

Разработка и апробация методики получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, для внутрисуставного применения у пациентов с артропатиями коленного сустава

Полуян О. С.¹, Костюк С. А.¹, Бенько А. Н.¹, Герасименко М. А.²

*¹Государственное учреждение образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»,
г. Минск, Республика Беларусь;*

*²Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр
травматологии и ортопедии», г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Получение и клиническое применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитарными факторами роста, является перспективным направлением современной травматологии с использованием клеточных технологий, применение которых позволит проводить патогенетически обоснованную терапию, направленную на стимуляцию регенераторных и репаративных процессов в полости сустава. В настоящей статье авторами проведен анализ данных содержания тромбоцитов в зависимости от выбранных скорости и времени центрифугирования первичных образцов периферической крови.

Ключевые слова: аутоплазма, тромбоциты, периферическая кровь, центрифугирование.

Введение. Достижения современной науки направлены на улучшение качества оказания медицинской помощи путем минимизации оперативных вмешательств. В случае травматологии данный подход является наиболее оптимальным и рациональным: разрабатываются и активно внедряются технологии, позволяющие использовать собственные резервы макроорганизма. Одним из таких направлений является использование аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, применяемое для регенерации поврежденных тканей суставов, и обладающее относительной безопасностью, простотой выполнения и высокой результативностью.

В настоящий момент использование аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, является одним из успешных направлений тканевой инженерии и клеточной терапии в медицине [1]. В эволюции терминологии встречается множество различных вариантов названий обогащенной тромбоцитами аутоплазмы как конечного продукта. В клинической практике считается, что стимулирующий эффект обогащенной тромбоцитами аутоплазмы возможен при концентрации тромбоцитов в ней не менее 1 000 000/мкл [2].

Обогащенная тромбоцитами плазма получается из собственной крови пациента, подвергнутой центрифугированию. Поскольку разные элементы крови имеют разный размер и вес, после обработки на центрифуге в пробирке создается несколько слоев, позволяющих легко удалить все ненужное, оставив необходимые для терапии тромбоциты. В норме содержание тромбоцитов в плазме крови составляет $(180-320) \cdot 10^9/\text{л}$. После обогащения их становится $(1000-2500) \cdot 10^9/\text{л}$ [2].

При повреждении тканей тромбоциты играют огромную роль в заживлении и регенерации тканей благодаря высвобождению факторов роста. Факторы роста — это естественные полипептиды,



которые обладают широким спектром биологического локального воздействия на многие клетки, посредством влияния на основные звенья регенераторного процесса: хемотаксис, клеточную пролиферацию, миграцию клеток, дифференцировку, реструктуризацию и ангиогенез [3].

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 [4, 5].

Тромбоциты играют ключевую роль как промежуточное звено в процессе заживления ткани за счет способности выделять из своих α -гранул факторы роста:

- инсулиноподобный фактор роста — основная функция — клеточный рост, дифференцировка и миграция клеток;
- тромбоцитарный фактор роста — основная функция — участие в процессах регенерации и выживания клеток;
- трансформирующий фактор роста — основная функция — уменьшение воспалительных явлений, стимуляция синтеза коллагена, подавление апоптоза;
- фактор роста эндотелия сосудов — основная функция — влияние на проницаемость стенок сосудов, улучшение кровоснабжения тканей;
- эпидермальный фактор роста — основная функция — запуск процессов обновления, деление клеток;
- фактор роста фибробластов — основная функция — стимуляция роста кровеносных сосудов, увеличение количества фибробластов [6].

Также аутоплазма, обогащенная тромбоцитами, содержит белки, фибриноген, питательные вещества (глюкоза, липиды), гормоны, витамины, ферменты, промежуточные и конечные продукты обмена веществ, неорганические ионы, которые также участвуют в каскаде процесса регенерации тканей.

Особенность строения хрящевой ткани заключается в ее низкой способности к самовосстановлению за счет отсутствия в ней сосудов: все необходимые питательные вещества поступают из синовиальной жидкости. Ввиду этого, для эффективного восстановления хрящевой ткани лекарственные средства необходимо вводить непосредственно в суставную полость [5].

Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, имеет ряд преимуществ:

- полная биосовместимость;
- отсутствие необходимости ежедневного длительного применения;
- отсутствие риска передачи инфекции с препаратом крови;
- минимальный риск возникновения местного инфекционного процесса;
- короткий период реабилитации;
- пролонгированное действие;
- невысокая стоимость курса лечения [4, 5].

Предполагаемый эффект от внутрисуставного введения аутоплазмы:

- усиление синтеза коллагена, который делает ткани упругими и эластичными, что особенно важно для мышц и связок;
- локальное увеличение содержания фибробластов с последующим формированием новой прочной ткани;
- улучшение микроциркуляции за счет роста новых сосудов [4, 5, 6].

