

## **МИКРОЧАСТИЦЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МАРКЕР ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА КОНЦЕНТРАТА ТРОМБОЦИТОВ**

Гришина Г.В.<sup>1</sup>, Касьянов А.Д.<sup>1</sup>, Кробинец И.И.<sup>1</sup>, Матвиенко О.Ю.<sup>1</sup>, Ласточкина Д.В.<sup>1</sup>,  
Голованова И.С.<sup>1</sup>, Бессмельцев С.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург*

<sup>2</sup>*Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации*

**Резюме.** Обзор посвящен данным, касающимся заготовки, хранения и контроля качества концентрата тромбоцитов. Продолжается поиск метода, позволяющего оценить функциональное состояние тромбоцитов в концентрате тромбоцитов. Однако в настоящее время ни один тест *in vitro* не используется в рутинной практике для характеристики переливаемых тромбоцитов и различия между эффективным и неэффективным компонентом.

**Цель исследования.** С учетом результатов основных исследований, проведенных в последние годы, выявить перспективный подход к оценке качества концентрата тромбоцитов для повышения его эффективности и безопасности трансфузий.

**Материалы и методы.** Использованы ресурсы поисковых систем РИНЦ и Pub Med. Поиск проводился по международным базам данных за 2014–2024 гг. Особое внимание уделено методам оценки активации тромбоцитов в концентрате тромбоцитов.

**Результаты.** Описаны возможности и преимущества рационального подхода к переливанию концентрата тромбоцитов с учетом степени активации тромбоцитов с целью оптимизации объема заготовки и повышения эффективности концентрата тромбоцитов при проведении как лечебных, так и профилактических трансфузий.

**Заключение.** Рациональный персонализированный подход к переливанию концентрата тромбоцитов с учетом степени активации тромбоцитов и потенциального маркера – тромбоцитарных микрочастиц приведет к улучшению клинической эффективности, определяемой приростом числа тромбоцитов после трансфузии, устойчивым гемостазом и снижением риска развития посттрансфузионных реакций у реципиентов.

**Ключевые слова:** трансфузия, концентрат тромбоцитов, микрочастицы, рефрактерность, динамическое рассеяние света.

## MICROPARTICLES – A POTENTIAL MARKER FOR ASSESSING THE QUALITY OF PLATELET CONCENTRATE

Grishina G.V.<sup>1</sup>, Kasyanov A.D.<sup>1</sup>, Krobinets I.I.<sup>1</sup>, Matvienko O.Yu.<sup>1</sup>, Lastochkina D.V.<sup>1</sup>,  
Golovanova I.S.<sup>1</sup>, Bessmeltsev S.S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Institution of Higher Education "North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov" of the Ministry of Health of the Russian Federation

**Abstract.** The review is devoted to data related to the procurement, storage and quality control of platelet concentrate. The search for a method to assess the functional state of platelets in platelet concentrate is ongoing. However, currently no in vitro test is used in routine practice to characterize transfused platelets and distinguish between an effective and ineffective component.

**The purpose of the study.** Taking into account the results of the main studies conducted in recent years, to identify a promising approach to assessing the quality of platelet concentrate to improve its efficiency and safety of transfusions.

**Materials and methods.** The resources of the search engines RINTS and Pub Med were used. The search was conducted in international databases for 2014-2024. Particular attention is paid to the methods for assessing platelet activation in platelet concentrate.

**Results.** The possibilities and advantages of a rational approach to transfusion of platelet concentrate are described, taking into account the degree of platelet activation in order to optimize the volume of procurement and increase the effectiveness of platelet concentrate in both therapeutic and prophylactic transfusions.

**Conclusion.** A rational personalized approach to platelet concentrates transfusion taking into account the degree of platelet activation and a potential marker – platelet microparticles – will lead to improved clinical efficacy, determined by an increase in platelet count after transfusion, stable hemostasis and a reduced risk of post-transfusion reactions in recipients.

