

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/367506108>

# Morphofunctional state of platelets in their concentrates depending on storage time

Article in *Kazan medical journal* · January 2023

DOI: 10.17816/KMJ106739

CITATIONS

0

READS

53

5 authors, including:



[Alina Khabirova](#)

Kazan (Volga Region) Federal University

9 PUBLICATIONS 30 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Natalia G. Evtugina](#)

Kazan (Volga Region) Federal University

19 PUBLICATIONS 86 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Rustem I Litvinov](#)

University of Pennsylvania

305 PUBLICATIONS 7,380 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

## Морфофункциональное состояние тромбоцитов в их концентратах в зависимости от срока хранения

А.И. Хабирова<sup>1\*</sup>, Л.С. Фатхуллина<sup>2</sup>, И.А. Андрианова<sup>1</sup>,  
Н.Г. Евтюгина<sup>1</sup>, Р.И. Литвинов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт фундаментальной медицины и биологии Казанского  
(Приволжского) федерального университета, г. Казань, Россия;

<sup>2</sup>Межрегиональный клинико-диагностический центр,  
г. Казань, Россия

### Реферат

**Актуальность.** Оценка функционального состояния тромбоцитов в составе концентратов необходима для совершенствования методики их получения, оптимизации условий и сроков хранения, повышения лечебной эффективности, а также снижения риска осложнений трансфузии.

**Цель.** Комплексное изучение морфофункционального состояния тромбоцитов в процессе хранения их концентратов.

**Материал и методы исследования.** Исследовали 202 образца аферезных концентратов тромбоцитов человека на сроках хранения до 1–7 дней при температуре 22–24 °С. Функциональное состояние тромбоцитов оценивали с помощью проточной цитометрии по экспрессии Р-селектина, активного интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  и фосфатидилсерин до и после биохимической стимуляции. Кроме того, изучали митохондриальный потенциал тромбоцитов, концентрацию внутриклеточного аденозинтрифосфата, контрактильные свойства, индуцированную агрегацию, а также морфологические характеристики по данным сканирующей электронной микроскопии. Статистический анализ выполняли методами дисперсионного анализа (ANOVA или Краскела–Уоллиса).

**Результаты.** В неактивированных тромбоцитах в процессе хранения спонтанная экспрессия Р-селектина возрастала в среднем в 7 раз, а фосфатидилсерин — в 3 раза. Индуцированная экспрессия Р-селектина, интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  и фосфатидилсерин была самой высокой в день получения концентрата и постепенно снижалась в процессе хранения до 1/2 исходного уровня. Агрегационная активность тромбоцитов в ответ на стимуляцию коллагеном прогрессивно снижалась в среднем в 100 раз, в ответ на пептид TRAP — в 1,5 раза. В отличие от экспрессии маркеров активации, способность тромбоцитов сжимать сгустки плазмы в большинстве образцов менялась незначительно, в пределах нескольких процентов; в единичных образцах сократительная функция к 4–7 дням хранения падала до нуля, что сочеталось с гиперактивацией и истощением тромбоцитов. Митохондриальный потенциал тромбоцитов и содержание аденозинтрифосфата были относительно постоянными. Морфологически преобладали дисковидные тромбоциты, однако, начиная с 1-го дня хранения, накапливались веретенообразные, а с 3-го дня — сферические формы и микроагрегаты тромбоцитов.

**Вывод.** Тромбоциты в составе концентратов изначально обладают высоким функциональным потенциалом, который постепенно снижается вследствие прогрессирующей спонтанной активации при одновременном снижении реактивности и изменениях структуры.

**Ключевые слова:** концентраты тромбоцитов, функциональная активность тромбоцитов, Р-селектин, фосфатидилсерин, интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ , энергетический потенциал.

**Для цитирования:** Хабирова А.И., Фатхуллина Л.С., Андрианова И.А., Евтюгина Н.Г., Литвинов Р.И. Морфофункциональное состояние тромбоцитов в их концентратах в зависимости от срока хранения. *Казанский мед. ж.* 2023. DOI: 10.17816/KMJ106739.

\*Для переписки: alina.urussu.95@gmail.com

Поступила 05.05.2022; принята в печать 22.08.2022;

опубликована: 27.01.2023.

© Эко-Вектор, 2023. Все права защищены.

\*For correspondence: alina.urussu.95@gmail.com

Submitted 05.05.2022; accepted 22.08.2022;

published: 27.01.2023.

© Eco-Vector, 2023. All rights reserved.

ORIGINAL STUDY | DOI: 10.17816/KMJ106739

## Morphofunctional state of platelets in their concentrates depending on storage time

A.I. Khabirova<sup>1\*</sup>, L.S. Fatkhullina<sup>2</sup>, I.A. Andrianova<sup>1</sup>, N.G. Evtugina<sup>1</sup>, R.I. Litvinov<sup>1</sup><sup>1</sup>Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan, Russia;<sup>2</sup>Interregional Clinical Diagnostic Center, Kazan, Russia

### Abstract

**Background.** Evaluation of the functional state of platelets in the composition of concentrates is necessary to improve the methods of their production, optimize storage conditions and terms, increase therapeutic efficacy, and reduce the risk of transfusion complications.

**Aim.** Comprehensive study of the morphofunctional state of platelets during the storage of their concentrates.

**Material and methods.** 202 samples of human platelet apheresis concentrates were studied for storage periods of up to 1–7 days at a temperature of 22–24 °C. The functional state of platelets was assessed using flow cytometry for the expression of P-selectin, active  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 integrin, and phosphatidylserines before and after biochemical stimulation. In addition, the mitochondrial potential of platelets, the concentration of intracellular adenosine triphosphate, contractile properties, induced aggregation, and morphological characteristics were studied according to scanning electron microscopy. Statistical analysis was performed by analysis of variance (ANOVA or Kruskal–Wallis).

**Results.** In non-activated platelets during storage, the spontaneous expression of P-selectin increased by an average of 7 times, and phosphatidylserines — by 3 times. The induced expression of P-selectin, integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 and phosphatidylserines was the highest on the day of receiving the concentrate and gradually decreased during storage to 1/2 of the initial level. Platelet aggregation activity in response to collagen stimulation progressively decreased by an average of 100 times, in response to the TRAP peptide — by 1.5 times. In contrast to the expression of activation markers, the ability of platelets to compress plasma clots in most samples changed slightly, within a few percent; in single samples, the contractile function dropped to zero by 4–7 days of storage, which was combined with platelet hyperactivation and depletion. The mitochondrial potential of platelets and the content of adenosine triphosphate were relatively constant. Morphologically, discoid platelets predominated, however, starting from the 1st day of storage, spindle-shaped platelets, and from the 3rd day — spherical forms and microaggregates of platelets accumulated.

**Conclusion.** Platelets in the composition of concentrates initially have a high functional potential, which gradually decreases due to progressive spontaneous activation with a simultaneous decrease in reactivity and structural changes.

**Keywords:** platelet concentrates, platelet functional activity, P-selectin, phosphatidylserine,  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 integrin, energy potential.

**For citation:** Khabirova AI, Fatkhullina LS, Andrianova IA, Evtugina NG, Litvinov RI. Morphofunctional state of platelets in their concentrates depending on storage time. *Kazan Medical Journal*. 2023. DOI: 10.17816/KMJ106739.