Показаниями для использования аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами:

- поражение хрящевой ткани сустава (артрозы, артриты, остеохондриты, хондромалиция);
- поражение связок, сухожилий и мышц (тендиниты, миозиты);
- поражение позвоночника (остеохондроз, повреждение межпозвоночного диска);
- неполные разрывы связок, сухожилий, капсулы суставов;
- воспалительные процессы;
- применение во время и после операций на суставах для ускорения заживления [4, 5].

Противопоказания для использования аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами:

- беременность;
- острые инфекционные заболевания;
- обострение хронических заболеваний;
- заболевания кроветворной системы;
- онкологические заболевания;



- аутоиммунные заболевания;
- системные заболевания соединительной ткани и др. [5].

Существуют различные протоколы получения аутоплазмы путем центрифугирования цельной крови, после или без добавления антикоагулянта с получением различных конечных продуктов [2]. При этом многие параметры получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, такие как количество оборотов и длительность центрифугирования, чаще всего выбираются эмпирически, что делает невозможным объективность оценки эффективности и воспроизводимости данной методики.

Цель работы — разработка методики получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, для внутрисуставного применения у пациентов с артропатиями коленного сустава

Материалы и методы. В данное исследование было включено 45 пациентов с артропатией коленного сустава, находившихся на стационарном лечении в УЗ «Минская областная клиническая больница». Возраст пациентов на момент обследования составил Me (Q25; Q75) 43 (Q35; Q58) лет; распределение по полу: мужчины $53,33 \pm 6,37\%$ ($n = 24$), женщины $46,67 \pm 6,07\%$ ($n = 21$). Контрольную группу составили 30 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

В качестве биологического материала использовали периферическую кровь, взятую из локтевой вены.

Основным критерием включения в исследование являлись нормальные значения показателей общего анализа крови (для исключения влияния примесей, способствующих росту микроорганизмов и воспаления, а также выбросу цитокинов воспаления при их повышенном исходном содержании в крови): содержание эритроцитов для мужчин составляло $(4,2-5,6) \cdot 10^{12}/л$, для женщин — $(3,9-5,3) \cdot 10^{12}/л$, тромбоцитов — $(150-400) \cdot 10^9/л$, лейкоцитов — $(4,5-11) \cdot 10^9/л$, в том числе содержание нейтрофилов находилось в пределах $48-78\%$ ($(1,78-5,38) \cdot 10^9/л$).

Взятие периферической крови, а также все последующие этапы получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, проводились в соответствии с требованиями правил асептики и антисептики.

Взятие периферической крови осуществлялось с использованием одноразовых индивидуальных стерильных вакуумных систем, состоящих из автоматического одноразового иглодержателя, двусторонней автоматической иглы для внутривенной инъекции и стерильной вакуумной пробирки с гепарином натрия. Место венепункции обрабатывали антисептическим раствором этанола (70 %). Вакуумную систему «держатель—игла» вводили в вену, избегая глубокого погружения иглы. Вставляли пробирку с гепарином натрия в держатель до упора до полной компенсации вакуума в пробирке. После извлечения пробирки из держателя ее аккуратно перемешивали 8–10 раз для смешивания пробы с наполнителем. Затем вынимали систему «держатель—игла» из вены, место венепункции закрывали стерильной салфеткой с антисептиком и наклеивали бактерицидный пластырь.

Этап первого центрифугирования осуществлялся в стерильных пробирках, которые использовались непосредственно при взятии периферической крови. После чего с использованием одноразовых стерильных шприцев верхний слой переносили в стерильные вакуумные пробирки объемом 4 мл для этапа второго центрифугирования. Полученную таким образом аутоплазму, обогащенную тромбоцитами, забирали одноразовым стерильным шприцем и использовали для внутрисуставного введения. Таким образом, все этапы получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, проводились с обеспечением стерильности конечного продукта перед внутрисуставным введением пациенту.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ SPSS версия 16 (SPSS Inc.). Все количественные данные имели непараметрическое распределение и представлены в виде значений медиан (Me) с указанием 25 % и 75 % перцентилей: Me (Q25; Q75). Для относительных показателей определяли 95% доверительный интервал (ДИ). Для решения задачи сравнения двух независимых групп количественных переменных применялся критерий Манна – Уитни (*U*-тест). Критическим принят уровень значимости $p < 0,05$ [7].

Результаты и их обсуждение. Для определения исходных показателей клеточного состава крови был проведен общий анализ крови с определением лейкоцитарной формулы 75 образцов биологического материала с использованием гематологического анализатора Micros-60 (Horiba, Япония).

