



<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2023-16-1-22-28>

Механизмы терапевтического эффекта богатой тромбоцитами плазмы в хирургии макулярного разрыва

Н.С. Демченко✉, А.Ю. Клейменов, В.Н. Казайкин

АО «Екатеринбургский центр МНТК "Микрохирургия глаза"», ул. Академика Бардина, д. 4а, Екатеринбург, 620149, Россия

Цель работы — описать механизмы лечебного воздействия на сетчатку компонентов богатой тромбоцитами плазмы (БотП) в хирургии макулярных разрывов (МР). **Материал и методы.** Представлены результаты применения аутологичной БотП в 36 случаях хирургического лечения глаз с идиопатическим сквозным МР размером от 96 до 932 мкм (в среднем $546,4 \pm 49,8$ мкм). Острота зрения с коррекцией до операции составляла от 0,04 до 0,2 ($0,09 \pm 0,01$). Количество клеточных элементов во фракциях БотП определялось на гематологическом анализаторе Sysmex XS-500i (Германия). **Результаты.** Через 2 мес после операции у всех пациентов наблюдалось восстановление всех слоев сетчатки в области МР, острота зрения с коррекцией повысилась до 0,2–0,6 ($0,40 \pm 0,04$). В течение 6 мес после операции у 35 (97 %) пациентов рецидивов МР не было. Предложена методика оценки качества БотП по содержанию в ней больших тромбоцитов. **Заключение.** Накопление данных об эффективном применении компонентов БотП позволит планировать более широкое ее использование в лечении дегенеративных, инфекционных, посттравматических и других нарушений структур глаза. Оценка качества БотП по содержанию в ней функционально активных тромбоцитов поможет более эффективно применять БотП в офтальмологии.

Ключевые слова: макулярный разрыв; богатая тромбоцитами плазма

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Благодарность: Коллектив авторов выражает благодарность сотрудникам клинико-диагностической лаборатории Екатеринбургского центра МНТК «Микрохирургия глаза» А.В. Шалагину и Т.Ю. Кожариной за приготовление БотП и исследование ее клеточного состава.

Для цитирования: Демченко Н.С., Клейменов А.Ю., Казайкин В.Н. Механизмы терапевтического эффекта богатой тромбоцитами плазмы в хирургии макулярного разрыва. Российский офтальмологический журнал. 2023; 16 (1): 22–8. <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2023-16-1-22-28>

Mechanisms of the therapeutic effect of platelet-rich plasma in macular hole surgery

Nadezhda S. Demchenko✉, Andrey U. Kleymenov, Viktor N. Kazaykin

Ekaterinburg Eye Microsurgery Center, 4a, Academician Bardin St., Ekaterinburg, 620149, Russia
medichkan@mail.ru

Purpose: to describe the mechanisms of the therapeutic effect of platelet-rich plasma (PRP) components on the retina in macular hole (MH) surgery. **Material and methods.** The results of autologous PRP use in 36 cases of surgical treatment of eyes with idiopathic full-thickness MH sized 96 to 932 μm (ave. 546.4 ± 49.8 μm) are presented. Corrected visual acuity before surgery was 0.04 to 0.2 (0.09 ± 0.01). The quantity of cell elements in PRP fractions was determined using a hematological analyzer Sysmex XS-500i (Germany). **Results:** 2 months after the operation, all retinal layers in the MH area were found to restore in all patients, who showed an increase in visual acuity to 0.2–0.6 (0.40 ± 0.04). 35 patients (97 %) had no MH relapse over the 6-month post-surgery period. A technique was proposed to evaluate the quality of

PRP by the presence of large platelets. The mechanisms of the therapeutic effect of PRP components on the retina were presented. **Conclusion.** The collection of data on the effectiveness of PRP components is instrumental in planning its wider use in the treatment of degenerative, infectious, post-traumatic and other disorders of eye structures. The evaluation of PRP quality by the content of functionally active platelets will also contribute to more effective PRP use in ophthalmology.

Keywords: macular hole; platelet-rich plasma

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

Acknowledgement. The authors are grateful to A.V. Shalagin and T.Yu. Kozharina of the clinical diagnostic laboratory of the Ekaterinburg Eye Microsurgery Center, who prepared PRP and determined its cellular composition.

For citation: Demchenko N.S., Kleymenov A.U., Kazaykin V.N. Mechanisms of the therapeutic effect of platelet-rich plasma in macular hole surgery. Russian ophthalmological journal. 2023; 16(1): 22-8 (In Russian). <https://doi.org/10.21516/2072-0076-2023-16-1-22-28>

Макулярный разрыв (МР) относится к ведущим причинам необратимой потери зрения и слепоты в развитых странах мира у лиц старше 50 лет [1]. Классическим методом хирургического лечения МР является 3-портовая витрэктомия, окрашивание и удаление внутренней пограничной мембраны с последующей тампонадой витреальной полости газозооной смесью. После операции возможно несмыкание и повторные рецидивы МР с прогрессирующей потерей зрения. В связи с этим ведутся поиски новых способов лечения МР. В нашей клинике была применена технология PRP-терапии (pure-platelet-rich plasma), которая предполагает использование богатой тромбоцитами плазмы (БоТП). PRP-терапия — это введение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы пациента в рану для направленного ее заживления, ускорения регенерации, стимуляции роста собственных клеток и продукции межклеточного матрикса. БоТП была использована в качестве дополнительного элемента для смыкания макулярного разрыва в ходе оперативного вмешательства [Казайкин В.Н., Клейменов А.Ю., Пономарев В.О., Дутлякова А.Д. Способ хирургического лечения макулярного разрыва сетчатки. Патент РФ 2773204].

PRP-терапия основана на том, что клеточные компоненты БоТП, выделяя различные биологически активные вещества (факторы роста, цитокины, хемокины, лизосомальные ферменты, белки адгезии) поддерживают все фазы каскада репарации, восстановления целостности тканей (воспаление, пролиферацию, ремоделирование и ревазуляризацию). Жидкая часть БоТП содержит факторы свертывания крови и фибриноген, который, формируя сгусток, обеспечивает тампонаду макулярного разрыва и создает матрицу для межклеточных взаимодействий в процессе репарации сетчатки. PRP-терапия применяется для заживлении ран в различных областях медицины уже более 30 лет, в том числе и в офтальмологии [2–8].