### Актуальность

Концентраты тромбоцитов играют важную роль в трансфузионной медицине как гемостатическое средство, причём за последнее десятилетие спрос на концентраты тромбоцитов увеличился как в России, так и во всём мире [1, 2]. Возросшая потребность в концентратах тромбоцитов в значительной степени связана с увеличением частоты онкогематологических заболеваний, осложняющихся геморрагическим синдромом и требующих частых трансфузий тромбоцитарной массы [1].

К сожалению, наряду с лечебной эффективностью, при переливании тромбоцитов есть риск посттрансфузионных реакций, связанных с повреждением тромбоцитов при хранении и бактериальным заражением [3]. В связи с этим необходимость изучения сохранности тромбоцитов в процессе их заготовки и хра-

нения имеет возрастающее значение. На качество тромбоцитарных концентратов могут влиять различные факторы: методы получения, особенности различных фракционных аппаратов, добавочных растворов, материалов для хранения, использование различных технологий инактивации патогенов и нейтрализации донорских лейкоцитов, температура хранения и др. Все эти воздействия могут приводить к выраженным изменениям функциональных и морфологических характеристик тромбоцитов и, в конечном счёте, — к различной эффективности и безопасности тромбоцитарных концентратов [3–5].

Тромбоциты — безъядерные форменные элементы крови, которые образуются из мегакариоцитов и циркулируют в кровотоке 7–10 сут, после чего подвергаются элиминации и разрушению в селезёнке. В крови взрослого человека

в норме от  $150 \times 10^9/\text{л}$  до  $400 \times 10^9/\text{л}$  тромбоцитов. Они играют ключевую роль в реакциях гемостаза благодаря их адгезии к субэндотелиальным структурам в участке повреждения сосуда, образованию агрегатов, секреции биоактивных веществ и прокоагулянтной активности клеточной мембраны, на которой собираются активные комплексы факторов свёртывания крови [6]. В последнее время к важным гемостатическим свойствам тромбоцитов относят их способность вызывать сжатие (ретракцию, или контракцию) сгустков крови [7].

Патология тромбоцитов часто проявляется уменьшением количества тромбоцитов в крови (тромбоцитопенией — уровень тромбоцитов в крови  $\leq 100 \times 10^9/\text{л}$ ) и/или их качественными дефектами (тромбоцитопатией) и, как правило, сопровождается риском кровоточивости [8]. Госпитализация необходима при уровне тромбоцитов ниже  $20 \times 10^9/\text{л}$ , переливание концентратов тромбоцитов (тромбомассы) обычно назначают при содержании тромбоцитов ниже  $10 \times 10^9/\text{л}$ , а при кровотечении — ниже  $50 \times 10^9/\text{л}$  [9].

Аутологичный концентрат тромбоцитов может быть использован в сердечно-сосудистой хирургии при операциях, которые часто осложняются тромбоцитопенией [10]. Аллогенные концентраты тромбоцитов применяют в гематологии, онкологии и хирургии, а также в других областях медицины [11].

Эффективность применения концентратов тромбоцитов для профилактики и лечения кровотечений зависит от методов их получения, сроков и условий хранения [12]. Есть два основных способа получения донорских тромбоцитов: метод цитафереза с использованием специальных сепараторов крови и центрифугирование стабилизированной цельной крови. Последний способ подразделяется на выделение тромбоцитов из надосадочной жидкости, то есть обогащённой тромбоцитами плазмы, или из лейкотромбослоя, который образуется при центрифугировании крови между осадком эритроцитов и плазмой [10].

Изолированные тромбоциты суспендируют или в нативной плазме крови, или в плазме, разбавленной солевым раствором, до концентрации клеток не менее  $1-2 \times 10^6/\text{мл}$  [13]. После приготовления концентраты тромбоцитов, как правило, хранят при температуре  $20-24^\circ\text{C}$  при постоянном покачивании в ёмкостях из специального материала, который обеспечивает газообмен с атмосферой [12–15].

Концентраты тромбоцитов должны отвечать следующим требованиям: не иметь видимых агрегатов, водородный показатель (рН) не

менее 6,4, содержание тромбоцитов не менее  $1-2 \times 10^6/\text{мл}$ , целостность контейнера для хранения не должна быть нарушена. Срок годности концентратов тромбоцитов варьирует от 3 до 7 дней [10]. Комплексная оценка функционального состояния тромбоцитов в составе концентратов может помочь усовершенствовать методику их получения, условия и сроки хранения, увеличить их профилактическую и лечебную эффективность, а также снизить риск побочных эффектов трансфузии.

### Цель

Цель данного исследования — комплексное изучение динамики морфофункционального состояния тромбоцитов в процессе хранения на сроках до 7 дней. Исследование включало оценку экспрессии молекулярных маркёров активации тромбоцитов (Р-селектина, фосфатидилсерина, активного интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta_3$ ), метаболической активности [митохондриальный потенциал, уровень внутриклеточного аденозинтрифосфата (АТФ)], сократительных свойств тромбоцитов, способности к агрегации, а также морфологических и морфометрических характеристик.

### Материал и методы исследования

*Получение и общая характеристика концентратов тромбоцитов.* Всего исследовано 202 образца концентратов, полученных методом афереза из крови доноров старше 18 лет, давших письменное согласие на взятие крови и прошедших предварительное медицинское обследование в соответствии с приказом Минздрава России №1166н от 28 октября 2020 г. «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) её компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) её компонентов» [16].

Концентраты тромбоцитов получали в отделении заготовки крови и её компонентов Межрегионального клинико-диагностического центра г. Казани, используя сепаратор клеток крови Trima Accel (Caridian BCT, США), в соответствии с инструкцией производителя.

Концентраты тромбоцитов хранили до 7 дней при температуре  $20-24^\circ\text{C}$  в добавочном растворе SSP+ (MascoPharma, Франция) в соответствии с нормативными документами [13]. Конечный объём концентрата тромбоцитов составлял не более 200 мл с концентрацией не менее  $10^6/\text{мл}$ .

*Получение бестромбоцитной плазмы.* Бестромбоцитная плазма была получена путём центрифугирования цитратной крови при 200 g 10 мин с последующим отбором надосадка, содержащего тромбоциты, и его повторным осаждением при 10 000 g 10 мин. Бестромбоцитную плазму использовали для суспендирования концентратов тромбоцитов и изучения их агрегационной и контрактильной активности.

*Проточная цитометрия тромбоцитов.* Для оценки функционального состояния и реактивности тромбоцитов определяли фоновую и индуцированную экспрессию Р-селектина (CD62p) и активного интегрина  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 методом проточной цитометрии. Исследование проводили до и после активации тромбоцитов под действием гексапептида TRAP-6. Кроме того, определяли экспрессию фосфатидилсерина до и после активации тромбоцитов кальциевым ионофором А23187, а также трансмембранный потенциал митохондрий в покое тромбоцитах.

Для оценки экспрессии Р-селектина к образцам добавляли моноклональные антитела против CD62p, меченые фикоэритрином (BD Biosciences, США). Для анализа экспрессии активного интегрина  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 к образцам добавляли антитела PAC-1, меченые флуоресцеин-5-изотиоцианатом (BD Biosciences, США).

