

159. The INTERCEPT Blood System by Cerus Corporation [Electronic source]. – URL: <http://interceptbloodsystem.com/> (accessed: 08.12.2017).
160. The management of heparin-induced thrombocytopenia [Text] / D. Keeling [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2006. – Vol. 133, No. 3. – P. 259-69.
161. The potential of nanoscale combinations of self-assembling peptides and amino acids of the Src tyrosine kinase inhibitor in acute lung therapy [Text] / S.Y. Fung [et al.] // *Biomaterials.* – 2011. – Vol. 32, No. 16. – P. 4000-4008.
162. Therapeutic efficacy and safety of platelet treated with a photochemical process for pathogen inactivation the Sprint Trial [Text] / J. McCulloch [et al.] // *Blood.* – 2004. – Vol. 104, No. 5. – P. 1534-1542.
163. The risk of bleeding in thrombocytopenic patients with acute myeloid leukaemia [Text] / K.E. Webert [et al.] // *Haematologica.* – 2006. – Vol. 91, No. 11. – P. 1530-1537.
164. The role of growth factors in cartilage repair [Text] / L.A. Fortier [et al.] // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2011. – Vol. 469, No. 10. – P. 2706-2715.
165. Transfusion-related adverse events in the Platelet Dose study [Text] / R.M. Kaufman [et al.] // *Transfusion.* – 2015. – Vol. 55, No. 1. – P. 144-153.
166. Treatment with platelet-rich plasma is more effective than placebo for knee osteoarthritis: a prospective, double-blind, randomized trial [Text] / S. Patel [et al.] // *Am. J. Sports Med.* – 2013. – Vol. 41, No. 2. – P. 356-364.
167. Troubleshooting in platelet storage temperature and new perspectives through proteomics [Text] / M.G. Egidi [et al.] // *Blood Transfus.* – 2010. – No. 8. – P. 73-81.
168. Valeri, C.R. A simple method for freezing human platelets using 6 per cent dimethylsulfoxide and storage at -80 degrees C [Text] / C.R. Valeri, H. Feingold, L.D. Marchionni // *Blood.* – 1974. – Vol. 43, No. 1. – P. 131-136.
169. Valeri, C.R. 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 [Text] / C.R. Valeri, H. Macgregor, G. Ragno // *Transfusion.* – 2005. – Vol. 45, No. 4. – P. 596-603.
170. Valeri, C.R. Freezing human platelets with 6 percent dymethylsulfoxide with removal of the supernatant solution before freezing and storage at -80 °C without postthaw processing [Text] / C.R. Valeri, G. Rango, S. Khuri // *Transfusion.* – 2005. – Vol. 45, No. 12. – P. 1890-1898.
171. Velden, K. The value of a 51Cr platelet lysis assay as crossmatch test in patients with leukaemia on platelet transfusion therapy [Text] / K. Velden, K. Sintnicolaas, B. Lowenberg // *International Congress International Society of Hematology and International Society of Blood Transfusion: Abstracts.* – Budapest, 1982. – P. 282.
172. Vox Sanguinis International Forum on platelet cryopreservation: Summary [Text] / C.S. Cohn [et al.] // *Vox. Sang.* 2017. – Vol. 112, No. 7. – P. 684-688. DOI: 10.1111/vox.12532.
173. World Health Organisation. The Clinical Use of Blood: Handbook, WHO; 2001.



Формат 60x90/16. Объём 5,0 усл. печ. л.  
Бумага 80 г/м<sup>2</sup> офсетная. Гарнитура Times New Roman.  
Тираж 50 экз. Заказ № К474.

Отпечатано в ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России.  
123098 Москва, ул. Живописная, 46.  
Тел.: (499) 190-93-90, 190-94-09.  
rcdm@mail.ru, lochin59@mail.ru  
[www.fmbafmbc.ru](http://www.fmbafmbc.ru)