ЦЕЛЬ работы — описать механизмы лечебного воздействия на сетчатку компонентов БоТП в хирургии МР.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В настоящее исследование вошли 36 глаз 36 пациентов, прооперированных в Екатеринбургском центре МНТК «Микрохирургия глаза» по поводу идиопатического сквозного МР размером от 96 до 932 мкм (в среднем $546,4 \pm 49,8$ мкм). Острота зрения с коррекцией до операции составляла от 0,04 до 0,2 ($0,09 \pm 0,01$). Выполняли 3-портовую 25–27G-витрэктомия, выделение и удаление задней гиалонидной мембраны. Далее проводили окрашивание и удаление внутренней пограничной мембраны, затем заменяли ирригационный раствор на воздух. Следующим этапом наносили в зону МР 0,05 мл чистой БоТП. Через минуту наносили на образовавшуюся пленку фибрина каплю перфторорганического

соединения (ПФОС) и сразу заменяли воздух на ирригационный раствор. Через 5 мин пассивно аспирировали ПФОС.

Для приготовления аутологичной БоТП использовали контейнеры Ycellbio-Kit (Ycellbio Medical Co., Ltd, Южная Корея), в которых производилось двукратное центрифугирование (3200–3400 об/мин в течение 4 мин на центрифуге СМ-6М, ELM1, Латвия) венозной крови пациента с антикоагулянтом (3,2 % цитрат натрия с декстрозой). В результате центрифугирования получали БоТП, которая состояла из двух фракций: лейкоцитромбоцитарного слоя (L-PRP — leucocyte-platelet-rich plasma) и фракции чистой БоТП (P-PRP — pure-platelet-rich plasma).

Измерение количества клеточных элементов во фракциях БоТП проводили на гематологическом анализаторе Sysmex XS-500i (Sysmex, Германия).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Statistica.10.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате хирургического лечения полное закрытие МР и анатомическое восстановление макулы достигнуто у 35 (97 %) пациентов. В одном случае был рецидив, обусловленный нарушением технологии операции: произошло частичное механическое смещение пленки фибрина канюлей при замене ПФОС на воздух. У остальных пациентов операционных и послеоперационных осложнений не наблюдалось. По данным рандомизированного контрольного исследования М. Раques и соавт. [9], при лечении МР III и IV стадии с использованием чистой БоТП анатомический успех лечения был достигнут в 98 % случаев против 82 % в группе без использования адьювантов, в частности БоТП. В работе А.А. Шпака и соавт. [10] при применении БоТП успех лечения был достигнут в 100 % случаев против 92,3 % в группе без использования БоТП.

В первый день после операции пациентам проводили оптическую когерентную томографию (ОКТ): на поверхности сетчатки визуализировалась фибриновая пленка, в местах прикрепления которой к сетчатке наблюдались своеобразные фокальные тракции, изменявшие ее профиль. Однако ближе к концу первой недели фибрин рассасывался, профиль макулы восстанавливался. Острота зрения с коррекцией после операции повысилась до 0,2–0,6 ($0,40 \pm 0,04$).

У 20 пациентов провели гематологический анализ БоТП, показавший, что в лейкоцитромбоцитарном слое (ЛТС) концентрация тромбоцитов составляет $6555,8 \pm 506,7 \times 10^3/\text{мкл}$, больших тромбоцитов (P-LCR) $-1830,52 \pm 202,27 \times 10^3/\text{мкл}$, лейкоцитов — $99,3 \pm 38,1 \times 10^3/\text{мкл}$. В области чистой БоТП (P-PRP) концентрация тромбоцитов равнялась $2600,4 \pm 329,9 \times 10^3/\text{мкл}$, больших тромбоцитов (P-LCR) — $675,65 \pm 117,78 \times 10^3/\text{мкл}$, лейкоцитов — $1,49 \pm 0,58 \times 10^3/\text{мкл}$.

Клинический пример. Во время оперативного вмешательства на МР (рис. 1, А) после выполнения витрэктомии, окрашивания и удаления внутренней пограничной мембраны, замены ирригационных растворов на воздух в зону МР наносили 0,05 мл аутологичной БоТП, посредством которой за несколько секунд в МР формировался фибрино-клеточный сгусток (рис. 1, Б). В первые сутки после операции на ОКТ наблюдалось прочное смыкание МР за счет фибрино-клеточного тромба и положительная динамика остроты зрения у пациента (рис. 1, В) в сравнении с дооперационным периодом (см. рис. 1, А). Через 2 мес наблюдения на ОКТ зафиксирован полный лизис фибрино-клеточного сгустка и полная репарация ткани сетчатки. Зафиксирована положительная динамика остроты зрения пациента по сравнению с первыми сутками после операции (рис. 1, Г).

Аналогичные результаты наблюдались у 35 из 36 пациентов, у которых в течение 6 мес после операции рецидивов МР не было.

ОБСУЖДЕНИЕ

Тромбоциты участвуют в регенерации тканей за счет факторов роста (VEGF, PDGF, FGF, EGF, IGF, TGF, FGF, Ang) и других активных молекул (хемокинов, арахидоновой кислоты, фибриногена, серотонина, адениловых нуклеотидов и др.) [12, 13]. Влияние факторов роста на поведение клеток и последовательность регенерации тканей широко изучены [14, 15]. Показано, что за счет широкого спектра факторов роста БоТП стимулирует образование коллагена, ускоряет регенерацию тканей, индуцирует рост сосудов, эпителиальных и мезенхимальных клеток, обеспечивает гемостаз, обладает противовоспалительным потенциалом [16]. В основе этих эффектов лежит синергичное взаимодействие с местными клетками сетчатки, определяющее специфические реакции пролиферации, клеточной миграции и синтез экстрацеллюлярного матрикса [17].