Для оценки экспрессии фосфатидилсерина к образцам тромбоцитов добавляли аннексин V, меченый флуоресцеин-5-изотиоцианатом (Abcam, США).

Измерение митохондриального потенциала тромбоцитов ( $\Delta\Psi_m$ ) проводили с помощью  $\Delta\Psi_m$ -чувствительного флуоресцентного красителя Mitotracker Deep Red (Invitrogen, США).

Измерения выполняли на проточном цитометре FACS Calibur, оснащённом программой BD CellQuest™ (BD Biosciences, США). Анализ сигналов проводили с помощью программы FlowJo VХ.

*Агрегация тромбоцитов.* Агрегацию тромбоцитов оценивали с помощью оптического агрегометра Viola 220LA (Россия). В качестве индукторов агрегации использовали коллаген (Технология Стандарт, Россия) и активирующий пептид TRAP-6 (Sigma-Aldrich, США).

*Сократительная (контрактильная) функция тромбоцитов.* Сократительную активность тромбоцитов изучали с помощью оптического прибора «Регистратор тромбодинамики» (ООО «ГемаКор», Россия). Образцы концентратов тромбоцитов разводили объединённой бестромбоцитной плазмой до концентрации  $5 \times 10^5$ /мкл, после чего добавляли хлорид каль-

ция и тромбин (Sigma-Aldrich, США). Активированную смесь плазмы и тромбоцитов переносили в измерительную кювету для свёртывания и последующей контракции сгустка. Размер сгустка фиксировали цифровой фотокамерой в рассеянном свете каждые 15 с в течение 20 мин при 37 °С. По серийным изображениям строили кинетическую кривую контракции сгустка и определяли степень контракции.

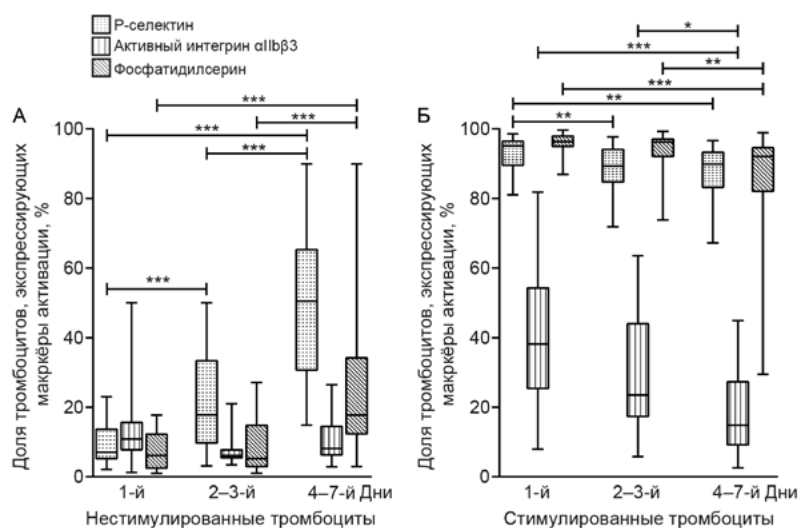
*Определение внутриклеточного АТФ в концентратах тромбоцитов.* Лизаты тромбоцитов центрифугировали при 2000 g в течение 10 мин для удаления клеточного дебриса. Концентрацию АТФ в супернатанте лизатов измеряли с использованием коммерческого набора для биолюминесцентного анализа (Sigma-Aldrich, США) на планшетном фотометре Infinity 200 PRO (Tecan, Швейцария). Концентрацию АТФ нормализовали по содержанию белка, которое определяли с помощью набора Pierce BCA Protein Assay Kit (ThermoFisher Scientific, США).

*Сканирующая электронная микроскопия тромбоцитов.* Образцы концентратов тромбоцитов фиксировали глутаровым альдегидом и осаждали центрифугированием на поликарбонатном фильтре с размером пор 0,4 мкм, промывали какодилатным буфером, обезвоживали этанолом в восходящих концентрациях, инкубировали с гексаметилдисилазаном и высушивали. Образцы покрывали золотом и палладием с последующей визуализацией на сканирующем электронном микроскопе Quanta 250FEG (FEI, США).

*Статистический анализ.* Статистический анализ выполняли с использованием программного пакета GraphPad Prism 8.0.1. После оценки нормальности данных для многофакторного анализа непараметрических данных применяли критерий Краскела–Уоллиса с последующим попарным сравнением тестом Данна. Для множественных параметрических данных использовали односторонний дисперсионный анализ (ANOVA-тест), с последующим тестом Тьюки для парных сравнений. Уровень статистической значимости 95% ( $p < 0,05$ ).

## Результаты

*Экспрессия Р-селектина как маркера секреторной активности тромбоцитов.* Для оценки функционального состояния тромбоцитов в концентратах на разных сроках хранения исследовали спонтанную и индуцированную экспрессию Р-селектина (CD62p) (рис. 1, А). Наличие этого белка на поверхности тромбоцитов (определяемое по связыванию меченых моноклональных анти-CD62p антител) указы-



**Рис. 1.** Спонтанная (А) и индуцированная (Б) экспрессия маркёров активации в тромбоцитах на разных сроках хранения концентратов тромбоцитов. Число образцов в дни исследования составило для Р-селектина  $n=33-49$ ; для активного интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$   $n=23-36$ ; для фосфатидилсерина  $n=25-37$ . Результаты представлены как медиана и интерквартильный интервал; \*\*\* $p < 0,0001$ , \*\* $p < 0,001$ ; \* $p < 0,05$ ; тест Краскела–Уоллиса с последующим тестом Данна для парных сравнений

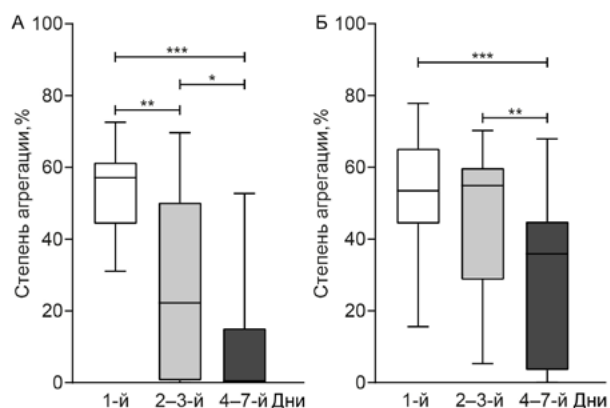
вает на секрецию содержимого  $\alpha$ -гранул, которая сопровождается активацией тромбоцитов [6].

На рис. 1, А показано, что спонтанная экспрессия Р-селектина в покое тромбоцитах возрастала в процессе хранения без всякого внешнего воздействия. Если в день получения концентратов медианная доля тромбоцитов, экспрессирующих Р-селектин, составляла 7% (IQR 5–14%), то на 2–3-й дни хранения это значение возросло до 18% (IQR 10–34%,  $p=0,0001$ ), а на 4–7-й показатель вырос до 51% (IQR 31–66%,  $p < 0,0001$  по сравнению с 1-м и 2–3-м днями). Эти результаты указывают на прогрессирующую спонтанную активацию тромбоцитов в процессе хранения концентратов.