На первом этапе нами были проведены сравнительные исследования содержания тромбоцитов в зависимости от группы исследования.

В группе пациентов с гонартрозом содержание тромбоцитов составило Me (Q25; Q75) 202 (152–333) $\cdot 10^9/л$, в контрольной группе — 232 (154–335) $\cdot 10^9/л$. Статистически значимых достоверных различий в содержании тромбоцитов в периферической крови пациентов с гонартрозом по

сравнению с контрольной группой выявлено не было — критерий Манна — Уитни $U = 621,00$; $Z = -0,584$; $p = 0,559$ (рисунок 1).

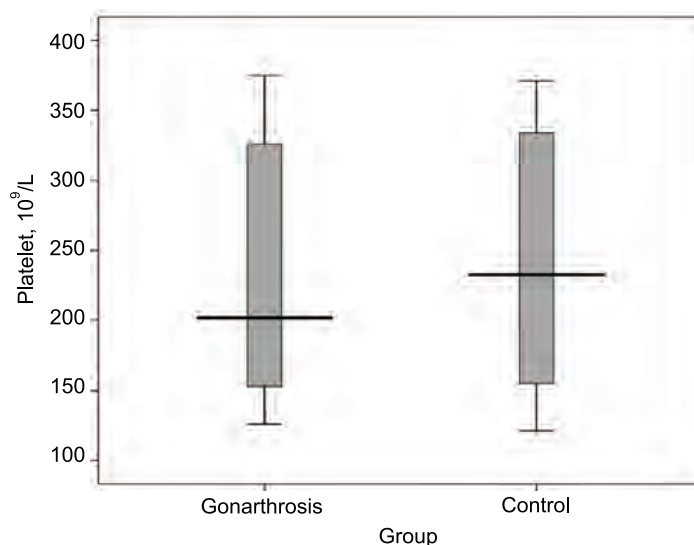


Рисунок 1 — Общее содержание тромбоцитов в периферической крови пациентов с гонартрозом и контрольной группы

На основании полученных данных по содержанию тромбоцитов в крови пациентов с гонартрозом и контрольной группы дальнейшие исследования по оптимизации технологических условий получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, проводились без учета принадлежности к группе.

На следующем этапе нами были протестированы различные режимы центрифугирования образцов периферической крови: количество оборотов (g) и время центрифугирования (мин). Для первого центрифугирования, при котором происходит разделение крови на три фракции: плазма, лейкоцитарная и эритроцитарная массы, были протестированы режимы 400g и 500g в течение 2–5 мин с обязательной оценкой количества тромбоцитов.

По окончании первого центрифугирования верхний слой переносили в стерильные вакуумные пробирки объемом 4,0 мл.

Для второго этапа центрифугирования проводили тестирование 1500g, 2000g и 2500g в течение 2–5 мин. После второго центрифугирования удаляли верхний слой плазмы, нижний слой плазмы использовали для оценки количества тромбоцитов.

Для получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, нами были протестированы 24 режимов центрифугирования (таблица 1).

Таблица 1 — Режимы центрифугирования образцов периферической крови для получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами

Режим	Первое центрифугирование	Второе центрифугирование
1	400g 2 мин	2500g
2	400g 3 мин	2500g 4 мин
3	400g 4 мин	2500g 3 мин
4	400g 5 мин	2500g 2 мин
5	400g 2 мин	2000g 5 мин
6	400g 3 мин	2000g 4 мин
7	400g 4 мин	2000g 3 мин
8	400g 5 мин	2000g 2 мин
9	400g 2 мин	1500g 5 мин
10	400g 3 мин	1500g 4 мин

Окончание табл. 1

Режим	Первое центрифугирование	Второе центрифугирование
11	400g 4 мин	1500g 3 мин
12	400g 5 мин	1500g 2 мин
13	500g 2 мин	1500g 5 мин
14	500g 3 мин	1500g 4 мин
15	500g 4 мин	1500g 3 мин
16	500g 5 мин	1500g 2 мин
17	500g 2 мин	2000g 5 мин
18	500g 3 мин	2000g 4 мин
19	500g 4 мин	2000g 3 мин
20	500g 5 мин	2000g 2 мин
21	500g 2 мин	2500g 5 мин
22	500g 3 мин	2500g 4 мин
23	500g 4 мин	2500g 3 мин
24	500g 5 мин	2500g 2 мин

При оценке количества тромбоцитов после первого центрифугирования со скоростью 400 g количество тромбоцитов составило $605 (510-675) \cdot 10^9/\text{л}$, в частности при центрифугировании в течение 2 мин количество тромбоцитов составило $651 (549/715) \cdot 10^9/\text{л}$, 3 мин — $643 (527-726) \cdot 10^9/\text{л}$, 4 мин — $542 (458-641) \cdot 10^9/\text{л}$, 5 мин — $505 (421-618) \cdot 10^9/\text{л}$ (рисунок 2).