Механизмы лечебного воздействия БоТП. Лечебный эффект БоТП обусловлен ее компонентами: тромбо-лейкоцитарной массой и компонентами плазмы (фибриноген, факторы свертывания и другие молекулы). При контакте с МР происходит моментальное (за несколько секунд) свертывание плазмы с формированием рыхлого сгустка, состоящего из нитей фибрина, тромбоцитов, небольшого количества лейкоцитов, который механически закупоривает МР. При этом фиксация сгустка к раневой поверхности обеспечивается специфическими рецепторными связями тромбоцитов к коллагену. Тромбоциты, соприкасаясь с элементами внутренней пограничной мембраны сетчатки (базальная мембрана, глиальные отростки клеток Мюллера), компонентами межклеточного пространства (коллагеновые волокна, протеогликаны, гиалуроновая кислота) стремятся к адгезии и агрегации. Они активируются, превращаются в сфероциты, имеющие множество отростков, размер которых может существенно превышать поперечник самих тромбоцитов. Возникновение псевдоподий обеспечивает быстрый контакт отдельных тромбоцитов между собой (рис. 2).

Тромбоциты адгезируют к коллагеновым волокнам посредством специфических гликопротеиновых рецепторов (GpVI, GpIV и GpIa/IIa), либо посредником выступает фактор фон Виллебранда, находящийся в плазме и в гранулах тромбоцитов. Фактор фон Виллебранда обладает тремя активными центрами, два из которых соединяются с рецепторами тромбоцитов (GpIb), а один — с коллагеном. Одновременно на тромбоцитах экспрессируются рецепторы к фибриногену (GpIIb/IIIa), вследствие этого при наличии в среде Ca^{2+} мономеры фибриногена соединяют друг с другом два прилегающих тромбоцита. Таким образом, мономеры фибриногена вступают в двусторонние связи с рецепторами на поверхности тромбоцитов, создавая мостики, связывающие их, и одновременно образуют, последовательно соединяясь между собой, растворимые димеры и олигомеры.

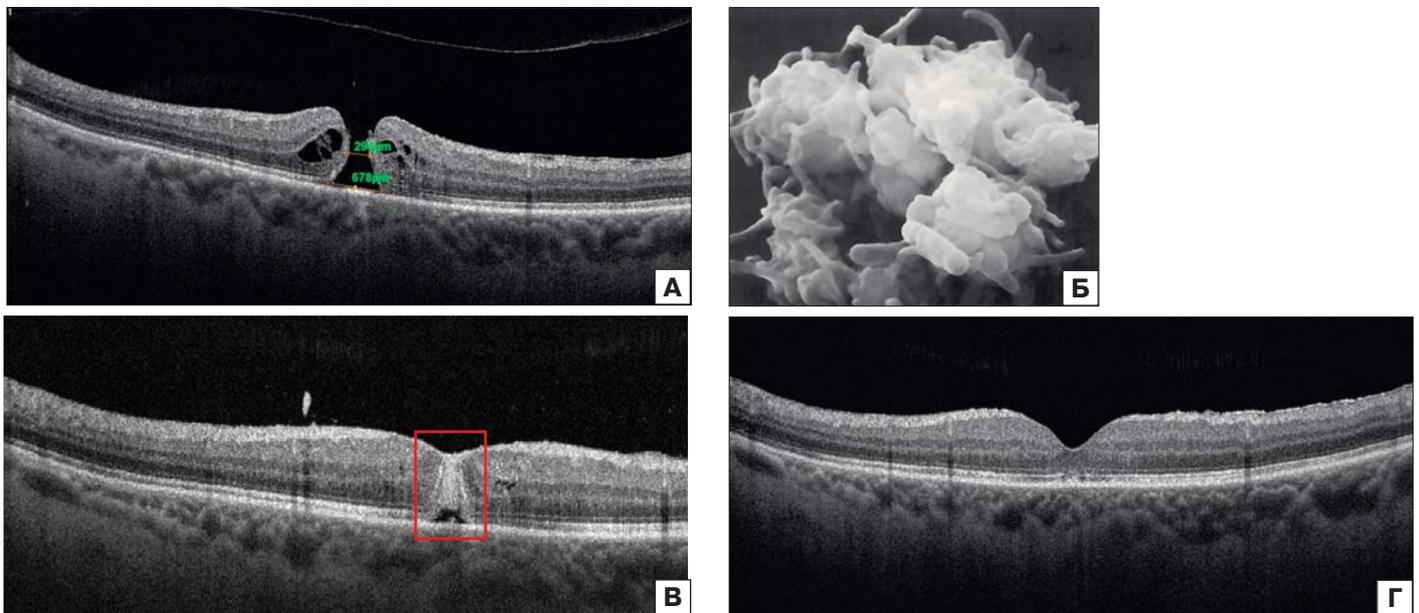


Рис. 1. Этапы смыкания МР после витрэктомии с применением БоТП (клинический пример). А — ОКТ: МР размером в узкой части 294 мкм, Vis OD с корр. = 0,35. Б — фибрино-тромбоцитарный сгусток в МР после внесения БоТП [11]. В — ОКТ: результат смыкания МР на первые сутки после операции с применением БоТП, Vis OD с корр. = 0,55 (наблюдается фибрино-клеточный сгусток в зоне МР). Г — ОКТ: состояние макулы через 2 мес после операции, наблюдается восстановление слоев сетчатки, Vis OD с корр. = 0,6

Fig. 1. Stages of closing the macular rupture after vitrectomy using PRP (clinical case). А — optical coherence tomography (OCT): MH size in the narrow part is 294 microns, Vis OD with correction = 0.35. Б — fibrin-platelet clot in the MH after PRP application [11]. В — OCT: the result of the closure of the macular rupture on the first day after surgery using PRP, vis OD with correction = 0.55 there is a fibrin-cell clot in the MH zone. Г — OCT: the state of the macula 2 months after surgery, there is a restoration of the retinal layers, Vis OD with correction = 0.6

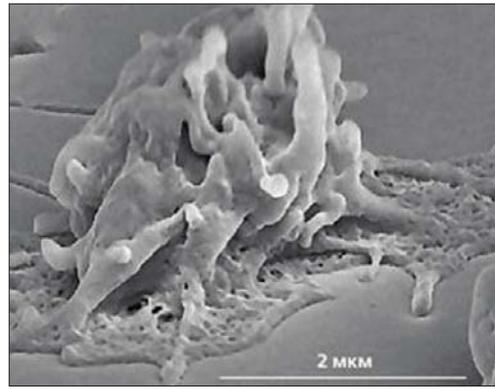
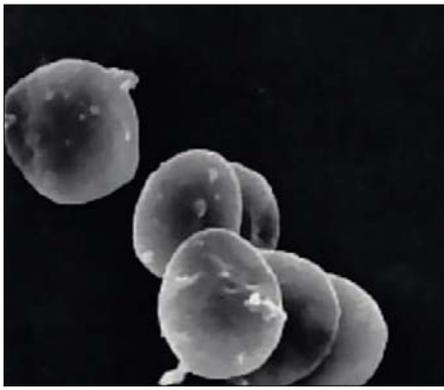