**Key words:** transfusion, platelet concentrate, microparticles, refractoriness, dynamic light scattering.

**Введение.** Трансфузии донорских тромбоцитов – неотъемлемая часть комплексного лечения больных онкогематологическими заболеваниями в период применения высокодозной химио- и лучевой терапии, вызывающей угнетение тромбоцитопоэза у пациентов. Концентрат тромбоцитов (КТ) относится к числу наиболее востребованных компонентов крови. Так, в

1999 году в Российской Федерации было заготовлено 120 110 доз КТ, в 2019 г. - до 1 012 883 доз, а в 2020 г. - до 1 072 830 доз КТ [1]. Следует отметить, что обширное внедрение трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, эффективной высокодозной химиотерапии требует увеличения количества и удлинения сроков хранения, заготавливаемого КТ.

Взаимодействие лабораторной диагностики и клинической практики является одним из важнейших диагностических и терапевтических подходов к лечению пациентов различного профиля. Как уже отмечалось, увеличение объемов оказания высокоспециализированной медицинской помощи обуславливает высокую клиническую потребность в КТ. Однако как служба крови, так и практикующие врачи сталкиваются с определенными сложностями при обеспечении пациентов КТ. Связано это как с объективными свойствами самого компонента, его способом заготовки, коротким сроком хранения, так и с новыми аспектами и технологиями лечения гематологических и онкологических заболеваний.

Концентрат тромбоцитов является жизненно необходимым компонентом крови, используется для поддержания гемостаза при экстренной массивной кровопотере во многих областях медицины (общая хирургия, кардиохирургия, травматология, акушерство и гинекология, неонатология и т.д.). Пациенты с количеством тромбоцитов  $<5000/\text{мкл}$  подвержены высокому риску кровотечений. Переливание КТ является необходимой мерой коррекции тромбоцитопении различного генеза в онкологической и гематологической практике [2]. Однако трансфузии ТК могут быть назначены не только в терапевтических целях, но и для профилактики интенсивных кровотечений [3].

Совершенствование технологий заготовки КТ, а также способов поддержания нормальной функциональной активности тромбоцитов в условиях длительного хранения и последующей трансфузии гемокомпонентов является значимым направлением исследований [4]. КТ в настоящее время получают разными способами: непосредственно из кровотока от одного донора методом афереза или путем центрифугирования плазмы, богатой тромбоцитами, выделяя из лейкотромбоцитарного слоя (ЛТС) консервированной крови. КТ, заготовленный из ЛТС, содержит в конечном продукте примесь эритроцитов и лейкоцитов, что может привести к развитию посттрансфузионных реакций и аллоиммунизации у реципиента. Лейкоциты, сохраняющиеся в КТ, в процессе хранения подвергаются дегенерации и высвобождают лейкоцитарную эластазу, которая способствует развитию структурных и функциональных повреждений тромбоцитов во время хранения. Большинство авторов сравнивая различные методы заготовки КТ указывают, что аферез и выделение тромбоцитов из ЛТС обеспечивают более качественные показатели КТ, поскольку, «жесткое»

центрифугирование (при восстановлении из обогащенной тромбоцитами плазмы) может привести к активации части тромбоцитов [5–8]. Тромбоциты, полученные из ЛТС, могут иметь некоторые преимущества в виде меньшей активации во время подготовительных манипуляций в центрифуге, и являются, вероятно, наиболее применяемым КТ. При процедуре афереза, включающей в себя контакт крови с внутренними поверхностями набора для афереза, возникает возможность контактной активации коагуляции, что является проблемой как с точки зрения безопасности донора, так и качества получаемого продукта. Однако отметим, что современные технологические возможности аппаратов для афереза позволяют собирать в 2–3 раза больше количество клеток за тот же период времени, что уменьшает контактную активацию. Кроме того, группой авторов установлена эффективность еще одного метода фракционирования крови с помощью акустофореза, выделения тромбоцитов человека при минимальной активации с сохранением функции [9].

Вопрос о степени безопасности и эффективности переливания тромбоцитов для предупреждения кровотечения включен в число приоритетных направлений исследований. Тем не менее, сохраняется актуальность разработки новых подходов к хранению и обеспечению системы безопасности трансфузий КТ, т.к. данные о количестве тромбоцитов не характеризуют их функциональное состояние.

