

**МЕДИЦИНА****MEDICINE**

УДК [615-454.1:611.018.52]:616-089.844  
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-6-490-498>

Поступило в редакцию 13.09.2023  
Received 13.09.2023

**В. Ю. Галицкая<sup>1</sup>, М. П. Потапнев<sup>1</sup>, В. И. Асаевич<sup>1</sup>, В. Г. Богдан<sup>2</sup>,  
С. М. Космачева<sup>1</sup>, Ф. Н. Карпенко<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Отделение медицинских наук Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

**ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕЛЬ И ФАКТОРЫ,  
ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЕГО БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

(Представлено академиком В. А. Кульчицким)

**Аннотация.** Тромбоцитарный гель (ТГ) на основе концентрата тромбоцитов (КТ) рассматривается как перспективное терапевтическое средство с гемостатическими и регенеративными свойствами. ТГ получали из КТ, выделенных из периферической крови методом автоматического афереза, путем добавления тромбина (30 ЕД/мл). Сравнивали пролиферацию мезенхимальных стромальных клеток (МСК) человека *in vitro* в присутствии ТГ и плотность геля в зависимости от избытка фибриногена, присутствия кальция хлорида, кальция глюконата, апротинина. ТГ, образующийся из КТ в присутствии тромбина в течение 5–10 мин, представлял собой гелеобразную фибриновую пленку, содержащую тромбоциты и примесь лейкоцитов, которая способна усиливать пролиферацию МСК *in vitro*. Добавление глюконата кальция (10 мг/мл) в КТ перед тромбином вызывало образование геля, повышающего уровень пролиферации МСК *in vitro*. Внесение апротинина в ТГ в концентрации 10–1000 КИЕ/мл вызывало дозозависимое снижение скорости биодеградации геля на 5-е сутки и не влияло на способность ТГ стимулировать пролиферацию МСК человека *in vitro*.

**Ключевые слова:** тромбоцитарный гель, биодеградация геля, пролиферация мезенхимальных стромальных клеток *in vitro*

**Для цитирования.** Тромбоцитарный гель и факторы, определяющие его биологические характеристики / В. Ю. Галицкая [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 6. – С. 490–498. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-6-490-498>

**Viktoriya Yu. Galitskaya<sup>1</sup>, Michael P. Potapnev<sup>1</sup>, Vadim I. Asaevich<sup>1</sup>, Vasilii G. Bogdan<sup>2</sup>,  
Svetlana M. Kosmacheva<sup>1</sup>, Fedor N. Karpenko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>Department of the Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

**PLATELET GEL AND FACTORS DETERMINING ITS BIOLOGICAL ACTIVITY**

(Communicated by Academician Vladimir A. Kulchitsky)

**Abstract.** A platelet gel (PG) derived from platelet concentrate (PC) is considered as a perspective therapeutic agent with hemostatic and regenerative properties. PG was obtained from PC separated from human peripheral blood by automatic apheresis by adding human thrombin (30 U/ml). We compared the proliferation of human mesenchymal stromal cells (MSCs) *in vitro* in the presence of PG and the dependence of gel density on excess of fibrinogen, the presence of calcium chloride, calcium gluconate, and aprotinin. PG was formed from CT in the presence of thrombin during 5–10 minutes. PG as gel-like fibrin membrane contained platelets and an admixture of leukocytes, and was capable to enhance the proliferation of MSCs *in vitro*. The presence of calcium gluconate (10 mg/ml) increased in the presence of PG the rate of MSCs proliferation *in vitro*. The presence of aprotinin in PG at a concentration of 10–1000 KIU/ml caused a dose-dependent decrease in the rate of gel biodegradation and did not affect the ability of PG to stimulate the proliferation of human MSCs *in vitro*.

**Keywords:** platelet gel, gel biodegradation, proliferation of mesenchymal stromal cells *in vitro*

**For citation.** Galitskaya V. Yu., Potapnev M. P., Asaevich V. I., Bogdan V. G., Kosmacheva S. M., Karpenko F. N. Platelet gel and factors determining its biological activity. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 6, pp. 490–498 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-6-490-498>

**Введение.** Тромбоцитарный гель (ТГ) относится к препаратам растворимых факторов тромбоцитов (РФТ), используемых в стоматологии, комбустиологии, гнойной хирургии, травматологии, трансплантологии, дерматологии. Обладая гемостатическими свойствами, ТГ, благодаря наличию РФТ, способен стимулировать заживление поврежденных слизистых и кожи, вызывать регенерацию тканей, имеет антибактериальное действие при местном применении [1]. Приготовление ТГ из периферической крови не является стандартизированной процедурой с различиями по режимам центрифугирования, концентрации тромбоцитов, примеси лейкоцитов (нейтрофилов), плотности геля [2–4]. При этом вместо аутологичной крови пациента нередко используют для получения препаратов РФТ гомологичную (аллогенную) кровь здоровых лиц, что определяется ограничениями, связанными с заболеваниями пациентов, возрастом, а также часто меньшей биологической активностью аутологичных препаратов РФТ [1; 2; 5; 6].