Рис. 2. Трансформация тромбоцитов при их активации. Слева дискоидные тромбоциты «покоя» [18], справа — отростчатый, активированный, дегранулированный тромбоцит [19]

Fig. 2. Transformation of platelets during their activation. On the left, discoid platelets of “rest” [18], on the right, a process, activated, degranulated platelet [19]

В конечном итоге формируется полимерная нерастворимая структура — фибрин [20] и образуется сетчатая структура фибрино-тромбоцитарного сгустка.

Адгезия и агрегация активируют тромбоциты к дегрануляции, секреции массы биоактивных молекул в окружающий межклеточный матрикс. В том числе тромбоциты секретируют большое количество аденозиндифосфата (АДФ) и тромбоксана А₂, а также катехоламины, серотонин, арахидоновую кислоту, тромбин, которые активируют окружающие неактивные тромбоциты, вовлекая их в процесс формирования сгустка. Фибрино-клеточный сгусток формируется моментально после соприкосновения БоТП с МР и уплотняется в течение нескольких минут, выдавливая из своей массы плазму и лейкоциты. Этот процесс можно наблюдать при операции на МР. Далее, в постоперационном периоде, в течение 20–60 мин происходит постепенная ретракция сгустка и стягивание МР [21]. Этот процесс обеспечивается изменением структуры нитей фибрина и сократительной способности тромбоцитов за счет сократительных белков — актина, миозина и тромбостенина в их цитоплазме. Дополнительно тромбоциты секретируют фибринстабилизирующий фактор (XIII плазменный фактор свертывания крови), стимулирующий формирование все большего количества поперечных связей между волокнами фибрина. Тромбоциты обеспечивают около 80 %, а фибрин около 20 % силы ретракции сгустка.

После формирования тромба лечебный эффект БоТП обеспечивается выделением в окружающий межклеточный матрикс тромбоцитами и в меньшей степени — лейкоцитами различных биоактивных молекул, в том числе ростовых и коагуляционных факторов, ферментов. Выделение биоактивных веществ происходит постепенно в течение нескольких дней в процессе активации и постепенной дегрануляции тромбоцитов [22, 23].

Одновременно в течение 3–4 суток происходит постепенное ферментативное растворение фибринового сгустка за счет активации ферментов системы фибринолиза стекловидного тела, плазминовой системы. Последняя включает в себя плазминоген, его активаторы и ингибиторы. Плазминоген синтезируется печенью и присутствует в экстраваскулярном пространстве многих тканей. В тканях глаза преимущественно представлен один из активаторов плазминогена — активатор урокиназного типа (u-PA). В норме активатор плазминогена урокиназного типа достаточно широко распространен в тканях заднего сегмента глаза, стекловидном теле, склере, в зрительном нерве, фибробластах сосудистой оболочки, сосудах, внутренних слоях нейроэпителия и пигментном эпителии сетчатки [24]. Активатор превращает плазминоген в активную форму — плазмин. Во время постепенного лизиса сгусток плотно фиксирован в ране за счет рецепторных связей тромбоцитов с краями макулярного разрыва.

Фактор роста тромбоцитов (PDGF — platelet dimeric growth factor) стимулирует пролиферацию, секрецию и миграцию мезенхимальных, глиальных клеток, фибробластов, является кофактором других ростовых факторов, в частности сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF — vascular endothelial growth factor) [25]. PDGF регулирует синтез коллагена и секрецию необходимой для этого коллагеназы; стимулирует хемотаксис макрофагов и нейтрофилов в области МР [11]. Таким образом, БоТП способна стимулировать пролиферативную, секреторную и миграционную активность клеток различных слоев сетчатки и тем самым способствовать консолидации МР.

Какую часть БоТП рациональнее использовать при воздействии на сетчатку? Для получения аутологичной БоТП в работе использовались специализированные пробирки Ycellbio-Kit (Южная Корея). После центрифугирования в них цельной крови получали 1,3 мл БоТП, состоящей из двух фракций: лейкоцитромбоцитарного слоя (L-PRP) и фракции чистой БоТП (P-PRP). Для хирургического вмешательства при МР достаточно 0,05–0,10 мл БоТП (рис. 3).

Обозначенные слои БоТП отличаются по клеточному составу, но содержат одинаковое количество фибриногена и плазменных коагуляционных факторов.

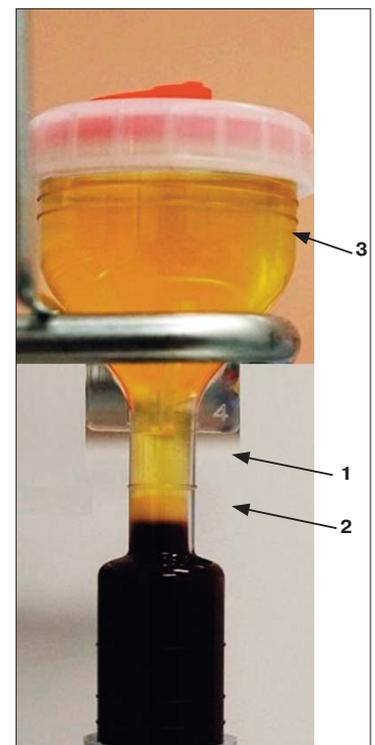


Рис. 3. Фракции плазмы: 1 — фракция чистой богатой тромбоцитами плазмы (P-PRP), 2 — лейкоцитромбоцитарный слой (L-PRP), 3 — бедная тромбоцитами плазма (PPP)

Fig. 3. Plasma fractions: 1 — fraction of pure platelet-rich plasma (P-PRP), 2 — leukotrombocyte layer (L-P), 3 — platelet-poor plasma (PRP)

Лейкоциты наряду с тромбоцитами играют определенную роль в репарации тканей, которая начинается с воспалительного процесса, интенсивность последнего регулируется высвобождением как про-, так и противовоспалительных биомолекул (хемокинов, цитокинов) тромбоцитами и лейкоцитами. Тромбоциты играют первостепенную роль в активации иммунокомпетентных лейкоцитов, так как содержат в бета-гранулах большое количество серотонина, который усиливает хемотаксис и миграцию лейкоцитов в очаг воспаления [26].