Способность тромбоцитов отвечать на стимуляцию исследовали по уровню экспрессии Р-селектина до и после воздействия пептида (TRAP), имитирующего действие тромбина на PAR1-рецепторы. Как видно на рис. 1, Б, по сравнению с покое тромбоцитами TRAP вызывал повышенную секрецию Р-селектина в тромбоцитах на всех сроках наблюдения. Индуцированная экспрессия Р-селектина была самой высокой в день получения концентрата тромбоцитов и составляла 95% (IQR 89–97%), затем достоверно снижалась на 2–3-й дни хранения (89%; IQR 84–94%,  $p=0,0041$ ) и 4–7-й дни хранения (89%; IQR 83–94%,  $p=0,0025$  по сравнению с днём заготовки концентратов). Таким образом, тромбоциты в концентратах сохраняли способность к активации в ответ на биохимический стимул, однако реактивность тромбоцитов снижалась со временем.

*Экспрессия активного интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  как интегрального маркёра функционального состояния тромбоцитов.* Интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  (CD41/CD61, GPIIb/IIIa) — адгезивный белок, который присутствует в плазматической мембране покоящихся тромбоцитов в неактивной форме. При активации тромбоцитов интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  переходит в активное состояние, приобретая способность связываться с внеклеточными лигандами (фибриногеном, фибрином, фактором Виллебранда) и опосредовать адгезию и агрегацию тромбоцитов. Кроме того, при активации тромбоцитов происходит дополнительная секреция  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  из  $\alpha$ -гранул, следовательно, уровень активного интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  на поверхности тромбоцитов служит важным интегральным показателем их функционального состояния. В данном исследовании экспрессию  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  определяли методом проточной цитометрии по связыванию меченых моноклональных антител PAC-1, которые избирательно взаимодействуют с активной формой  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ .

На рис. 1 представлена спонтанная и TRAP-индуцированная экспрессия активного интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  в тромбоцитах на разных сроках хранения концентратов тромбоцитов. Уровень экспрессии активного интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  в покое (неактивированных) тромбоцитах был низким и постоянным на всех изученных сроках хранения (изменения в динамике недостоверны,  $p=0,109$ ; см. рис. 1, А). По сравнению с покое тромбоцитами TRAP вызывал повышенную экспрессию



**Рис. 2.** Степень агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном (А) или пептидом TRAP-6 (Б), на разных сроках хранения концентратов тромбоцитов. При агрегации, вызванной коллагеном, число образцов в дни исследования составило  $n=19-29$ ; при агрегации, вызванной TRAP,  $n=26-36$ . Результаты представлены как медиана и интерквартильный интервал; \*\*\* $p < 0,0001$ , \*\* $p < 0,001$ , \* $p < 0,05$ ; тест Краскела–Уоллиса с последующим тестом Данна для парных сравнений

активного  $\alpha IIb\beta 3$ , которая прогрессивно снижалась в процессе хранения концентратов тромбоцитов (см. рис. 1, Б).

Если в день получения концентратов медианная доля активированных тромбоцитов, реагирующих с PAC-1, составляла 38% (IQR 25–55%), то на 2–3-й дни хранения она снижалась до 24% (IQR 17–44%,  $p=0,09$ ), а на 4–7-й дни падала до 15% (IQR 9–28%,  $p < 0,0001$  по сравнению с 1-м днём и  $p=0,039$  по сравнению с 2–3-м днями). Таким образом, как и по данным исследования Р-селектина, тромбоциты в концентратах сохраняли способность отвечать на биохимическую стимуляцию экспрессией активированного интегрин, однако эта способность прогрессивно снижалась по мере хранения. Важно отметить, что к 4–7-му дням хранения уровень экспрессии активного  $\alpha IIb\beta 3$  в ответ на стимул снижался практически до уровня покоящихся (неактивированных) тромбоцитов, что указывает на их рефрактерность.

**Агрегация тромбоцитов.** Образование тромбоцитарных агрегатов в месте повреждения сосуда — важный компонент гемостаза. Агрегация тромбоцитов обусловлена тем, что в ответ на стимуляцию тромбоцитов химическими индукторами и включение внутриклеточных сигнальных систем молекулы интегрин  $\alpha IIb\beta 3$  на наружной мембране активируются и взаимодействуют с растворённым в плазме крови белком фибриногеном, который «склеивает» тромбоциты между собой [6]. *In vitro* агрегацию суспендированных тромбоцитов в ответ на стимуляцию можно регистрировать оптически по

нарастанию светопропускания, а степень агрегации используют для характеристики функционального состояния тромбоцитов.

Агрегация тромбоцитов в концентратах, индуцированная коллагеном и TRAP, представлена на рис. 2. Степень агрегации в ответ на растворимый коллаген была наибольшей в день получения концентратов и составляла 57% (медиана, IQR 44–61%). На 2–3-й дни хранения медианные значения степени агрегации снижались до 22% (IQR 1–50%,  $p < 0,002$ ), а на 4–7-й дни хранения — до 0,5% (IQR 0,1–15%;  $p=0,04$  по сравнению с 2–3-м днями и  $p < 0,0001$  по сравнению с днём получения). Таким образом, по мере хранения концентратов агрегационная активность тромбоцитов в ответ на коллаген прогрессивно снижалась вплоть до полного исчезновения агрегации во многих образцах.

Тромбоциты, активированные пептидом TRAP, по сравнению с коллагеном имели значительно более стойкую способность к агрегации. В день получения концентратов медианная степень агрегации тромбоцитов составляла 53% (медиана, IQR 44–65%), причём на 2–3-й дни она практически не менялась (55%; IQR 29–60%;  $p=0,17$ ). Степень агрегации тромбоцитов существенно снижалась до 36% (IQR 3–45%) только на 4–7-й дни ( $p < 0,0001$  по сравнению с днём заготовки концентратов и  $p=0,01$  по сравнению с 2–3-м днями хранения).

Результаты показывают, что тромбоциты в свежеполученных концентратах способны к агрегации, индуцированной коллагеном и TRAP, однако степень агрегации прогрессивно уменьшалась по мере хранения. При этом способность тромбоцитов к агрегации, вызванной через тромбиновые PAR1-рецепторы, чувствительные к TRAP, была значительно более устойчивой к хранению, чем при активации тромбоцитов через коллагеновые рецепторы GPVI и  $\alpha 2\beta 1$ .

**Экспрессия фосфатидилсеринов как показатель прокоагулянтных свойств тромбоцитов.** В покоящихся тромбоцитах фосфатидилсерины, как и большинство отрицательно заряженных фосфолипидов, находятся во внутреннем листке плазматической мембраны. В активированных тромбоцитах происходит экстернализация фосфатидилсеринов на поверхность плазматической мембраны, что придаёт ей прокоагулянтные свойства в качестве матрицы для сборки ферментных комплексов гемокоагуляции (внутренней теназы и протромбиназы) [6]. *In vitro* экспрессия фосфатидилсеринов, определяемая проточной цитометрией по способности связывать меченый белок аннексин V,

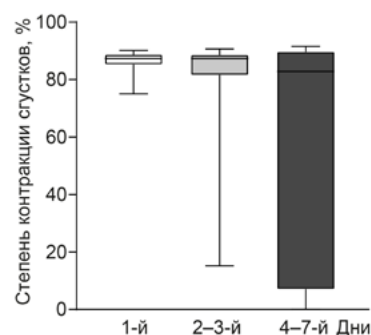
может служить маркёром активации тромбоцитов и показателем их прокоагулянтной активности.