Цель работы состояла в разработке технологии получения ТГ из крови здоровых лиц и оценке влияния факторов, определяющих образование геля, на ростостимулирующую активность в отношении мезенхимальных стромальных клеток человека *in vitro*.

**Материалы и методы исследования.** Для приготовления ТГ использовали концентрат тромбоцитов (КТ), полученный от здоровых доноров крови в РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (РНПЦ ТиМБ) методом автоматического афереза. Все доноры тромбоцитов были обследованы на инфекционные агенты иммуноферментным методом (возбудители гепатита В, гепатита С, сифилиса, вирус иммунодефицита человека) и методом полимеразной цепной реакции (возбудители гепатита В, гепатита С, вируса иммунодефицита человека) и не имели противопоказаний к сдаче крови и ее компонентов.

На первом этапе КТ центрифугировали и доводили концентрацию тромбоцитов до  $2,0 \cdot 10^9$ /мл [7]. Контроль концентрации тромбоцитов и лейкоцитов проводили с использованием гемоцитометра Sysmex (Япония). Примесь лейкоцитов составляла около  $0,4 \cdot 10^6$ /мл, эритроцитов – около  $0,05 \cdot 10^9$ /мл. Полученную взвесь тромбоцитов тщательно ресуспендировали в течение 3–5 мин для получения гомогенной взвеси и переносили в объеме 18 мл в стерильные чашки Петри диаметром 90 мм (Литопласт, Беларусь). В каждую чашку Петри в стерильных условиях добавляли тромбин (производства РНПЦ ТиМБ), растворенный в 3 мл 0,9 %-ного раствора натрия хлорида. Конечная концентрация тромбина составила 30 Ед/мл ТГ. Образовавшийся в течение 5–10 мин при комнатной температуре (20–22 °С) гель в чашке Петри переносили в индивидуальную упаковку – пакет плоский стерильный «СтериТ» и хранили при –30 °С. Микробиологический контроль на грамположительную и грамотрицательную флору проводили с использованием анализатора микробиологического ВАСТ/ALERT (Франция). После хранения в течение 3 месяцев после повторной сдачи донором крови или ее компонентов ТГ использовали для экспериментальных исследований.

В ряде экспериментов для приготовления ТГ вносили дополнительно хлорид кальция (в конечной концентрации 8,5 мг/мл), глюконат кальция (в конечной концентрации 10 мг/мл), фибриноген (производства РНПЦ ТиМБ, в конечной концентрации 85 мг/мл). Указанные реагенты вносили в чашки Петри перед добавлением тромбина. Апротинин («Гордокс», ОАО «Гедеон Рихтер», Венгрия) в конечной концентрации 10–1000 КИЕ/мл вносили в чашки Петри с ТГ после тромбина.

Клеточные модели *in vitro* являются стандартными для оценки биологической (регенеративной) функции ТГ [5]. Биологическую активность ТГ оценивали после его хранения при –30 °С по пролиферации МСК человека *in vitro* [8]. Материалом для исследования служили МСК костного мозга, полученные из архива лаборатории биологии и генетики стволовых клеток РНПЦ ТиМБ. Проведение теста осуществляли по ранее описанной методике [6].

Для оценки влияния на пролиферацию МСК после размораживания отбирали фрагмент ТГ размером  $10 \times 10 \times 2$  мм и вносили в лунки 6-луночного планшета (Corning, США), содержащие

3 мл питательной среды  $\alpha$ -MEM (Lonza, Швейцария), 5 % АВ (IV) сыворотки человека, 100 ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина. МСК вносили в посевной концентрации  $5,0 \cdot 10^3/\text{см}^2$  в полной питательной среде.

Также проводили сравнительную оценку функциональной активности супернатанта ТГ, плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ), аллогенной (РНПЦ ТиМБ). Для этого в лунки с МСК добавляли по 0,15 мл исследуемого растворимого препарата в конечной концентрации 5 %.

МСК культивировали в планшете в условиях  $\text{CO}_2$ -инкубатора (37 °С, 95 % влажность, 5 %  $\text{CO}_2$ ) в течение 72 ч. Затем ТГ удаляли вместе с питательной средой, прикрепившиеся ко дну лунок МСК однократно отмывали фосфатно-солевым буфером Дульбекко (Sigma Aldrich, США) и снимали добавлением 0,4 мл 0,25 %-ного раствора трипсин-ЭДТА. Действие трипсина инактивировали добавлением 0,8 мл фосфатно-солевого буферного раствора Дульбекко (Sigma Aldrich, США) с 1 % АВ (IV) сыворотки человека (РНПЦ ТиМБ). Клеточную суспензию центрифугировали, отбирали супернатант, осадок ресуспендировали в 3 мл питательной среды. Количество жизнеспособных клеток оценивали при окраске с 0,2 %-ным раствором трипанового синего, подсчет проводили в камере Горяева. Жизнеспособность клеток составляла не менее 98 %.