Взаимодействуя с иммунными клетками, серотонин способствует продукции ими гамма-интерферона (IFN- γ — interferon- γ), который выполняет иммуномодулирующую функцию, регулирует весь комплекс иммунных реакций в ответ на повреждение тканей [27]. Тромбоциты являются источником ферментов и субстратов, дополняющих возможности нейтрофилов при производстве противовоспалительных липидных медиаторов, позволяющих перейти от стадии острого воспаления к процессам восстановления ткани сетчатки [28]. В зависимости от тканевого окружения нейтрофилы БоТП могут по-разному проявлять свой эффекторный потенциал, проявляющийся в фагоцитозе, высвобождении содержимого гранул, продукции активных форм кислорода и образовании внеклеточных ловушек. В условиях МР (стерильная травма) главная роль нейтрофилов будет заключаться в рекрутировании моноцитов из окружающих тканей и регулировании иммунного процесса в МР, направленного от фазы острого воспаления к регенерации тканей [29]. Моноциты из БоТП и окружающих тканей при участии сигнальных молекул нейтрофилов превращаются в макрофаги, которые обеспечивают фагоцитоз, в том числе нейтрофилов после апоптоза, ослабляют воспалительную реакцию и стимулируют восстановление тканей за счет продукции интерлейкина-10 (IL-10), гамма-интерферона (IFN- γ), оксида азота, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактора роста фибробластов (FGF — fibroblast growth factor). Макрофаги продуцируют компоненты внеклеточного матрикса. Лимфоциты, продуцируя инсулин-подобный фактор роста (IGF-I — insulin-like growth factor-I), поддерживают ремоделирование тканей [13]. Тромбоциты не только инициируют, но и поддерживают и направляют иммунный ответ. Они способны презентировать антиген в контексте молекул МНС I класса и активировать наивные CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты. Тромбоциты при дегрануляции выделяют АДФ, который распознается рецептором P2Y₁2ADP на дендритных клетках (разновидность моноцитов), усиливая у последних эндоцитоз. Дендритные клетки инициируют Т-клеточные иммунные реакции и связывают механизмы врожденного и приобретенного иммунного ответа [30].

В то же время лейкоциты, выделяя в окружающий матрикс протеолитические, лизосомальные ферменты в большой концентрации, могут оказать отрицательное воздействие на нейроэпителий сетчатки. Исходя из этого, можно предположить, что для хирургии МР рационально использовать плазму из слоя чистой БоТП, которая содержит достаточное количество тромбоцитов, способных оказать положительный терапевтический эффект, и минимальное количество лейкоцитов, способных выполнить функции иммунной защиты.

Оценка качества БоТП по морфофункциональному составу тромбоцитов. По данным литературы, стимулирующий эффект БоТП проявляется, если концентрация тромбоцитов в ней $\geq 1\,000 \times 10^3$ кл/мкл [31], при этом тромбоциты в полученной аутологичной плазме должны

быть потенциально функционально активными. Функциональная активность тромбоцитов зависит от стадии зрелости и состояния активации. Выделяют клетки стадии покоя (исходные неактивированные тромбоциты) и клетки, находящиеся на разных стадиях активации. Эти две категории, активированные и неактивированные, обладают разной функциональной активностью. После активации тромбоциты меняют форму с дискоидной на уплощенно-отростчатую, следовательно увеличиваются в диаметре, происходит высвобождение содержимого внутриклеточных гранул наружу, после чего процесс активации становится необратимым [32].

Считается, что тромбоциты с большим диаметром более метаболически, ферментативно и функционально активны, чем тромбоциты меньшего размера. В стационарном режиме эти более крупные тромбоциты выделяют больше тромбосана-2 (активатора агрегации тромбоцитов). К более крупным и метаболически активным относятся молодые тромбоциты и зрелые отростчатые тромбоциты в состоянии активации [33–37].

На гематологических анализаторах фракция крупных тромбоцитов определяется показателем P-LCR (индекс больших тромбоцитов, объемом > 12 фл). Для разделения крупных зрелых и крупных молодых тромбоцитов в гематологических анализаторах последнего поколения существует параметр индекса ретикулиновых тромбоцитов (IPF). В отличие от зрелых тромбоцитов, юные ретикулиновые тромбоциты богаты нуклеиновыми кислотами и содержат более плотные и обогащенные биоактивными веществами гранулы, обладают повышенной тромботической и агрегационной активностью, вырабатывают большее количество тромбосана-2, серотонина, тромбомодулина [38].

Таким образом, функционально полноценными будут зрелые тромбоциты в стадии покоя и крупные юные тромбоциты из фракции IPF, входящие в состав и фракции P-LCR. Данная совокупность тромбоцитов потенциально способна выполнять коагулологическую, ангиотрофическую, транспортную, ростстимулирующую, иммунную функции. Активированные крупные отростчатые тромбоциты, входящие во фракцию P-LCR, обладают ограниченным функционалом, так как в процессе активации они секретировали в окружающую среду большую часть содержимого внутриклеточных гранул. Подобные тромбоциты обладают в основном двигательной и адгезивно-агрегационной активностью, т. е. способны активно участвовать в формировании тромбоцитарно-фибринового сгустка, но не способны участвовать в процессах регенерации тканей [15, 32].

Производители систем (пробирок) для получения БоТП предлагают методику получения концентрата тромбоцитов в количестве в 7–10 раз большем, чем в нативной плазме ($1200\text{--}3000 \times 10^3$ против $140\text{--}360 \times 10^3$ кл/мкл нормальных показателей крови). При этом не учитывается количество потенциальных функционально активных тромбоцитов.

Мы предлагаем оценивать качество получаемой БоТП не только по концентрации тромбоцитов, но и по количеству в ней функционально полноценных тромбоцитов, учитывая индекс больших тромбоцитов (P-LCR) и фракцию незрелых тромбоцитов (IPF).