На рис. 1 представлена спонтанная и индуцированная экспрессия фосфатидилсеринов на поверхности тромбоцитов на разных сроках хранения концентратов тромбоцитов. В день получения концентратов медианная доля покоящихся (неактивированных) тромбоцитов, экспрессирующих фосфатидилсерины, составляла 6% (IQR 2–12%), на 2–3-й дни это значение не изменилось (5%; IQR 3–15%,  $p > 0,9$ ), а на 4–7-й дни уровень экспрессии фосфатидилсеринов возрос до 18% (IQR 12–34%;  $p < 0,0001$  по сравнению с 2–3-м днями хранения, а также по сравнению с днём заготовки концентратов) (см. рис. 1, А).

В качестве положительного контроля исследовали те же концентраты тромбоцитов после обработки кальциевым ионофором A23187, который является сильным индуктором поверхностной экспрессии фосфатидилсеринов. В ответ на действие ионофора происходит выраженная экстернализация фосфатидилсеринов, которая снижается по мере хранения концентратов тромбоцитов (см. рис. 1, Б). В день получения концентратов медианная доля тромбоцитов, экспрессирующих фосфатидилсерины в ответ на стимуляцию ионофором, была очень высокой (96%, IQR 95–98%) и сохранялась на 2–3-й дни хранения (96%, IQR 92–97%,  $p = 0,6$ ), после чего эта величина умеренно, но достоверно снижалась на 4–7-й дни хранения (92%, IQR 82–95%,  $p = 0,0001$  по сравнению с 1-м днём,  $p = 0,005$  по сравнению с 2–3-м днями).

Таким образом, исходный фоновый уровень активации и прокоагулянтной активности тромбоцитов в составе концентратов, по данным экспрессии фосфатидилсеринов, минимален, однако нарастает по мере хранения. Вместе с тем, на всех изученных сроках хранения тромбоциты в составе концентратов сохраняют высокий прокоагулянтный потенциал и способность экспрессировать фосфатидилсерины в ответ на стимуляцию, сопровождающуюся увеличением внутриклеточной концентрации  $Ca^{2+}$ .

*Контракция (ретракция) фибриновых сгустков как показатель сократительной функции тромбоцитов.* Контракция, или ретракция, — процесс сжатия сгустка под действием активированных тромбоцитов, поэтому данное явление можно использовать как тест для характеристики их функционального состояния. В качестве показателя сократительной способности тромбоцитов использовали степень кон-



**Рис. 3.** Сократительная функция тромбоцитов на разных сроках хранения концентратов тромбоцитов, определённая по способности вызывать сокращение (контракцию) сгустков в плазме крови. Число образцов в дни исследования составило  $n = 12–36$ . Результаты представлены как медиана и интерквартильный интервал

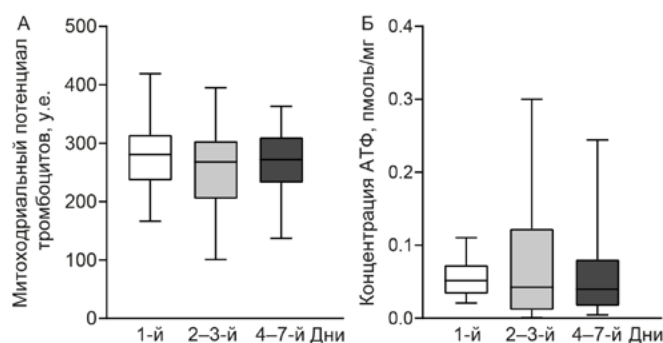
тракции сгустков, образованных добавлением тромбина к объединённой бестромбоцитной цитратной плазме крови, смешанной с концентратами тромбоцитов до одинаковой конечной концентрации клеток ( $5 \times 10^5/\text{мкл}$ ), близкой к физиологической.

По данным, представленным на рис. 3, в подавляющем большинстве образцов степень контракции сгустков на разных сроках хранения концентратов тромбоцитов менялась незначительно, без достоверных различий ( $p = 0,2$ ). Так, медианная степень контракции в день получения концентратов составляла 87% (IQR 85–89%), на 2–3-й дни — 87% (IQR 82–89%,  $p > 0,9$ ), а на 4–7-й дни — 82% (IQR 7–90%,  $p = 0,3$  по сравнению с днём получения,  $p = 0,5$  по сравнению с 2–3-м днём). Вместе с тем, в единичных образцах сократительная функция тромбоцитов на более поздних сроках хранения падала до нуля (см. рис. 3), что указывает на наличие отдельных образцов концентратов тромбоцитов, менее устойчивых к хранению, чем их основная масса. Другие параметры кинетики контракции сгустков (лаг-период, площадь под кинетической кривой и средняя скорость образования сгустка) отражали ту же закономерность (данные не показаны).

При анализе оказалось, что в подгруппе концентратов тромбоцитов с наименьшей способностью к контракции (0–59%) был наиболее высокий фоновый уровень экспрессии Р-селектина (77%; IQR 60–83%), а в подгруппе с наибольшей степенью контракции (60–89%) — наоборот, низкий фоновый уровень экспрессии Р-селектина (11%; IQR 9–26%,  $p < 0,0001$ ), что указывает на выраженную спонтанную активацию и возможное вторичное истощение тромбоцитов в этих образцах.

*Энергетический потенциал тромбоцитов.* Трансмембранный потенциал митохондрий





**Рис. 4.** А. Митохондриальный потенциал неактивированных тромбоцитов на разных сроках хранения концентратов тромбоцитов. Число образцов в дни исследования составило n=31–41. Б. Содержание внутриклеточного аденозинтрифосфата (АТФ) в концентратах тромбоцитов на разных сроках хранения. Концентрация АТФ нормализована на единицу массы белка в тромбоцитарных лизатах. Число образцов в дни исследования составило n=9–20. Результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения (А) и как медиана и интерквартильный интервал (Б)

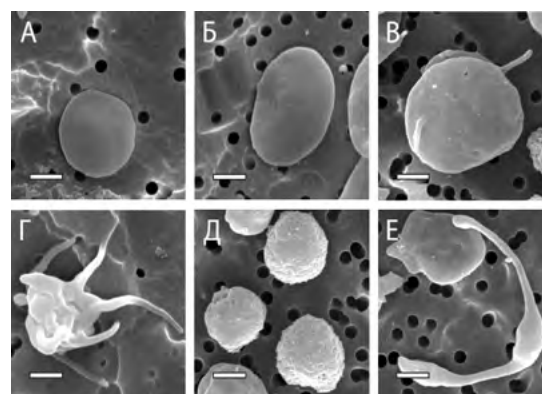
( $\Delta\Psi_m$ ) служит важным параметром энергетического потенциала клеток. Его величину оценивали методом проточной цитометрии по интенсивности флуоресценции  $\Delta\Psi_m$ -чувствительного маркера. Как показано на рис. 4, А, митохондриальный потенциал тромбоцитов в концентратах был достаточно высоким и не менялся в процессе наблюдения ( $p=0,3$ ): в день заготовки медианное значение составляло  $282\pm 65$  у.е., на 2–3-й дни хранения —  $257\pm 74$  у.е., на 4–7-й дни хранения —  $264\pm 56$  у.е.