Влияние апротинина на биодеградацию ТГ *in vitro* оценивали визуально в динамике культивирования в питательной среде в условиях  $\text{CO}_2$ -инкубатора (+37 °С, 5 %  $\text{CO}_2$ , 95 % влажность). При этом процесс биодеградации геля оценивали по системе: « $\rightarrow$ » – полная деградация ТГ, «+» – наличие единичных гелеобразных частиц, «++» – наличие единичных плотных частиц геля, «+++» – наличие остова ТГ и единичных плавающих частиц геля, «++++» – сохранение конфигурации и плотности исходного геля.

Полученные данные обрабатывались с использованием пакета статистических программ Statistica v10.0. Количество клеток в различных вариантах культивирования (включая присутствие ТГ или ПОРФТ) подсчитывали в дуплетах в 3 мл среды. Значения показателей представлены как среднее значение  $\pm$  ошибка средней арифметической ( $M \pm SE$ ). За критический уровень статистической значимости принимали 95 %-ную вероятность ( $p < 0,05$ ).

**Результаты и их обсуждение.** Разработанная технология приготовления ТГ из дозы КТ (200 мл), полученной методом автоматического афереза, позволяла получить в одной серии 8 фасовок ТГ в чашках Петри диаметром 90 мм. После внесения тромбина в течение 5 мин образовывалась однородная и цельная тромбофибриновая пленка.

После хранения ТГ в замороженном виде при  $-30$  °С и последующей разморозки происходила ретракция ТГ до образования пленки диаметром около 50 мм и толщиной 2 мм. На рис. 1 показан внешний вид фасовки ТГ. Без дополнительной обработки ТГ был нестабилен при +37 °С, начиная с 48 ч культивирования. Для повышения прочности ТГ были апробированы методы приготовления ТГ с добавлением рабочего раствора хлорида кальция (в конечной концентрации

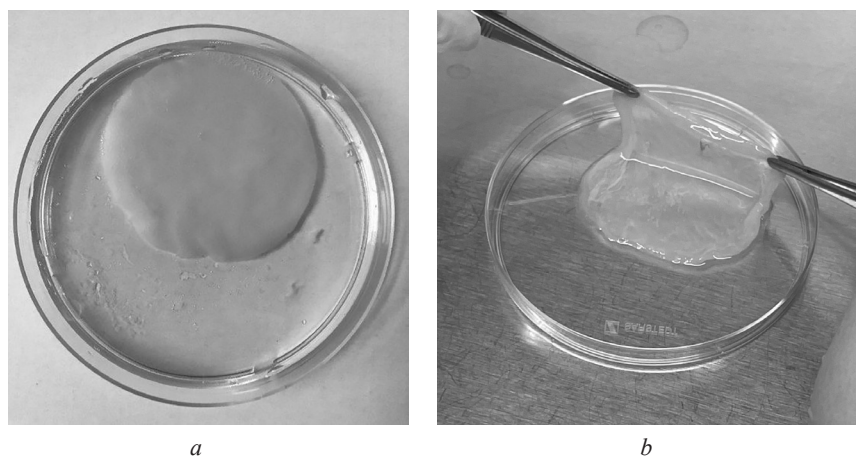


Рис. 1. Стандартная фасовка тромбоцитарного геля в чашке Петри: *a* – вид сверху; *b* – вид при использовании

Fig. 1. Standard package of platelet gel in a Petri dish: *a* – view from above; *b* – appearance when is use

8,5 мг/мл), что использовано многими авторами [3]. При этом тромбофибриновый сгусток образовался в течение 5–10 мин, его структура была однородная и более плотная, но после разморозки уменьшался в размерах до пленки диаметром 3–5 см.

Дополнительное внесение раствора глюконата кальция (в конечной концентрации 10 мг/мл), обладающего слабым местнораздражающим действием на ткани [1; 5; 9], сохраняло скорость образования ТГ под действием тромбина, плотность геля и форму округлого диска диаметром не менее 5 см после разморозки. Дополнительное внесение фибриногена (в конечной концентрации 85 мг/мл) не приводило к ускорению сроков образования геля (5–10 мин) или увеличению его плотности.

Так как ТГ является препаратом РФТ [3; 7], его регенеративную активность оценивали в тесте пролиферации МСК человека. При культивировании в питательной среде, содержащей 5 % АВ сыворотки человека, добавление фрагмента ТГ или 5 % ПОРФТ вызывало увеличение уровня пролиферирующих МСК в 2,5–3 раза по сравнению с контролем МСК. Количество клеток, выросших в присутствии ТГ, было сравнимым с таковым при добавлении ПОРФТ ( $p > 0,05$ ) (рис. 2).