В нашем распоряжении были данные стандартного набора параметров тромбоцитов: количество тромбоцитов (PLT), средний диаметр тромбоцитов (MPV), ширина распределения (PDW), индекс больших тромбоцитов (P-LCR). В результате проведенного исследования были получены следующие показатели больших тромбоцитов (P-LCR) в БоТП: в P-PRP — $675,65 \pm 117,78 \times 10^3$ /мкл (26 %), в L-PRP

(ЛТС) — $1830,52 \pm 202,27 \times 10^3/\text{мкл}$ (28 %). Таким образом, относительно общего содержания тромбоцитов различные фракции БоТП мало отличаются в процентном отношении по содержанию больших тромбоцитов.

Для оценки тромбоцитарного пула следует оценивать количество тромбоцитов (PLT), долю юных, незрелых тромбоцитов (IPF), индексы объема тромбоцитов, которые являются маркерами их активации: средний диаметр тромбоцитов (MPV), ширину распределения (PDW), индекс больших тромбоцитов (P-LCR). Чем выше будут показатели IPF, P-LCR, MPV, PDW, тем больше в крови пациента более крупных и молодых тромбоцитов, которые отражают более высокий уровень метаболической, ферментативной и функциональной активности. Молодые и крупные тромбоциты содержат больше α -гранул, максимально обогащенных медиаторами [35, 39]. Таким образом, чем выше будут показатели PLT, IPF, P-LCR, MPV, PDW, тем более биологически активной будет получаемая БоТП. Но в то же время циркуляция более крупных и молодых клеток, отражающая активность тромбоцитов, считается предиктором тромботических событий у пациента [35, 37, 40]. Индексы объема тромбоцитов MPV, PDW и P-LCR при их повышении являются прогностическими маркерами тромботических состояний и сосудистых осложнений на фоне сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета, метаболического синдрома [34–36, 39, 40, 41].

Оценивая общесоматический статус пациента, который идет на операцию по поводу МР, следует учитывать состояние системы его гемостаза. Любое оперативное вмешательство с оказанием анестезиологического пособия является фактором риска тромботических осложнений. Пациенты с сопутствующей патологией, которые нуждаются в постоянном приеме антиагрегантов и/или антикоагулянтов, должны находиться в компенсированном состоянии по системе гемостаза [42]. Это не только обезопасит пациента от послеоперационных тромботических осложнений, но и положительно скажется на качестве аутологичной БоТП, которая потребует для оперативного лечения МР. Антиагреганты способствуют снижению числа активированных тромбоцитов фракции P-LCR, таким образом, БоТП будет более богата зрелыми тромбоцитами в стадии покоя, с сохранными внутриклеточными гранулами, богатыми биоактивными веществами, которые обеспечивают терапевтический эффект БоТП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

PRP-терапия применяется в разных отраслях медицины достаточно давно, накапливаются знания об ее эффективности в свете применения новых технологий получения различных составов БоТП. Поскольку ткани глаза обладают определенными анатомо-физиологическими особенностями, необходимо изучить влияние различных компонентов БоТП на патологический процесс в глазу в зависимости от его локализации и характера. Это позволит более широко и эффективно использовать БоТП в лечении дегенеративных, инфекционных, посттравматических и других нарушенных структур глаза. Определение количества функционально активных тромбоцитов БоТП, применяемой в хирургии МР, может положительно сказаться на прогнозировании функционального и анатомического результата операции. Предлагаемая методика оценки качества БоТП по содержанию в ней больших тромбоцитов в дальнейшем может быть использована в практических и научных целях при применении БоТП для лечения других заболеваний глаз (патологии роговицы, глаукомы, травмы глаза и др.).