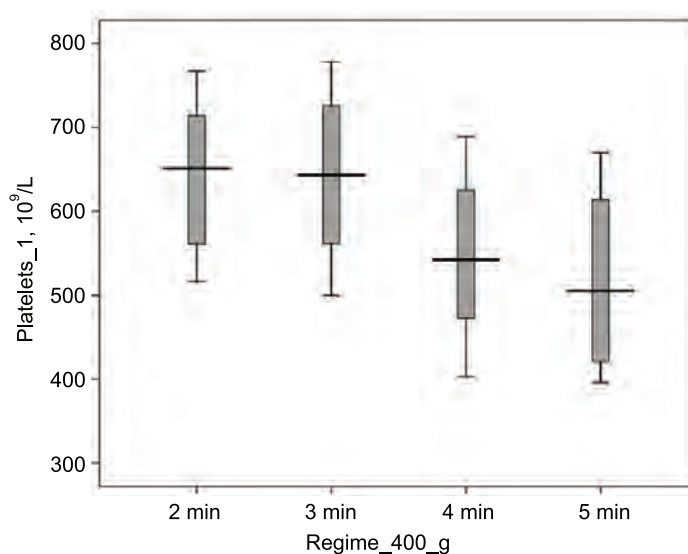


Рисунок 2 — Содержание тромбоцитов периферической крови после первого центрифугирования со скоростью 400 g

Использование статистического критерия Манна – Уитни показало наличие статистически значимых достоверных различий в содержании тромбоцитов в зависимости от времени центрифугирования в группах 1–3 ($U = 85,00$; $Z = -2,789$; $p = 0,005$), 1–4 ($U = 42,00$; $Z = -3,920$; $p < 0,001$), 2–3 ($U = 88,50$; $Z = -2,687$; $p < 0,001$) и 2–4 ($U = 51,00$; $Z = -6,647$; $p < 0,001$), тогда для групп 1–2 ($U = 176,50$; $Z = -0,117$; $p = 0,907$) и 3–4 ($U = 11,00$; $Z = -1,611$; $p = 0,111$) таких различий выявлено не было.

На следующем этапе нами был протестирован режим первого центрифугирования со скоростью 500g. Общее количество тромбоцитов составило $579 (529-653) \cdot 10^9/\text{л}$, в частности при центрифугировании в течение 2 мин количество тромбоцитов составило $629 (567-682) \cdot 10^9/\text{л}$, 3 мин — $637 (559-710) \cdot 10^9/\text{л}$, 4 мин — $558 (467-633) \cdot 10^9/\text{л}$, 5 мин — $528 (435-662) \cdot 10^9/\text{л}$ (рисунок 3).



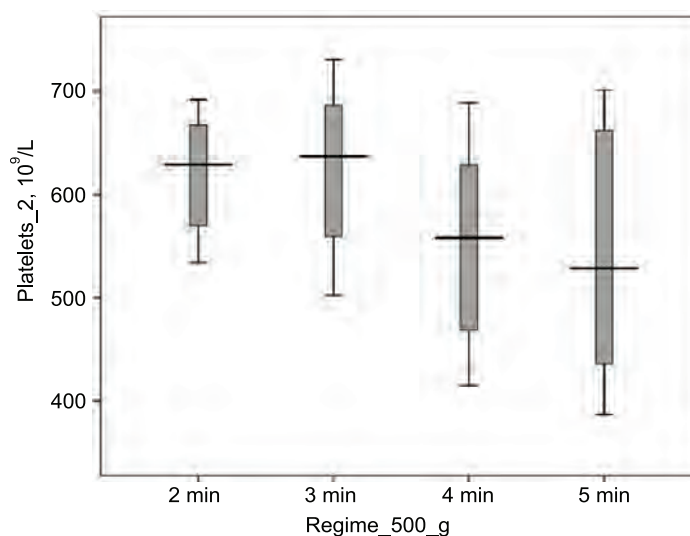


Рисунок 3 — Содержание тромбоцитов периферической крови после первого центрифугирования со скоростью 500g

Использование статистического критерия Манна – Уитни показало отсутствие статистически значимых достоверных различий в содержании тромбоцитов в зависимости от времени центрифугирования в группах 1–2 ($U = 174,00$; $Z = -0,190$; $p = 0,863$), 1–3 ($U = 107,00$; $Z = -2,146$; $p = 0,032$), 2–3 ($U = 102,00$; $Z = -2,292$; $p = 0,022$) и 3–4 ($U = 153,00$; $Z = -0,547$; $p = 0,599$), тогда для групп 1–4 ($U = 84,00$; $Z = -2,644$; $p = 0,007$) и 2–4 ($U = 82,00$; $Z = -2,705$; $p = 0,006$) такие различия были выявлены.