Достоверных изменений концентрации АТФ в концентратах тромбоцитов в зависимости от срока хранения также не обнаружено (рис. 4, Б). В день получения концентратов медианное значение уровня АТФ составляло 0,05 пмоль на 1 мг белка (IQR 0,03–0,07; n=9), на 2–3-й дни — 0,04 пмоль/мг (IQR 0,01–0,12; n=20), на 4–6-й дни — 0,04 пмоль/мг (IQR 0,02–0,08; n=9) (общий  $p=0,8$ ).

Полученные результаты свидетельствуют о жизнеспособности тромбоцитов в составе концентратов и сохраняющемся энергетическом потенциале на протяжении изученных сроков хранения.

*Морфологическая характеристика тромбоцитов в концентратах.* По данным сканирующей электронной микроскопии, в концентратах тромбоцитов были обнаружены разные морфологические варианты тромбоцитов, представленные на рис. 5.

Дисковидные (см. рис. 5, А) и овальные (см. рис. 5, Б) тромбоциты с гладкой поверхностью, без каких-либо выпячиваний и филоподий, представляют собой покоящиеся, неактивированные тромбоциты. Такие тромбоциты преобладали, их доля в концентратах составляла на 1-й день 30% (IQR 22–38%), на 2–3-й дни — 33% (IQR 20–44%), на 4–7-й дни — 32% (IQR 21–48%). Содержание дисковидных тром-



**Рис. 5.** Различные морфологические варианты тромбоцитов в составе концентратов тромбоцитов по данным сканирующей электронной микроскопии: А — дисковидные; Б — овальные; В — недеформированные или слегка деформированные с 1–3 филоподиями; Г — сильно деформированные с множественными филоподиями; Д — сферические с шероховатой поверхностью; Е — веретенообразные. Линейки = 1 мкм

боцитов в процессе хранения существенно не менялось, медианная доля на 1-й день составляла 28% (IQR 14–35%), на 2–3-й день — 17% (IQR 8–24%,  $p < 0,005$  по сравнению с 1-м днём), на 4–7-й дни — 23% (IQR 16–31%,  $p < 0,0001$  по сравнению с 2–3-м днём). Медианная доля овальных тромбоцитов в 1-й день составляла 1% (IQR 0–3%), на 2–3-й день их содержание увеличилось до 15% (IQR 4–23%,  $p < 0,0001$ ), на 4–7-й дни — до 10% (IQR 3–18%,  $p < 0,0001$  по сравнению с 1-м днём).

Вторую группу образовывали недеформированные или слегка деформированные тромбоциты с 1–3 короткими филоподиями (см. рис. 5, В), которые служат морфологическим признаком частичной активации тромбоцита. Медианная доля тромбоцитов с филоподиями составляла на 1-й день 38% (IQR 22–55%), на 2–3-й день — 23% (IQR 13–37%,  $p < 0,001$  по сравнению с 1-м днём), на 4–7-й

дни — 20% (IQR 13–41%,  $p < 0,0001$  по сравнению с 1-м днём).

Третья разновидность — сильно деформированные тромбоциты, полностью утратившие дисковидную форму, с неровной поверхностью и множественными короткими или длинными филоподиями (см. рис. 5, Г), что характерно для тромбоцитов с высокой степенью активации. Их медианная доля на 1-й день составляла 27% (IQR 12–35%), на 2–3-й дни — 12% (IQR 0–23%,  $p < 0,0001$  по сравнению с 1-м днём), на 4–7-й дни — 22% (IQR 0–34%,  $p < 0,0001$  по сравнению с 1-м днём).

Важным морфологическим признаком прогрессирующей спонтанной активации тромбоцитов в процессе хранения концентратов было появление тромбоцитарных микроагрегатов, которые содержали от 2 до 15 клеток. Агрегаты обнаруживались на 3–7-й дни хранения концентратов и содержали 0,5–1,6% всех тромбоцитов. В составе микроагрегатов преобладали сферические тромбоциты (33–100%), а также активированные тромбоциты с филоподиями (9–33%). Образование тромбоцитарных агрегатов обуславливает прогрессирующее снижение доли изолированных, неагрегированных тромбоцитов с морфологическими признаками активации (деформированные тромбоциты с филоподиями), обнаруживаемых в тромбоконцентратах в процессе хранения.

Кроме описанных типичных, или «классических», морфологических вариантов тромбоцитов, в концентратах обнаружены тромбоциты с атипичной морфологией. К ним относятся небольшие сферические тромбоциты (средний диаметр  $1,8 \pm 0,3$  мкм), имеющие шероховатую поверхность, без филоподий (см. рис. 5, Д), а также веретенообразные, вытянутые тромбоциты (см. рис. 5, Е). Сферические тромбоциты, которых не было в день получения концентратов, появлялись только на 3–7-й дни хранения. Доля веретенообразных тромбоцитов в день получения концентратов составляла 1% (IQR 0–3%), их содержание возрастало до 3% (IQR 0–7%) на 2–3-й дни ( $p = 0,016$ ) и до 5% (IQR 2–9%) на 4–7-й дни ( $p < 0,0001$  по сравнению с 1-м днём). Предположительно сферические и веретенообразные структуры — разновидность активированных тромбоцитов, подвергшихся механическим и/или химическим воздействиям в процессе получения концентратов. Активация тромбоцитов может проявляться как в повышенной реактивности, так и во вторичной дисфункции вплоть до рефрактерности вследствие истощения функциональных резервов.

## Обсуждение

Учитывая большое количество факторов, влияющих на качество и лечебную эффективность тромбоцитарных препаратов, целью настоящей работы было комплексное изучение динамики морфофункционального состояния тромбоцитов в процессе хранения концентрата тромбоцитов на сроках до 7 дней.

Одним из важных результатов исследования является то обстоятельство, что в процессе хранения концентратов тромбоцитов постепенно повышается спонтанная экспрессия Р-селектина (см. рис. 1, А) и фосфатидилсеринов (см. рис. 1, А), что указывает на фоновую активацию нестимулированных тромбоцитов. Этот результат сопоставим с наблюдениями большинства исследователей, которые также показали, что экспрессия Р-селектина [17, 18] и фосфатидилсеринов [17] на поверхности тромбоцитов увеличивалась с течением времени. В то же время есть исследование, в котором 7-дневное хранение концентратов тромбоцитов не сопровождалось заметной спонтанной экспрессией Р-селектина, а экспрессия фосфатидилсеринов повышалась незначительно [19].