Литература/References

1. Global data on visual impairments 2010. Available by: <https://www.iapb.org/wp-content/uploads/GLOBALDATAFINALforweb.pdf> (accessed 2. 12. 2022).
2. Filardo G., Di Matteo B., Kon E., Merli G., Marcacci M. Platelet-rich plasma in tendon-related disorders: Results and indications. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 2016; 26 (7): 1984–99. doi: 10.1007/s00167-016-4261-4
3. Belk J.W., Kraeutler M.J., Houck D.A., et al. Platelet-rich plasma versus hyaluronic acid for knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Am. J. Sports Med.* 2020; 49 (1): 249–60. doi: 10.1177/0363546520909397
4. Xuan Z., Yu W., Dou Y., Wang T. Efficacy of platelet-rich plasma for low back pain: A systematic review and meta-analysis. *J. Neurol. Surg. Part A Central Eur. Neurosurg.* 2020; 81 (6): 529–34. doi: 10.1055/s-0040-1709170
5. Лошкарёва А.О., Майчук Д.Ю. Применение богатой тромбоцитами плазмы у пациентов с хроническими эрозиями роговицы. Современная технология в офтальмологии. 2016; 4: 131–2. [Loshkareva A.O., Maychuk D.Yu. The use of platelet-rich plasma in patients with chronic corneal erosions. *Modern technologies in ophthalmology.* 2016; 4: 131–2 (in Russian)].
6. Арбенёва Н.С., Братко В.И., Братко Г.В. и др. Результаты применения аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами, в составе комплексной схемы лечения увеита, ассоциированного с системными заболеваниями, сопровождающегося макулярным отеком. *Офтальмохирургия.* 2020; 2: 20–5. [Arbenyeva N.S., Bratko V.I., Bratko G.V., et al. Results of using autologous plasma enriched with platelets as part of a complex treatment regimen for uveitis associated with systemic diseases accompanied by macular edema. *Ophthalmosurgery.* 2020; 2: 20–5 (in Russian)]. doi:10.25276/0235-4160-2020-2-20-25
7. Станишевская О.М., Братко В.И., Повещенко О.В., Трунов А.Н., Черных В.В. Первые результаты комплексного лечения центральной серозной хориоретинопатии с использованием субпорогового микроимпульсного лазерного воздействия длиной волны 577 нм и инъекциями тромбоцитарной аутоплазмы. *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2019; 15 (2): 539–43. [Stanishevskaya O.M., Bratko V.I., Poveshchenko O.V., Trunov A.N., Chernykh V.V. The first results of complex treatment of central serous chorioretinopathy using subthreshold micro-pulse laser exposure with a wavelength of 577 nm and injections of platelet autoplasm. *Saratov Scientific Medical Journal.* 2019; 15 (2): 539–43 (in Russian)].
8. Alio J.L., Rodriguez A.E., Ferreira-Oliveira R., Wr bel-Dudzi ska D., Abdelghany A.A. Treatment of dry eye disease with autologous platelet-rich plasma: A prospective, interventional, non-randomized study. *Ophthalmol. Ther.* 2017; 6 (2): 285–93. doi: 10.1007/s40123-017-0100-z
9. Paques M., Chastang C., Mathis A., et al. Effect of autologous platelet concentrate in surgery for idiopathic macular hole: results of a multicenter, double-masked, randomized trial. *Platelets in Macular Hole Surgery Group. Ophthalmology.* 1999; 106 (5): 932–8. doi: 10.1016/s0161-6420(99)00512-6
10. Shpak A.A., Shkvorchenko D.O., Krupina E.A. Surgical treatment of macular holes with and without the use of autologous platelet-rich plasma. *Int. Ophthalmol.* 2021 Mar; 41 (3): 1043–52. doi: 10.1007/s10792-020-01662-4
11. Gerrard J.M., White J.G., Rao G.H. Effects of the ionophore A23187 on the blood platelets II. Influence on ultrastructure. *Am. J. Pathol.* 1974; 77 (2): 151–66.
12. Медведев В.Л., Коган М.И., Михайлов И.В., Лепетунев С.Н. Аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами: что это и для чего? *Вестник урологии.* 2020; 8 (2): 67–77. [Medvedev V.L., Kogan M.I., Mikhailov I.V., Lepetunov S.N. Autologous plasma enriched with platelets: what is it and for what? *Bulletin of Urology.* 2020; 8 (2): 67–77 (in Russian)]. doi: 10.21886/2308-6424-2020-8-2-67-77
13. Everts P., Onishi K., Jayaram P., Lana J.F., Mautner K. Platelet-Rich Plasma: New performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21 (20): 7794. doi: 10.3390/ijms21207794
14. International Cellular Medicine Society. Guidelines for the use of platelet rich plasma (adopted 2011). Available by: <http://www.cellmedicinesociety.org/icms-guidelines> (date of application 16.09.2022).
15. Woodell-May J.E., Ridderman D.N., Swift M.J., Higgins J. Producing accurate platelet counts for platelet rich plasma: validation of a hematology analyzer and preparation techniques for counting. *J. Craniofac. Surg.* 2005; 16 (5): 749–56. doi: 10.1097/01.scs.0000180007.30115.f
16. Tavukcu H.H., Aytaç Ö., Atug F., et al. Protective effect of platelet-rich plasma on urethral injury model of male rats. *NeuroUrol Urodyn.* 2018; 37 (4): 1286–93. doi: 10.1002/nau.23460
17. Weiser L., Bhargava M., Attia E., Torzilli P.A. Effect of serum and platelet-derived growth factor on chondrocytes grown in collagen gels. *Tissue Eng.* 1999; 5 (6): 533–44. doi: 10.1089/ten.1999.5.533
18. Ohlmann P., Eckly A., Freund M., et al. ADP induces partial platelet aggregation without shape change and potentiates collagen-induced aggregation in the absence of Galphaq. *Blood.* 2000; 96 (6): 2134–9.
19. Fatissou J., Mansouri S., Yacoubet D., Merhi Y., Tabrizian M. Determination of surface-induced platelet activation by applying time-dependency dissipation factor versus frequency using quartz crystal microbalance with dissipation. *J. R. Soc. Interface.* 2011; 8 (60): 988–97. doi: 10.1098/rsif.2010.0617
20. Марковчин А.А. Физиологические особенности тромбоцитов. Современные проблемы науки и образования. 2014; 6: 1437. [Markovchin A.A. Physiological features of platelets. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2014; 6: 1437 (in Russian)].