Учитывая, что гелеобразование в ТГ определяется взаимодействием фибриногена, присутствующего в плазме, содержащей КТ, с вносимым экзогенным тромбином в оптимальной концентрации (30 Ед/мл), была проведена оценка влияния дополнительно вносимого фибриногена (производства РНПЦ ТиМБ) на биологическую активность полученного ТГ. В серии экспериментов ( $n = 20$ ) показано, что ТГ, образованный при избытке фибриногена (+85 мг/мл ТГ) при внесении в культуру МСК приводил к увеличению их количества до  $70,9 \pm 6,8$  тыс. клеток в лунке, в то время как ТГ, полученный без дополнительного внесения фибриногена, – до  $80,9 \pm 7,1$  тыс. клеток в лунке ( $p > 0,05$ ). Время образования ТГ с избытком фибриногена составляло 5–10 мин, плотность геля не увеличивалась по сравнению с обычной методикой приготовления ТГ. Таким образом, дополнительное внесение фибриногена в состав ТГ не приводило ни к более быстрому образованию ТГ, ни к изменению плотности структуры геля, и не влияло на пролиферативную активность МСК.

Достаточно часто для стимуляции образования ТГ применяют соли кальция, добавление которых к плазме или КТ формирует гель в течение 5–10 мин. Мы использовали раствор кальция хлорида (8,5 мг/мл) или раствор кальция глюконата (10 мг/мл), вносимый в объеме 3 мл на 18 мл

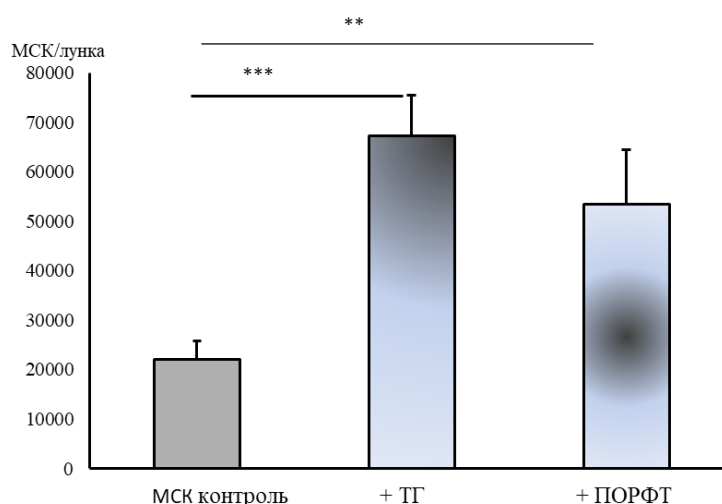


Рис. 2. Пролиферация МСК человека *in vitro* ( $n = 20$ ) в присутствии фрагмента тромбоцитарного геля (ТГ) ( $10 \times 10 \times 2$  мм) или 5 % плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ), при культивировании в течение 72 ч.

Примечание: данные представлены как  $M \pm SE$ ; \*\* –  $p = 0,0097$ ; \*\*\* –  $p < 0,0001$

Fig. 2. Proliferation of human MSCs *in vitro* ( $n = 20$ ), in the presence of a fragment of platelet gel (PG) ( $10 \times 10 \times 2$  mm) or 5 % platelet rich plasma (PRP), cultured for 72 hours.

Notes: data are presented as  $M \pm SE$ ; \*\* –  $p = 0,0097$ ; \*\*\* –  $p < 0,0001$



концентрата тромбоцитов в чашке Петри. Образующийся при этом ТГ обладал хорошей ригидностью, плотной структурой. Фрагменты ТГ, полученные в присутствии кальция хлорида, при внесении в культуру клеток вызывали в течение 3 суток увеличение количества МСК до  $82\,950 \pm 5\,785,6$  клеток на лунку ( $n = 20$ ), что не отличалось ( $p = 0,56$ ) от влияния ТГ, полученного стандартно с использованием тромбина ( $77\,200 \pm 7\,973,8$  клеток на лунку,  $n = 20$ ), в контроле без внесения ТГ –  $34\,487,5 \pm 3\,161,11$  клеток на лунку ( $n = 20$ ). Добавление глюконата кальция приводило к формированию ТГ, который вызывал *in vitro* увеличение количества МСК в течение 3 суток до  $97\,260,42 \pm 5\,668,86$  клеток на лунку ( $n = 24$ ), что несколько выше ( $p = 0,047$ ) по сравнению с действием стандартно полученного ТГ без глюконата кальция ( $79\,322,9 \pm 6\,722,36$  клеток на лунку,  $n = 24$ ), в контроле МСК без ТГ –  $32\,375 \pm 3\,565,29$  клеток на лунку ( $n = 24$ ).

Супернатант, образующийся при ретракции ТГ после разморозки, также обладал рост-стимулирующим действием в отношении МСК. Добавление 5 % супернатанта в культуру клеток вызывало усиление пролиферативной активности МСК в течение 3 суток культивирования до  $98\,500 \pm 6340$  клеток на лунку ( $n = 24$ ), что достоверно отличалось по сравнению с контролем МСК ( $28\,300 \pm 3\,800$  клеток на лунку ( $n = 16$ )) ( $p = 0,005$ ). При этом в присутствии ТГ, полученного стандартно с использованием тромбина, количество клеток достигло  $72\,900 \pm 4\,400$  на лунку ( $n = 16$ ). Эти результаты подтверждают, что ТГ активно выделяет растворимые ростовые факторы в окружающую среду, которые усиливают пролиферацию МСК.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ТГ оказывает стимулирующее действие и поддерживает пролиферацию МСК человека. Добавление глюконата кальция при приготовлении ТГ является эффективным способом сохранения формы геля и его биологической активности в отношении пролиферации МСК *in vitro*.