На следующем этапе нами были проведены сравнительные исследования по определению количества тромбоцитов периферической крови с использованием описанных выше режимов.

Вначале были протестировали режимы с первым центрифугированием 400g. В ходе проведенных исследований установлено, что содержание тромбоцитов в периферической крови составило $1490 (1409–1583) \cdot 10^9/\text{л}$ при использовании при втором центрифугировании режимов 2500g, $1154 (1077–1297) \cdot 10^9/\text{л}$ при использовании при втором центрифугировании режимов 2000g и $996 (879–1108) \cdot 10^9/\text{л}$ при использовании при втором центрифугировании режимов 1500g (рисунок 4).

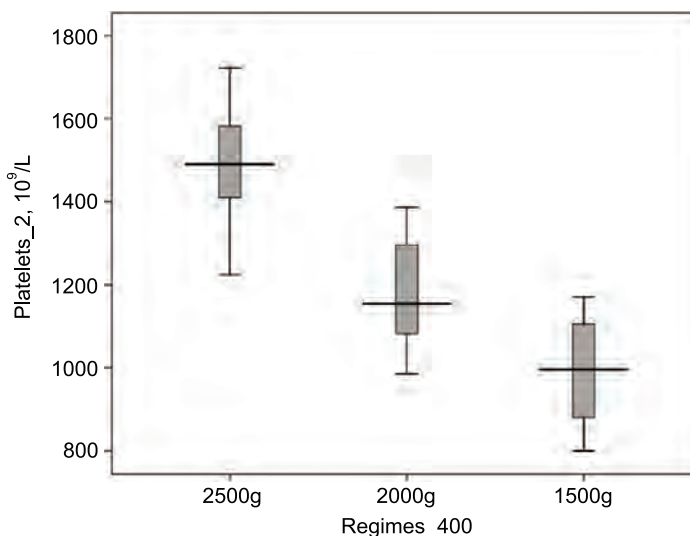


Рисунок 4 — Содержание тромбоцитов периферической крови при использовании режимов первого центрифугирования 400g и второго центрифугирования 2500g, 2000g, 1500g

Использование непараметрического критерия Манна – Уитни показало наличие достоверных статистических различий по исследуемому параметру во всех группах в зависимости от режима вто-

рого центрифугирования: для групп 2500g–2000g — $U = 146,00$; $Z = -8,682$; $p < 0,001$; для групп 2000g–1500g — $U = 440,00$; $Z = -9,448$; $p < 0,001$; для групп 2500g–1500g — $U = 563,00$; $Z = -6,493$; $p < 0,001$.

Затем нами было проанализировано содержание тромбоцитов периферической крови отдельно для каждого из 12 режимов центрифугирования (рисунок 5).

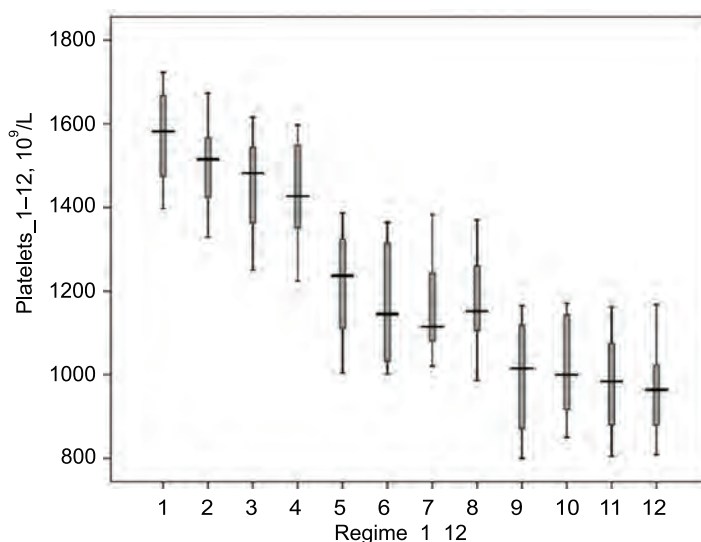


Рисунок 5 — Содержание тромбоцитов периферической крови при использовании режимов центрифугирования 1–12

Использование непараметрического критерия Манна – Уитни для определения статистической достоверности полученных результатов содержания тромбоцитов периферической крови (таблица 2) проводилось последовательно с учетом скорости второго центрифугирования.

