

Полуян О.С.¹, Костюк С.А.¹, Бенько А.Н.¹, Герасименко М.А.²
Технологические этапы получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами

¹ГНУ «Белорусская медицинская академия последипломного образования», Минск, Республика Беларусь

²ГУ «РНПЦ травматологии и ортопедии», Минск, Республика Беларусь

Обогащенная тромбоцитами плазма – простой, дешевый и минимально инвазивный способ получить естественную концентрацию аутологичных факторов роста. В настоящее время данный препарат широко применяется в различных областях медицины для регенерации тканей с низким заживляющим потенциалом. Предполагаемый эффект от внутрисуставного введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, – снижение интенсивности и длительность болевого синдрома, улучшение функции суставов, увеличение длительность ремиссии.

Цель исследования: оптимизировать технологические условия получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, для последующего внутрисуставного применения у пациентов с артропатиями коленного сустава.

Материалы и методы исследования. В качестве биологического материала использовали сыворотку крови 15 пациентов с гонартрозом, находившихся на стационарном лечении в УЗ «Минская областная клиническая больница». Контрольную группу составили 15 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту. У каждого пациента проводили взятие периферической венозной крови из локтевой вены в стерильные пробирки объемом 9 мл, содержащие 3,8% гепарина натрия ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$). В качестве главного критерия включения биологического материала в исследование использовали отсутствие тромбоцитозов и тромбоцитопений по данным результата общего анализа крови. Все количественные данные имели непараметрическое распределение (проверка на нормальность проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова) и представлены в виде значения медианы и квартилей Me (Q25/75). Для решения задач сравнения двух независимых групп количественных переменных применялся критерий Манна-Уитни (U-тест). Критическим уровнем значимости принят $p < 0,05$.

Результаты. Для определения исходных показателей клеточного состава крови был проведен общий анализ крови с определением лейкоцитарной формулы 30 образцов биологического материала с использованием гематологического анализатора Micros-60 (Hogiba, Япония). В группе пациентов с гонартрозом содержание тромбоцитов состави-

ло Me (Q25/75) составило 202 (153/339) $\times 10^9/\text{л}$, в контрольной группе – 234 (153/358) $\times 10^9/\text{л}$. Статистически значимых достоверных различий в содержании тромбоцитов в периферической крови пациентов с гонартрозом по сравнению с контрольной группой выявлено не было ($p=0,177$), ввиду чего в дальнейших исследованиях разделение на группы не учитывалось.

На следующем этапе нами были протестированы различные режимы центрифугирования образцов периферической крови: количество оборотов (g) и время (мин). Для первого центрифугирования (разделение крови на три фракции: плазма, лейкоцитарная и эритроцитарная массы) были протестированы режимы в диапазоне 400-500g в течение 2-5 минут. По окончании первого центрифугирования верхний слой переносили в стерильные вакуумные пробирки объемом 4,0 мл; для второго этапа центрифугирования проводили тестирование в диапазоне 1500-2500g в течение 1-5 минут. После второго центрифугирования удаляли верхний слой плазмы, нижний слой плазмы использовали для оценки количества тромбоцитов.

Нами было протестировано 8 режимов центрифугирования: 400g 2 мин + 2500g 5 мин, 400g 3 мин + 2500g 4 мин, 400g 4 мин + 2500g 3 мин, 400g 5 мин + 2500g 2 мин, 500g 2 мин + 1500g 5 мин, 500g 3 мин + 1500g 4 мин, 500g 4 мин + 1500g 3 мин, 500g 5 мин + 1500g 2 мин.

Установлено отсутствие статистически значимых ($p>0,05$) достоверных различий в содержании количества тромбоцитов при использовании при первичном центрифугировании при 400g и 500g и времени 2-5 мин. Центрифугирование при 2500g вне зависимости от времени экспозиции также не оказывало статистически достоверного ($p>0,05$) влияния на количество тромбоцитов. При использовании режима 1500g 2 мин количество тромбоцитов составило 2067 (1826/2255) $\times 10^9/\text{л}$, режима 1500g 3 мин – 2467 (2210/2729) $\times 10^9/\text{л}$, режима 1500g 4 мин – 1859 (1647/2038) $\times 10^9/\text{л}$, режима 1500g 5 мин – 1801 (1622/1995) $\times 10^9/\text{л}$.

Заключение. Установлен оптимальный режим получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, – первичное центрифугирование при 500g 5 мин с последующим центрифугированием 1500g 3 мин. Использование данного режима позволяет получить аутоплазму, обогащенную тромбоцитами, в количестве 2467 (2210/2729) $\times 10^9/\text{л}$.