К результатам процитированной работы [19] приближаются наши данные о том, что экспрессия активного интегрин  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  остаётся почти неизменной на протяжении всего срока хранения (см. рис. 1, А); такие же результаты получены в работе Sperling и соавт. [18]. В целом, несмотря на некоторые противоречия, опубликованные результаты исследования покоящихся, неактивированных тромбоцитов отчётливо указывают на прогрессирующую активацию в процессе хранения концентратов тромбоцитов, что подтверждается нашими данными.

Важнейшая функциональная характеристика тромбоцитов — их реактивность, то есть способность отвечать на внешние биохимические стимулы. В нашем исследовании при стимуляции тромбоцитов тромбиноподобным пептидом TRAP-6 и кальциевым ионофором A23187 происходило постепенное понижение индуцированной экспрессии Р-селектина, активного интегрин и фосфатидилсеринов по сравнению с днём получения концентратов, что свидетельствует о прогрессирующей потере реактивности тромбоцитов в процессе хранения. На это же указывает постепенное снижение агрегационного ответа тромбоцитов на такие индукторы, как коллаген и TRAP (см. рис. 2), что совпадает с результатами других исследователей [17–20].

В дополнение к данным по экспрессии молекулярных маркёров активации и агрегационной

способности тромбоцитов было обнаружено, что в процессе хранения концентратов многие тромбоциты утрачивают исходную дисковидную форму и приобретают другие, в том числе атипичные структурные характеристики. Эти новые морфологические варианты отражают частичную активацию тромбоцитов, что подтверждает данные литературы [21].

К числу неожиданных и важных результатов нашего исследования относится постоянство митохондриального потенциала тромбоцитов и концентрации внутриклеточного АТФ в процессе хранения (см. рис. 4). Учитывая, что контрактильный аппарат тромбоцитов, образованный комплексом немышечного миозина IIА и актина, использует исключительно энергию АТФ [22], эти данные в совокупности указывают на сохранение энергетического потенциала тромбоцитов, по крайней мере, до 7 дней хранения. Аналогичные результаты о сохранении митохондриального потенциала тромбоцитов в процессе хранения при одновременном повышении экспрессии молекулярных маркеров активации были описаны в работе Perrotta и соавт. [23].

### Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что, несмотря на некоторую степень прогрессирующей фоновой активации тромбоцитов и относительное снижение реактивности, подавляющее большинство тромбоцитов в составе концентратов сохраняет жизнеспособность и функциональность до 7 дней хранения при комнатной температуре в присутствии добавочного раствора SSP+.

Практическая ценность исследования заключается в том, что, согласно полученным результатам, заметные изменения морфофункционального состояния тромбоцитов начинаются только после 3-го дня хранения, поэтому свежеполученные концентраты обладают наибольшей лечебной эффективностью. Важно отметить, что тромбоциты в целом сохраняют энергетический потенциал и основные функциональные характеристики, включая контрактильную активность, до 7 дней хранения при комнатной температуре. Полученные результаты обосновывают лечебную эффективность концентратов тромбоцитов как гемостатических средств и служат основанием для оптимизации сроков и условий хранения препаратов.

### Выводы

1. Тромбоциты в составе концентратов изначально обладают высоким функциональным потенциалом, который постепенно снижается

вследствие прогрессирующей спонтанной активации при одновременном снижении реактивности и изменениях структуры.

2. Наибольшей стабильностью отличаются энергетический потенциал и сократительная способность тромбоцитов.

**Участие авторов.** Р.И.Л. — руководство работой, обработка и анализ данных, написание статьи; Л.С.Ф. — сбор исследуемого материала; А.И.Х. — проведение исследований, обработка и анализ данных, написание статьи; И.А.А. — проведение исследований, обработка и анализ данных; Н.Г.Е. — проведение исследований.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030). Проточная цитометрия и сканирующая электронная микроскопия тромбоцитов были проведены за счёт средств гранта Российского научного фонда №21-75-00010.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

**Благодарности.** Авторы выражают благодарность компании ООО «ГемаКор» (Москва) за предоставление регистратора тромбодинамики, использованного в данной работе для изучения контракции сгустков. Авторы также выражают благодарность фирме ООО «Технология Стандарт» (Барнаул) за безвозмездно предоставленный реактив — коллаген.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Estcourt LJ. Why has demand for platelet components increased? A review. *Transfus Med.* 2014;24(5):260–268. DOI: 10.1111/tme.12155.
2. Чечеткин А.В., Данильченко В.В., Григорьян М.Ш., Воробей Л.Г., Плоцкий Р.А. Основные показатели деятельности службы крови Российской Федерации в 2017 году. *Трансфузиология.* 2018;19(3):4–14. [Chechetkin AV, Danilchenko VV, Grigorjan MS, Vorobey LG, Plotskiy RA. The main indicators of activity of the blood service in the Russian Federation in 2017. *Transfuziologiya.* 2018;19(3):4–14. (In Russ.)] EDN: VIQETE.
3. Ng MSY, Tung JP, Fraser JF. Platelet storage lesions: what more do we know now? *Transfus Med Rev.* 2018;32(3):144–154. DOI: 10.1016/j.tmr.2018.04.001.
4. Ignatova AA, Karpova OV, Trakhtman PE, Rumiantsev SA, Pantelev MA. Functional characteristics and clinical effectiveness of platelet concentrates treated with riboflavin and ultraviolet light in plasma and in platelet additive solution. *Vox Sanguinis.* 2016;110(3):244–252. DOI: 10.1111/vox.12364.
5. Карпова О.В., Образцов И.В., Трахтман П.Е., Игнатова А.А., Пантелеев М.А., Румянцев С.А. Сравнение морфофункциональных свойств тромбоцитов в зависимости от различных способов процессинга. *Онкогематология.* 2014;(4):37–45. [Karpova OV, Obraztsov IV, Trakhtman PE, Ignatova AA, Pantelev MA, Romyantsev SA.

Comparison of platelets characteristics according to various processing methods. *Onkogematologiya*. 2014;(4):37–45. (In Russ.) EDN: TMOEEL.

6. Fritsma GA. Platelet structure and function. *Clinical Laboratory Science*. 2015;28(2):125–131. DOI: 10.29074/ascls.28.2.125.

7. Литвинов Р.И., Пешкова А.Д. Контракция (ре-тракция) сгустков крови и тромбов: патогенетическое и клиническое значение. *Альманах клинической медицины*. 2018;46(7):662–671. [Litvinov RI, Peshkova AD. Contraction of blood clots and thrombi: pathogenic and clinical significance. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(7):662–671. (In Russ.)] DOI: 10.18786/2072-0505-2018-46-7-662-671.

8. Жибурт Е.Б. *Трансфузиология*. Учебник. СПб.: Питер; 2002. 736 с. [Zhiburt EB. *Transfuziologiya. Uchebnik*. (Transfusiology. Textbook.) SPb.: Piter; 2002. 736 p. (In Russ.)]

9. Меликян А.Л., Пустовал Е.И., Цветасва Н.В., Птушкин В.В., Грицаев С.В., Голенков А.К., Давыдкин И.Л., Поспелова Т.И., Иванова В.Л., Шатохин Ю.В., Данишян К.И., Савченко В.Г. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых (редакция 2016 г.). *Гематология и трансфузиология*. 2017;62(1-S1):1–24. [Melikyan AL, Pustoval EI, Tsvetaeva NV, Ptushkin VV, Gritsaev SV, Golenkov AK, Davydkin IL, Pospelova TI, Ivanova VL, Shatokhin YuV, Danishyan KI, Savchenko VG. National clinical recommendations for diagnosis and therapy of idiopathic thrombocytopenic purpura (primary immune thrombocytopenia) in adults (2016). *Gematologiya i transfuziologiya*. 2017;62(1-S1):1–24. (In Russ.)] EDN: ZUEHRV.