Установлено, что при культивировании ТГ при  $+37\text{ }^\circ\text{C}$  происходила визуально определяемая биодеградация геля. Для замедления биодеградации геля, что важно для клинического применения ТГ, нами была проведена оценка влияния апротинина на плотность геля и сохранение им биологической активности в условиях культивирования с МСК. Результаты оценки плотности геля при длительном культивировании ТГ при  $+37\text{ }^\circ\text{C}$  представлены в таблице.

#### Снижение биодеградации тромбоцитарного геля, культивированного *in vitro*, под влиянием апротинина

##### Decreased biodegradation of platelet gel cultured *in vitro* under the influence of aprotinin

Срок наблюдения (дни) Days of observation	Прочность геля при добавлении апротинина (КИЕ/мл) Gel density dependence on aprotinin (KIU/ml)			
	0	10	50	1000
1	++++	++++	++++	++++
3	++++	++++	++++	++++
5	+++	++++	++++	++++
7	++	+++	+++	++++
10	+	+++	+++	++++

Примечание: представлены суммарные результаты 3 повторных экспериментов.

Note: the total results of 3 repeated experiments are presented.

Как видно из таблицы, апротинин в концентрации 10–50 КИЕ/мл значительно снижал скорость биодеградации ТГ, что особенно заметно в условиях культивирования геля при  $+37\text{ }^\circ\text{C}$  более 5 дней. Апротинин в концентрации 1000 КИЕ/мл значительно повысил устойчивость ТГ к биодеградации в течение всего срока наблюдения (10 дней) без негативного влияния на биологическую активность. Добавление ТГ, полученного в присутствии апротинина, полностью сохраняло его ростстимулирующую активность в отношении МСК при всех использованных концентрациях (рис. 3).

Таким образом, добавление апротинина в использованных концентрациях повышало прочность ТГ и его устойчивость к биодеградации при культивировании *in vitro*. В то же время известно, что в дозах, применяемых для подавления фибринолиза, апротинин угнетает также реак-

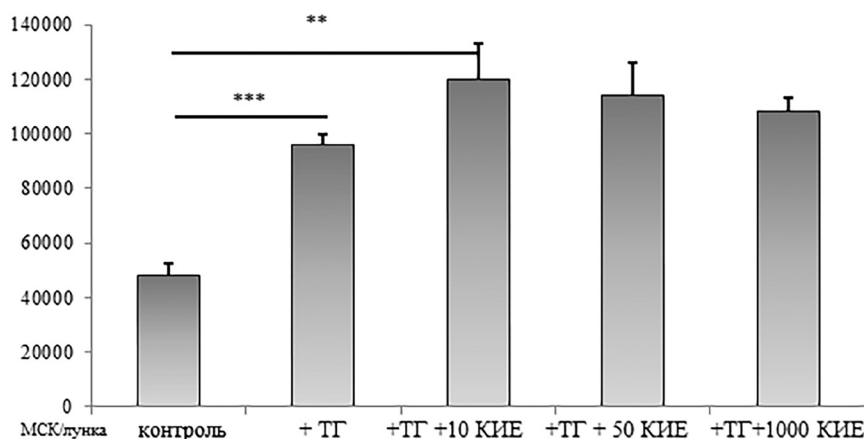


Рис. 3. Пролиферация мезенхимальных стромальных клеток (МСК) человека *in vitro* в присутствии тромбоцитарного геля (ТГ), стабилизированного добавлением аprotинина (10, 50, 1000 КИЕ/мл) в течение 72 ч. Примечание: \*\*\* –  $p < 0,0001$ ; \*\* –  $p = 0,007$

Fig. 3. Proliferation of human mesenchymal stromal cells (MSCs) in the presence of platelet gel (PG) stabilized by the addition of aprotinin (10, 50, 1000 KIU/ml) during 72 hours of cultivation *in vitro*. Note: \*\*\* –  $p < 0,0001$ ; \*\* –  $p = 0,007$

цию воспаления (ингибируя ряд провоспалительных цитокинов, например ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$ ) и процессы репарации поврежденных тканей [10].