Таблица 2 — Значения параметра «количество тромбоцитов» периферической крови при использовании различных режимов центрифугирования

Режим	Первое центрифугирование	Второе центрифугирование	Количество тромбоцитов Me (Q25; Q75), $\times 10^9/л$
1	400g 2 мин	2500g 5 мин	1582 (1429; 1678)
2	400g 3 мин	2500g 4 мин	1515 (1409; 1611)
3	400g 4 мин	2500g 3 мин	1482 (1347; 1583)
4	400g 5 мин	2500g 2 мин	1427 (1292; 1576)
5	400g 2 мин	2000g 5 мин	1237 (1106; 1337)
6	400g 3 мин	2000g 4 мин	1145 (1025; 1318)
7	400g 4 мин	2000g 3 мин	1115 (1070; 1246)
8	400g 5 мин	2000g 2 мин	1152 (1092; 1281)
9	400g 2 мин	1500g 5 мин	1015 (856; 1136)
10	400g 3 мин	1500g 4 мин	1000 (885; 1147)
11	400g 4 мин	1500g 3 мин	984 (811; 1078)
12	400g 5 мин	1500g 2 мин	964 (847; 1043)

Для режимов центрифугирования 1–4 статистически достоверных различий выявлено не было: для режимов 1–2 — $U = 70,00$; $Z = -1,764$; $p = 0,081$; 1–3 — $U = 55,00$; $Z = -2,388$; $p = 0,066$; 1–4 — $U = 48,00$; $Z = -2,678$; $p = 0,07$; 2–3 — $U = 83,50$; $Z = -1,204$; $p = 0,233$; 2–4 — $U = 84,00$; $Z = -1,183$; $p = 0,250$; 3–4 — $U = 105,50$; $Z = -0,291$; $p = 0,775$. Для режимов центрифугирования 5–8 статистически достоверных различий выявлено не было: для режимов 5–6 — $U = 92,55$; $Z = -0,830$; $p = 0,407$; 5–7 — $U = 88,00$; $Z = -1,016$; $p = 0,310$; 5–8 — $U = 91,00$; $Z = -0,892$; $p = 0,372$; 6–7 — $U = 112,00$; $Z = -0,021$; $p = 0,983$; 6–8 — $U = 106,00$; $Z = -0,270$; $p = 0,787$; 7–8 — $U = 104,00$; $Z = -0,353$; $p = 0,724$. Для режимов центрифугирования 9–12 статистически достоверных различий выявлено не было: для

режимов 9–10 — $U = 99,50$; $Z = -0,539$; $p = 0,595$; 9–11 — $U = 95,50$; $Z = -0,705$; $p = 0,486$; 9–12 — $U = 96,00$; $Z = -0,684$; $p = 0,512$; 10–11 — $U = 83,50$; $Z = -1,203$; $p = 0,233$; 10–12 — $U = 78,50$; $Z = -1,410$; $p = 0,161$; 11–12 — $U = 105,00$; $Z = -0,311$; $p = 0,775$.

Затем нами были проанализированы данные по содержанию тромбоцитов периферической крови при использовании режимов центрифугирования с первым центрифугированием 500g. Установлено, что содержание тромбоцитов в периферической крови составило $2028 (1801–2283) \cdot 10^9/\text{л}$, $1720 (1599–1896) \cdot 10^9/\text{л}$ и $1614 (1458–1768) \cdot 10^9/\text{л}$ при использовании при втором центрифугировании режимов 1500g, 2000g и 2500g соответственно (рисунок 6).

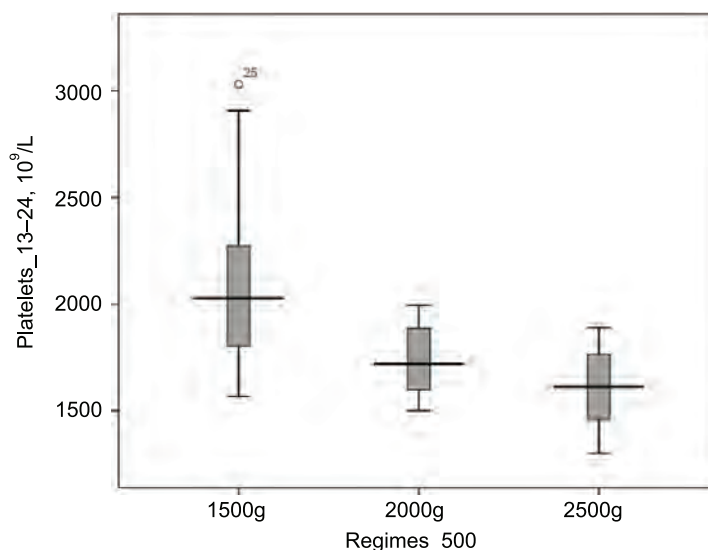


Рисунок 6 — Содержание тромбоцитов периферической крови при использовании режимов первого центрифугирования 500g и второго центрифугирования 1500g, 2000g, 2500g