10. Протопопова А.И., Гоголев Н.М., Тобохов А.В., Николаев В.Н., Неустроев П.А., Тимирдяев Д.Х. *Переливание компонентов, препаратов крови и кровезаменителей*. М., Берлин: DirectMEDIA; 2017. 169 с. [Protoporova AI, Gogolev NM, Tobokhov AV, Nikolaev VN, Neustroev PA, Timirdyayev DKh. *Perelivanie komponentov, preparatov krovi i krovезаменителей*. (Transfusion of components, blood products and blood substitutes.) М., Berlin: DirectMEDIA; 2017. 169 p. (In Russ.)]

11. Wandt H, Schäfer-Eckart K, Greinacher A. Platelet transfusion in hematology, oncology and surgery. *Dtsch Arztebl Int*. 2014;111(48):809–815. DOI: 10.3238/arztebl.2014.0809.

12. Schlenke P, Sibrowski W. 2 platelet concentrates. *Transfus Med Hemother*. 2009;36(6):372–382. DOI: 10.1159/000268058.

13. Постановление Правительства Российской Федерации от 22 июня 2019 г. №797 «Об утверждении правил заготовки, хранения, транспортировки и клинического использования донорской крови и её компонентов и признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации». <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201907020007> (дата обращения: 07.04.2022). [Decree of the Government of the Russian Federation of June 22, 2019 No. 797 “On approval of the rules for the procurement, storage, transportation and clinical use of donated blood and its components and on

the invalidation of certain acts of the government of the Russian Federation.” <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201907020007> (access date: 07.04.2022). (In Russ.)]

14. Van Der Meer PF, de Korte D. Platelet preservation: agitation and containers. *Transfus Apher Sci*. 2011;44(3):297–304. DOI: 10.1016/j.transci.2011.03.005.

15. Жибурт Е.Б., Мадзаев С.Р. Организация хранения компонентов крови в клинике. *Главная медицинская сестра*. 2014;(10):33–39. [Zhiburt EB, Madzaev SR. Organization of storage of blood components in the clinic. *Glavnaya meditsinskaya sestra*. 2014;(10):33–39. (In Russ.)] EDN: SOBGEB.

16. Приказ Минздрава России №1166н от 28 октября 2020 г. «Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) её компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) её компонентов». <https://legalacts.ru/doc/prikaz-minzdrava-rossii-ot-28102020-n-1166n-ob-utverzhdanii/> (дата обращения: 07.04.2022). [Order of the Ministry of Health of Russia No. 1166n dated October 28, 2020 “On approval of the procedure for donors to undergo a medical examination and a list of medical contraindications (temporary and permanent) for donating blood and (or) its components and the timing of the withdrawal to which a person is subject in the presence of temporary medical indications, from the donation of blood and (or) its components.” <https://legalacts.ru/doc/prikaz-minzdrava-rossii-ot-28102020-n-1166n-ob-utverzhdanii/> (access date: 07.04.2022). (In Russ.)]

17. Reddoch KM, Pidcoke HF, Montgomery RK, Fe-dyk CG, Aden JK, Ramasubramanian AK, Cap AP. Hemostatic function of apheresis platelets stored at 4 °C and 22 °C. *Shock*. 2014;41(Suppl 1 (01)):54–61. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000082.

18. Sperling S, Vinholt PJ, Sprogøe U, Yazer MH, Frederiksen H, Nielsen C. The effects of storage on platelet function in different blood products. *Hematology*. 2019;24(1):89–96. DOI: 10.1080/10245332.2018.1516599.

19. Fiedler SA, Boller K, Junker AC, Kamp C, Hilger A, Schwarz W, Seitz R, Salge-Bartels U. Evaluation of the *in vitro* function of platelet concentrates from pooled buffy coats or apheresis. *Transfus Med Hemother*. 2020;47(4):314–325. DOI: 10.1159/000504917.

20. Singh S, Hakimi CS, Jeppsson A, Hesse C. Platelet storage lesion in interim platelet unit concentrates: A comparison with buffy-coat and apheresis concentrates. *Transfus Apher Sci*. 2017;56(6):870–874. DOI: 10.1016/j.transci.2017.10.004.

21. Jain A, Marwaha N, Sharma RR, Kaur J, Thakur M, Dhawan HK. Serial changes in morphology and biochemical markers in platelet preparations with storage. *Asian J Transfus Sci*. 2015;9(1):41–47. DOI: 10.4103/0973-6247.150949.

22. Zucker-Franklin D, Grusky G. The actin and myosin filaments of human and bovine blood platelets. *J Clin Invest*. 1972;51(2):419–430. DOI: 10.1172/JCI106828.

23. Perrotta PL, Perrotta CL, Snyder EL. Apoptotic activity in stored human platelets. *Transfusion*. 2003;43(4):526–535. DOI: 10.1046/j.1537-2995.2003.00349.x.

## Сведения об авторах

**Хабирова Алина Ильшатовна**, магистр биологии, м.н.с., НИЛ «Белково-клеточные взаимодействия», Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия; [alina.urussu.95@gmail.com](mailto:alina.urussu.95@gmail.com); ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7243-8832>

**Фатхуллина Люция Сулеймановна**, врач-трансфузиолог, зав. отд. заготовки крови и её компонентов, ГАУЗ «Межрегиональный клинико-диагностический центр», г. Казань, Россия; Lusik65@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8303-7455>

**Андрянова Изабелла Александровна**, канд. биол. наук, с.н.с., НИЛ «Белково-клеточные взаимодействия», Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия; izabella2d@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3973-3183>

**Евтюгина Наталья Геннадьевна**, аспирант, каф. биохимии, биотехнологии и фармакологии, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия; natalja.evtugyna@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4950-3691>

**Литвинов Рустем Игоревич**, докт. мед. наук, проф., г.н.с., НИЛ «Белково-клеточные взаимодействия», Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия; rustempa@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0643-1496>

### Author details

**Alina I. Khabirova**, Junior Researcher, Research Laboratory “Protein-Cell Interactions”, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia; alina.urussu.95@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7243-8832>

**Luciya S. Fatkhullina**, M.D., Head, Depart. of Procurement of Blood and Its Components, Interregional Clinical Diagnostic Center, Kazan, Russia; Lusik65@rambler.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8303-7455>

**Izabella A. Andrianova**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Research Laboratory “Protein-Cell Interactions”, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia; izabella2d@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3973-3183>

**Natalia G. Evtugina**, PhD Stud., Depart. of Biochemistry, Biotechnology and Pharmacology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia; natalja.evtugyna@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4950-3691>

**Rustem I. Litvinov**, M.D., D. Sci. (Med.), Prof., Chief Researcher, Research Laboratory “Protein-Cell Interactions”, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia; rustempa@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0643-1496>