ТГ рассматривается как второе поколение препаратов концентратов тромбоцитов с регенеративными свойствами (препаратами ПОРФТ/PRP) [4; 11; 12]. Преимуществами ТГ по сравнению с растворимыми препаратами ПОРФТ/PRP считают: а) гемостатические свойства, б) наличие фибринового матрикса для стимуляции гистогенеза, в) более длительный срок (7–14 дней) выделения растворимых факторов из геля, г) возможность более редкого (1 раз в 3–7 дней) проведения одной процедуры нанесения на раневую поверхность [1–4; 11]. В то же время при получении ТГ в клинических условиях снижено (мало контролируемо) количество тромбоцитов и повышено содержание лейкоцитов в мл объема, что может ослаблять его противовоспалительный и регенеративный потенциал [12]. Большинство авторов использовали аутологичный продукт из крови пациентов, который может отличаться по методу получения и биологической активности ТГ [1; 5; 11; 13]. При тяжелых заболеваниях пациентов (рак, диабет, аутоиммунные или онкогематологические заболевания, тромбоцитопения и др.) и для пожилых пациентов рекомендуется использовать аллогенный ТГ [2; 3]. Получение аллогенного ТГ возможно из пулированных образцов лейкоцитарного слоя периферической крови здоровых лиц [9], либо из КТ, полученного методом автоматического тромбоцитафереза [1; 5]. Последний является более привлекательным в связи с возможностью стандартизовать технологию получения ТГ и содержание тромбоцитов и лейкоцитов в конечном биопродукте. Использование для получения ТГ взвеси тромбоцитов, полученных аферезным методом, снижает количество лейкоцитов, повышает содержание активированных CD62<sup>+</sup> тромбоцитов и микрочастиц, снижает примесь эритроцитов [14; 15].

Поэтому нами для приготовления ТГ использован КТ, полученный методом автоматического афереза. Гель, образовавшийся после добавления тромбина, являлся пленкоподобным, с фибриновыми нитями в структуре, а по своим биологическим (регенеративным) свойствам был сравним с ПОРФТ. Секретируемые ТГ растворимые факторы обладали не меньшей активностью по сравнению с ПОРФТ, что подтверждает его высокие регенеративные способности за счет паракринных механизмов [5; 9]. Повышение прочности ТГ и снижения его биodeградируемости не изменялись при создании избытка фибриногена в образующемся геле. Полученный ТГ с избытком фибриногена визуально не отличался от исходного по прочности и в тесте пролиферации МСК. Дополнительное внесение кальция хлорида также не повлияло существенно на плотность геля и его способность стимулировать пролиферацию МСК *in vitro*. Глюконат кальция часто

используется для получения ТГ [1; 2; 5]. Нами показано, что дополнительное внесение глюконата кальция не влияло на прочность геля ТГ и оказывало слабый положительный эффект (+22 %,  $p = 0,047$ ) на пролиферацию МСК в присутствии ТГ *in vitro*.

Апротинин достаточно широко используется для стабилизации биodeградируемых гемостатических средств в медицине, поэтому мы оценили его влияние на формирование ТГ. Наши исследования показали, что апротинин в концентрации 10 КИЕ/мл оказывал существенное стабилизирующее значение на биodeградацию геля при более чем 5 суток культивирования *in vitro* при +37 °С при сохранении биологической активности ТГ по поддержанию пролиферации МСК. Повышение концентрации апротинина до 50 КИЕ/мл существенно не изменяло, а 1000 КИЕ/мл – усиливало устойчивость ТГ к биodeградации в течение 7 и 10 дней наблюдения. При этом биологическая активность ТГ (пролиферация МСК в присутствии ТГ) не изменялась.

**Заключение.** Технология производства ТГ из концентрата аферезных тромбоцитов периферической крови человека позволяет получить биodeградируемый гель, обладающий регенеративными свойствами при оценке способности поддерживать пролиферацию МСК человека *in vitro*. Показаны преимущества использования глюконата кальция на биологическую активность ТГ и добавления апротинина для повышения плотности и устойчивости к биodeградации ТГ *in vitro* без потери биологической активности в отношении МСК человека. ТГ имеет сравнимые с ПОРФТ биологическими свойствами *in vitro* и обладает преимуществами формирования депо РФТ при местном клиническом применении.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке Министерства здравоохранения Республики Беларусь (грант № 20221498).