Использование непараметрического критерия Манна – Уитни показало наличие достоверных статистических различий по исследуемому параметру во всех группах в зависимости от режима второго центрифугирования: для групп 1500g–2000g — $U = 728,00$; $Z = -5,627$; $p < 0,001$; для групп 1500g–2500g — $U = 437,00$; $Z = -7,154$; $p < 0,001$; для групп 2000g–2500g — $U = 1126,50$; $Z = -3,535$; $p < 0,001$.

Затем нами было проанализировано содержание тромбоцитов периферической крови режимов центрифугирования 13–24 (рисунок 7).

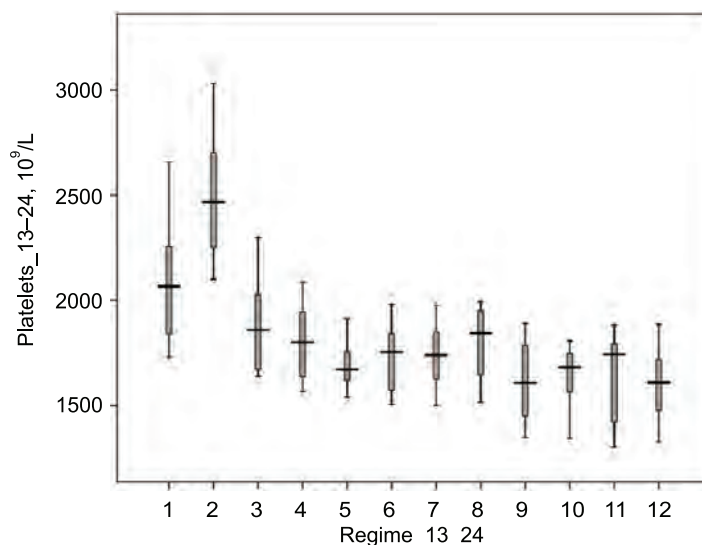


Рисунок 7 — Содержание тромбоцитов периферической крови при использовании режимов центрифугирования 13–24

Использование непараметрического критерия Манна – Уитни для определения статистической достоверности полученных результатов содержания тромбоцитов периферической крови (таблица 3) проводилось последовательно с учетом скорости второго центрифугирования.

Таблица 3 — Значения параметра «количество тромбоцитов» периферической крови при использовании различных режимов центрифугирования

Режим	Первое центрифугирование	Второе центрифугирование	Количество тромбоцитов Ме (Q25; Q75), $\times 10^9/\text{л}$
13	500g 2 мин	1500g 5 мин	2067 (1820; 2255)
14	500g 3 мин	1500g 4 мин	2467 (2210; 2729)
15	500g 4 мин	1500g 3 мин	1859 (1647; 2038)
16	500g 5 мин	1500g 2 мин	1801 (1622; 1995)
17	500g 2 мин	2000g 5 мин	1671 (1611; 1722)
18	500g 3 мин	2000g 4 мин	1755 (1570; 1856)
19	500g 4 мин	2000g 3 мин	1740 (1604; 1861)
20	500g 5 мин	2000g 2 мин	1844 (1614; 1955)
21	500g 2 мин	2500g 5 мин	1608 (1432; 1833)
22	500g 3 мин	2500g 4 мин	1682 (1552; 1749)
23	500g 4 мин	2500g 3 мин	1743 (1387; 1795)
24	500g 5 мин	2500g 2 мин	1610 (1456; 1737)