21. Пешкова А.Д., Сайхунув М.В., Демин Т.В. и др. Контракция (ретракция) сгустков крови у больных с острым ишемическим инсультом. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова 2016; 116 (3–2): 9–17. [Peshkova A.D., Saykhunov M.V., Demin T.V., et al. Contraction (retraction) of blood clots in patients with acute ischemic stroke. S. S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2016; 116 (3–2): 9–17 (in Russian)]. doi: 10.17116/jnevro2016116329-17
22. Миникова А.И. Структура и функции тромбоцитов (обзор литературы). I часть. Клиническая лабораторная диагностика. 2010; 11: 21–6. [Minikova A.I. Structure and functions of platelets. Platelet examination by flow cytometry (literature review). I part. Clinical laboratory diagnostics. 2010; 11: 21–6 (in Russian)].
23. Yakimenko A.O., Verholomova F.Y., Kotova Y.N., Ataullakhanov F.I., Pantelev M.A. Identification of different proaggregatory abilities of activated platelet subpopulations. Biophys J. 2012; 102 (10): 2261–9. doi: 10.1016/j.bpj.2012.04.004
24. Маркова Е.Ю., Дубровина К.А., Беgeeва Б.Ш. и др. Современные тенденции в лечении воспалительных заболеваний глазной поверхности у детей. Эффективная фармакотерапия. 2019; 15 (17): 12–5. [Markova E.Yu., Dubrovina K.A., Begeeva B.Sh., et al. Modern trends in the treatment of inflammatory diseases of the ocular surface in children. Effective pharmacotherapy. 2019; 15 (17): 12–5 (in Russian)]. doi: 10.33978/2307-3586-2019-15-17-12-15
25. Wang Z., Ahmad A.Li.Y., Kong D., et al. Selective expression of PDGF A and its receptor during early mouse embryogenesis. Biochim Biophys Acta. 2010; 1806 (1): 122–30. doi: 10.1016/j.bbcan.2010.04.003
26. Blair P., Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. Blood Rev. 2009; 23 (4): 177–89. doi: 10.1016/j.blre.2009.04.001
27. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якусени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть I. Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток. Медицинская иммунология. 2018; 20 (6): 785–96. [Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakuseni P.P. Platelets as activators and regulators of inflammatory and immune reactions. Part I. The main characteristics of platelets as inflammatory cells. Medical immunology. 2018; 20 (6): 785–96 (in Russian)]. doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-785-796
28. Weyrich A.S., Schwertz H., Kraiss L.W., Zimmerman G.A. Protein synthesis by platelets: historical and new perspectives. J. Thromb. Haemost. 2009; 7 (2): 241–6. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03211.x
29. Долгушин И.И., Меценцева Е.А., Савочкина А.Ю., Кузнецова Е.К. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы. Инфекция и иммунитет. 2019; 9 (1): 9–38. [Dolgushin I.I., Metsentseva E.A., Savochkina A.Yu., Kuznetsova E.K. Neutrophil as a “multifunctional device” of the immune system. Infection and immunity. 2019; 9 (1): 9–38. doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38
30. Iberg C.A., Hawiger D. Natural and Induced Tolerogenic Dendritic Cells. J. Immunol. 2020; 204 (4): 733–44. doi: 10.4049/jimmunol.1901121
31. Федосеева Е.В., Ченцова Е.В., Боровкова Н.В., Алексеева И.Б., Романова И.Ю. Морфофункциональные особенности плазмы, богатой тромбоцитами, и ее применение в офтальмологии. Офтальмология. 2018; 15 (4): 388–93. [Fedoseeva E.V., Chentsova E.V., Borovkova N.V., Alekseeva I.B., Romanova I.Yu. Morphofunctional features of platelet-rich plasma and its application in ophthalmology. Ophthalmology. 2018; 15 (4): 388–93 (in Russian)]. doi: 10.18008/1816-5095-2018-4-388-393
32. Колосова Е.И., Василенко И.А., Ковалева Л.Г. Оценка морфофункционального состояния тромбоцитов у больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой методом компьютерной морфометрии. Бюллетень СО РАМН. 2011; 31 (2): 58–63. [Kolossova E.I., Vasilenko I.A., Kovaleva L.G. Evaluation of the morphofunctional state of platelets in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura by computer morphometry. Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences. 2011; 31 (2): 58–63 (in Russian)].
33. Singh A., Singh A., Kushwaha R., et al. Hyperlipidemia and platelet parameters: Two sides of the same coin. Cureus. 2022; 14 (6): e25884. doi: 10.7759/cureus.25884
34. Shilpi K., Potekar R.M. A Study of platelet indices in type 2 diabetes mellitus patients. Indian J. Hematol. Blood. Transfus. 2018; 34 (1): 115–20. doi: 10.1007/s12288-017-0825-9
35. Tadereweg M.M., Woldeamanuel G.G., Emeria M.S., et al. Platelet indices and its association with microvascular complications among type 2 diabetes mellitus patients in Northeast Ethiopia: A cross-sectional study. Diabetes Metab. Syndr. Obes. 2021; 14: 865–74. doi: 10.2147/DMSO.S300460
36. Milants C., Bruyère O., Kaux J.F. Responders to platelet-rich plasma in osteoarthritis: A Technical analysis. Biomed. Res. Int. 2017; 2017: 7538604. doi: 10.1155/2017/7538604
37. Khandekar M.M., Khurana A.S., Deshmukh S.D., et al. Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario. J. Clin. Pathol. 2006; 59 (2): 146–9. doi: 10.1136/jcp.2004.025387
38. Hong H., Xiao W., Maitta R.W. Steady increment of immature platelet fraction is suppressed by irradiation in single-donor platelet components during storage. PLoS One. 2014; 9(1): e85465. doi: 10.1371/journal.pone.0085465
39. Seyyed-Mohammadzad M.H., Khademvatani K., Kerachian A., Eskandari R., Rezaei Y. Slow coronary flow phenomenon and increased platelet volume indices. Korean Circ. J. 2014; 44 (6): 400–5. doi: 10.4070/kcj.2014.44.6.400
40. Daniels S., Wei H., van Tongeren M., Denning D.W. Are platelet volume indices of clinical use in COVID-19? A systematic review. Front Cardiovasc Med. 2022; 9: 1031092. doi: 10.3389/fcvm.2022.1031092
41. Buch A., Kaur S., Nair R., Jain A. Platelet volume indices as predictive biomarkers for diabetic complications in Type 2 diabetic patients. J. Lab. Physicians. 2017; 9 (2): 84–8. doi: 10.4103/0974-2727.199625
42. Национальный стандарт РФ. ГОСТ Р 56377-2015 «Клинические рекомендации (протоколы лечения). Профилактика тромбоземболических синдромов». [National standard of the Russian Federation. GOST R 56377-2015 Clinical guidelines (treatment protocols). Prevention of thromboembolic syndromes (in Russian)].

Вклад авторов в работу: Н.С. Демченко — концепция и дизайн работы, написание и редактирование текста, его окончательное утверждение для публикации; А.Ю. Клейменов, В.Н. Казайкин — концепция и дизайн работы, редактирование текста.

Authors' contribution: N.S. Demchenko — concept and design of the study, writing and editing of the article, final approval for publication; A.Yu. Kleimenov, V.N. Kazaiyin — concept and design of the study, editing of the article.

Поступила: 27.10.2022. Переработана: 06.12.2022. Принята к печати: 07.12.2022
Originally received: 27.10.2022. Final revision: 06.12.2022. Accepted: 07.12.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

АО «Екатеринбургский центр МНТК "Микрохирургия глаза"», ул. Академика Бардина, д. 4а, Екатеринбург, 620149, Россия

Надежда Сергеевна Демченко — канд. мед. наук, врач клинко-диагностической лаборатории

Андрей Юрьевич Клейменов — врач-офтальмолог, хирург витреоретинального отделения

Виктор Николаевич Казайкин — д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник витреоретинального отделения

Для контактов: Надежда Сергеевна Демченко,
medichkan@mail.ru

Ekaterinburg Eye Microsurgery Center, 4a, Academician Bardin St., Ekaterinburg, 620149, Russia

Nadezhda S. Demchenko — Cand. of Med. Sci., doctor of clinical diagnostic laboratory

Andrey Yu. Kleimenov — ophthalmology, ophthalmic surgeon, vitreoretinal department

Viktor N. Kazaykin — Dr. of Med. Sci., leading researcher, vitreoretinal department

Contact information: Nadezhda S. Demchenko,
medichkan@mail.ru