**Acknowledgement.** The Ministry of Health of the Republic of Belarus (grant no. 20221498) supported the work.

### Список использованных источников

1. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds / G. Crovetti [et al.] // *Transfus. Apher. Sci.* – 2004. – Vol. 30, N 2. – P. 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2004.01.004>
2. Platelet gel: a new therapeutic tool with great potential / A. Piccin [et al.] // *Blood Transfus.* – 2017. – Vol. 15, N 4. – P. 333–340. <https://doi.org/10.2450/2016.0038-16>
3. Platelet-derived bio-products: classification update, applications, concerns and new perspectives / A. Acebes-Huerta [et al.] // *Transfus. Apheresis Sci.* – 2020. – Vol. 59, N 1. – Art. 102716. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.102716>
4. Choukroun, J. Platelet-rich fibrin “PRF” and regenerative medicine: ‘The low-speed concept’ / J. Choukroun, A. A. Aalam, R. J. Miron // *MSCs and Innovative Biomaterials in Dentistry.* – 2017. – Vol. 1, N 2. – P. 21–41. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-55645-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-55645-1_2)
5. Evaluation of the effects of homologous platelet gel on healing lower extremity wounds in patients with diabetes / G.-Q. Shan [et al.] // *Int. J. Low Extrem. Wounds.* – 2013. – Vol. 12, N 1. – P. 22–29. <https://doi.org/10.1177/1534734613477113>
6. Экспериментальное и клиническое обоснование применения плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, для лечения длительно незаживающих ран при сахарном диабете / А. А. Троянов [и др.] // *Медицинский журнал.* – 2018. – № 2. – С. 112–117.
7. Плазма крови, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов: получение, стандартизация, медицинское применение / М. П. Потапнев [и др.] // *Здравоохранение.* – 2018. – № 10. – С. 38–44.
8. International Forum on GMP-grade human platelet lysate for cell propagation: summary / D. Strunk [et al.] // *Vox Sang.* – 2018. – Vol. 113, N 1. – P. 80–87. <https://doi.org/10.1111/vox.12593>
9. Treatment of recalcitrant ulcers with allogeneic platelet gel from pooled platelets in aged hypomobile patients / N. Greppi [et al.] // *Biologicals.* – 2011. – Vol. 39, N 2. – P. 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2011.01.002>
10. Effects of Aprotinin or Tranexamic Acid on Proteolytic/Cytokine Profiles in Infants After Cardiac Surgery / T.-Y. Hsia [et al.] // *Ann. Thorac. Surg.* – 2010. – Vol. 89, N 6. – P. 1843–1852. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2010.02.069>
11. Progressive Platelet Rich Fibrin tissue regeneration matrix: Description of a novel, low cost and effective method for the treatment of chronic diabetic ulcers-Pilot study / C. J. Saboia-Dantas [et al.] // *PLoS One.* – 2023. – Vol. 18, N 5. – P. 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284701>
12. Platelet-rich fibrin and soft tissue wound healing: a systematic review / R. J. Miron [et al.] // *Tissue Eng. Part B Rev.* – 2017. – Vol. 23, N 1. – P. 83–99. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2016.0233>
13. Богдан, В. Г. Проспективное рандомизированное клиническое исследование эффективности применения аутологичных тромбоцитарных концентратов для стимуляции регенерации трофических язв венозной этиологии / В. Г. Богдан, Д. А. Толстов // *Новости хирургии.* – 2014. – Т. 22, № 3. – С. 344–350.

14. Difference in levels of platelet-derived microparticles in platelet components prepared using the platelet rich plasma, buffy coat, and apheresis procedures / E. Noulisri [et al.] // *Transfusion and Apheresis Science*. – 2017. – Vol. 56, N 2. – P. 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2016.10.006>
15. Oneto, P. PRP in wound healing applications / P. Oneto, J. Etuiain // *Platelets*. – 2021. – Vol. 32, N 2. – P. 189–199. <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1849605>