Для режимов центрифугирования 13–16 статистически достоверных различий не было выявлено: для режимов 13–15 ($U = 65,00$; $Z = -1,972$; $p = 0,051$) и 15–16 ($U = 83,00$; $Z = -1,224$; $p = 0,233$), тогда как для режимов 13–14 ($U = 42,00$; $Z = -2,925$; $p = 0,003$), 13–16 ($U = 43,50$; $Z = -2,863$; $p = 0,003$), 14–15 ($U = 12,00$; $Z = -4,171$; $p < 0,001$), 14–16 ($U = 5,50$; $Z = -4,666$; $p < 0,001$) статистические различия были достоверными. Для режимов центрифугирования 17–20 статистически достоверных различий выявлено не было: для режимов 17–18 — $U = 112,50$; $Z = -0,000$; $p = 1,000$; 17–19 — $U = 95,50$ $Z = -0,705$ $p = 0,481$; 21–24 — $U = 76,00$; $Z = -1,514$; $p = 0,130$; 18–19 — $U = 102,00$; $Z = -0,436$; $p = 0,663$; 18–20 — $U = 78,50$; $Z = -1,410$; $p = 0,158$; 19–20 — $U = 89,00$; $Z = -0,975$; $p = 0,330$. Для режимов центрифугирования 21–24 статистически достоверных различий также выявлено не было: для режимов 21–22 — $U = 109,00$; $Z = -0,145$; $p = 0,902$; 17–19 — $U = 112,00$; $Z = -0,021$; $p = 0,983$; 17–20 — $U = 104,00$; $Z = -0,353$; $p = 0,724$; 18–19 — $U = 108,00$; $Z = -0,187$; $p = 0,852$; 18–20 — $U = 95,00$; $Z = -0,726$; $p = 0,468$; 19–20 — $U = 101,00$; $Z = -0,477$; $p = 0,633$.

Заключение. На основании тестирования 24 различных режимов центрифугирования (первичное центрифугирование 400g и 500g, второе центрифугирование — 1500g, 2000g, 2500g, время центрифугирования 2–5 мин) установлено, что наиболее оптимальным режимом получения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, для внутрисуставного применения у пациентов с артропатиями коленного сустава, заключающимся в двух последовательных режимах центрифугирования образцов периферической крови — 500g 4 мин + 1500g 3 мин — позволяющий получить препарат, конечное содержание тромбоцитов при использовании которого составляет 1859 (1647–2038) $\cdot 10^9/\text{л}$. В связи с тем, что содержание тромбоцитов более 2000 $\cdot 10^9/\text{л}$ является избыточным и может вызвать ингибирующий эффект процесса регенерации тканей или пролиферации клеток, для внутрисуставного введения не рекомендуется использовать аутоплазму с содержанием в ней тромбоцитов выше указанного значения.

Литература

1. Pietrzak, W. S. Platelet rich plasma: biology and new technology / W. S. Pietrzak, B. L. Eppley // J. of Craniofacial Surgery. — 2005. — Vol. 16 (6). — P. 1043–1054. DOI:10.1097/01.scs.0000186454.07097.bf.
2. Ehrenfest, D. M. D. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF) / D. M. D. Ehrenfest, L. Rasmusson, T. Albrektsson // Trends in Biotechnology. — 2009. — Vol. 27 (3). — P. 158–167. DOI:10.1016/j.tibtech.2008.11.009.
3. Stiles, C. D. The molecular biology of platelet-derived growth factor / C. D. Stiles // Cell. — 1983. — Vol. 33 (3). — P. 653–655. DOI:10.1016/0092-8674(83)90008-9.
4. Alsousou, J. The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration / J. Alsousou, A. Ali, K. Willett, P. Harrison // Platelets. — 2013. — Vol. 24 (3). — P. 173–182. DOI:10.3109/09537104.2012.684730.



5. Liddle, A. Platelet-rich plasma in the treatment of patellar tendinopathy: A Systematic Review / A. Liddle, E. C. Rodríguez-Merchán // The American J. of Sports Medicine. — 2014. — Vol. 43 (10). — P. 2583–2590. DOI:10.1177/0363546514560726.

6. Platelet-rich plasma: quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups / J. W. Lee [et al.] // Archives of Plastic Surgery. — 2013. — Vol. 40 (5). — P. 530–535. DOI:10.5999/aps.2013.40.5.530

7. Наследов, А. Д. SPSS 15: профессиональный статистический анализ данных / А. Д. Наследов. — СПб.: Питер, 2008. — 416 с.

Development and approbation of autoplasm plate-enriched obtaining method for intra-article application in patients with knee joint arthropathies

Poluyan O. S.¹, Kostiuk S. A.¹, Benko A. N.¹, Gerasimenko M. A.²

*¹State Educational Institution «Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education»,
Minsk, Republic of Belarus;*

*²State Institution «Republican Scientific and Practical Center of Traumatology
and Orthopedics», Minsk, Republic of Belarus*

The production and clinical use of autoplasm enriched with platelet growth factors is a promising area of current traumatology with the help of cellular technologies, the use of which will allow to carry out the pathogenetically substantiated therapy by stimulating regenerative and reparative processes in the joint cavity. In this article, the authors analyzed the platelet count data depending on the selected speed and time of centrifugation of primary peripheral blood samples.

Keywords: autoplasm, platelets, peripheral blood, centrifugation.