## References

1. Croveti G., Martinelli G., Issi M., Barone M., Guizzardi M., Campanati B., Moroni M., Carabelli A. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus and Apheresis Sciences*, 2004, vol. 30, no. 2, pp. 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2004.01.004>
2. Piccin A., Di Piero A., Canzian L., Primerano M., Corvetta D., Negri G., Mazzoleni G., Gastl G., Steurer M., Gentilini I., Eisendle K., Fontanella F. Platelet gel: a new therapeutic tool with great potential. *Blood Transfus*, 2017, vol. 15, no. 4, pp. 333–340. <https://doi.org/10.2450/2016.0038-16>
3. Acebes-Huerta A., Arias-Fernandez T., Bernardo A., Muñoz-Turrillas M. C., Fernández-Fuertes J., Seghatchian J., Gutiérrez L. Platelet-derived bio-products: classification update, applications, concerns and new perspectives. *Transfusion and Apheresis Science*, 2020, vol. 59, no. 1, art. 102716. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.102716>
4. Choukroun J., Aalam A. A., Miron R. J. Platelet rich fibrin “PRF” and regenerative medicine: ‘The low-speed concept’. *MSCs and Innovative Biomaterials in Dentistry*, 2017, vol. 1, no. 2, pp. 21–41. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-55645-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-55645-1_2)
5. Shan G.-Q., Zhang Y.-N., Ma J., Li Y. H., Zuo D. M., Qiu J. L., Cheng B., Chen Z. L. Evaluation of the effects of homologous platelet gel on healing lower extremity wounds in patients with diabetes. *International Journal of Lower Extremity Wounds*, 2013, vol. 12, no. 1, pp. 22–29. <https://doi.org/10.1177/1534734613477113>
6. Troyanov A. A., Kondratenko G. G., Potapnev M. P., Kolesnikova T. S., Khodosovskaya E. V., Arabei A. A., Nevevov P. S. Experimental and clinical justification for the use of platelet-rich plasma to treat long-term healing wounds in diabetes. *Medicinskij zhurnal = Medical Journal*, 2018, no. 2, pp. 112–117 (in Russian).
7. Potapnev M. P., Krivenko S. I., Bogdan V. G., Kosmacheva S. M., Shlyaga O. L., Karpenko F. N. Platelet-rich derived plasma: manufacture and medical application. *Zdravoohranenie = Healthcare*, 2018, no. 10, pp. 38–44 (in Russian).
8. Strunk D., Lozano M., Marks D. C., Loh Y. S., Gstraunthaler G., Schennach H., Rohde E. [et al.]. International Forum on GMP-grade human platelet lysate for cell propagation: summary. *Vox Sanguinis*, 2018, vol. 113, no. 1, pp. 80–87. <https://doi.org/10.1111/vox.12593>
9. Greppi N., Mazzucco L., Galetti G., Bona F., Petrillo E., Smacchia C., Raspolini E., Cossovich P., Caprioli R., Borzini P., Rebullia P., Marconi M. Treatment of recalcitrant ulcers with allogeneic platelet gel from pooled platelets in aged hypomobile patients. *Biologicals*, 2011, vol. 39, no. 2, pp. 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2011.01.002>
10. Hsia T. Y., McQuinn T. C., Mukherjee R., Deardorff R. L., Squires J. E., Stroud R. E., Crawford F. A., Bradley S. M., Reeves S. T., Spinale F. G. Effects of Aprotinin or Tranexamic Acid on Proteolytic/Cytokine Profiles in Infants After Cardiac Surgery. *Annals of Thoracic Surgery*, 2010, vol. 89, no. 6, pp. 1843–1852. <https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2010.02.069>
11. Saboia-Dantas C. J., Dechichi P., Fech R. L., Carvalho Furst R. V., Raimundo R. D., Correa J. A. Progressive platelet rich fibrin tissue regeneration matrix: Description of a novel, low cost and effective method for the treatment of chronic diabetic ulcers-pilot study. *PLoS One*, 2023, vol. 18, no. 5, pp. 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284701>
12. Miron R. J., Fujioka-Kobayashi M., Bishara M., Zhang Y., Hernandez M., Choukroun J. Platelet-rich fibrin and soft tissue wound healing: a systematic review. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 2017, vol. 23, no. 1, pp. 83–99. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2016.0233>
13. Bogdan V. G., Tolstov D. A. Prospective randomized clinical trials of efficiency of autologous platelet-derived concentrates to stimulate regeneration of trophic ulcers of venous etiology. *Novosti Khirurgii [News of Surgery]*, 2014, vol. 22, no. 3, pp. 344–350 (in Russian).
14. Noulisri E., Udomwinijilp P., Lerdwana S., Chongkolwatana V., Permpikul P. Difference in levels of platelet-derived microparticles in platelet components prepared using the platelet rich plasma, buffy coat, and apheresis procedures. *Transfusion and Apheresis Science*, 2017, vol. 56, no. 2, pp. 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2016.10.006>
15. Oneto P., Etulain J. PRP in wound healing applications. *Platelets*, 2021, vol. 32, no. 2, pp. 189–199. <https://doi.org/10.1080/09537104.2020.1849605>

## Информация об авторах

Галицкая Виктория Юрьевна – мл. науч. сотрудник. РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: galivika00@gmail.com. ORCID: 0009-0009-7670-8156

Потапнев Михаил Петрович – д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом. РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mpotapnev@yandex.by. ORCID: 0000-0002-6805-1782

## Information about the authors

Galitskaya Viktoriya Yu. – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnologies (Dolginovsky tract, 160, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: galivika00@gmail.com. ORCID: 0009-0009-7670-8156

Potapnev Michael P. – D. Sc. (Medicine), Professor, Head of the Department. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (Dolginovsky tract, 160, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mpotapnev@yandex.by. ORCID: 0000-0001-7705-9383



*Асаевич Вадим Игоревич* – мл. науч. сотрудник. РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: mantonik@mail.ru. ORCID: 0000-0002-2257-6452

*Богдан Василий Генрихович* – д-р мед. наук, профессор, академик-секретарь. Отделение медицинских наук НАН Беларуси (пр. Независимости, 66, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: medic@presidium.bas-net.by. ORCID: 0000-0001-7849-6497

*Космачева Светлана Михайловна* – канд. мед. наук, доцент, заведующий лабораторией. РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: 4kosmacheva@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1617-8845

*Карпенко Фёдор Николаевич* – канд. мед. наук, директор. РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (Долгиновский тракт, 160, 220080, Минск, Республика Беларусь). E-mail: director@blood.by. ORCID: 0009-0009-7890-5495

*Asaevich Vadim I.* – Junior Researcher. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (Dolginovsky tract, 160, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mantonik@mail.ru. ORCID: 0000-0002-2257-6452

*Bogdan Vasily G.* – D. Sc. (Medicine), Professor, Academician-Secretary. Department of Medical Sciences of the National Academy of Sciences of Belarus (66, Nezavisimosti Ave., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: medic@presidium.bas-net.by. ORCID: 0000-0001-7849-6497

*Kosmacheva Svetlana M.* – Ph. D. (Medicine), Head of the Laboratory. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (Dolginovsky tract, 160, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: 4kosmacheva@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1617-8845

*Karpenko Fedor N.* – Ph. D. (Medicine), Director. Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies (Dolginovsky tract, 160, 220080, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: director@blood.by. ORCID: 0009-0009-7890-5495