**Цель исследования.** С учетом результатов основных исследований, проведенных в последние годы, выявить перспективный подход к оценке качества концентрата тромбоцитов для повышения его эффективности и безопасности трансфузий.

**Материалы и методы.** Проанализированы основные научные публикации, посвященные морфофункциональным характеристикам тромбоцитов, имеющих значение для всех аспектов качества и безопасности КТ. Поиск проводили по международным базам данных РИНЦ, PubMed за 2014–2024 гг. Для изучения отобрано 60 работ, опубликованных в преобладающем большинстве в течение последних 10 лет. Включение более ранних работ допускалось в связи с высокоинформативными материалами либо, если это были первоисточники.

При оказании медицинской помощи по профилю «трансфузиология» должны соблюдаться требования системы безопасности и качества крови и ее компонентов. Методология исследования заключается в теоретическом изучении лабораторных методов, практикуемых для контроля качества КТ на основании обзора литературы. Требования к качеству КТ, заготовленных различными методами, определены национальными и международными рекомендациями. Параметрами рутинного контроля качества являются: содержание тромбоцитов в единице компонента, объем, уровень pH, содержание остаточных

лейкоцитов. В Европейском руководстве по заготовке, использованию и обеспечению качества компонентов крови (21 издание, 2023 год) представлен дополнительный критерий оценки качества КТ на добавочном растворе – содержание глюкозы в конце срока хранения [20]. В последние годы интенсивно разрабатываются технологии заготовки, переработки, хранения и применения КТ, для которых необходимы новые способы оценки качества и безопасности компонентов крови, отвечающие современным стандартам [10–19]. Отметим, что для оценки функциональной составляющей тромбоцитов не предусмотрено проведение каких-либо тестов *in vitro*.

**Результаты и обсуждение.** Процедура заготовки, хранения, и способы обработки КТ приводят к выраженным изменениям морфологических и функциональных характеристик тромбоцитов, что в свою очередь ведет к снижению при трансфузии терапевтической эффективности КТ. На посттрансфузионную активность тромбоцитов оказывает влияние любое воздействие на клетку, приводящее не только к изменению биохимических параметров среды, окружающую тромбоциты, но и к выраженным изменениям самих тромбоцитов. Одной из причин снижения эффективности тромбоцитов и сокращения срока их хранения является окислительный стресс [21]. В результате окислительного стресса образуется оксид азота, который увеличивает активацию тромбоцитов и клеточную продукцию реактивных видов кислорода. Показателями метаболических изменений служат параметры потребления глюкозы в КТ, приводящее к накоплению лактата и последующему ацидозу. Для оценки функциональной активности тромбоцитов при хранении предлагается множество методов: анализ морфологии тромбоцитов, оценка маркеров активации на поверхности тромбоцитов, ответ на гипотонический шок, оценка митохондриальной активности, характеристика метаболических изменений (рН, уровень лактатдегидрогеназы и т.д.), оценка процесса везикуляции [22].

В работе С. Aubron и др. проведен систематический обзор литературы с 2000 по 2017 гг. с целью оценки связи между временем хранения, клиническими исходами и результатами переливания КТ у пациентов. Авторы обнаружили, что время хранения КТ, по-видимому, не связано с изучаемыми клиническими исходами, такими как кровотечение, сепсис или смертность, у тяжелобольных пациентов. Самые свежие тромбоциты (менее 3 дней) показали более длительное время циркуляции в кровотоке, хотя не оказали более эффективного влияния на активное кровотечение [23].

Ученые продолжают поиски средств, способных целенаправленно поддерживать метаболизм и предотвращать активацию тромбоцитов. В целом ряде научных работ посвященных перспективным направлениям исследования, направленным на поддержание

качества КТ при хранении, сосредоточено внимание на разработке и усовершенствовании добавочных растворов, оптимизации температурных режимов хранения, создание новых полимерных материалов для контейнеров. Установлено, что хранение компонента продлевается, если при его заготовке используется взвешивающий раствор. Кроме того, применение добавочного раствора способствует сохранению функциональной активности тромбоцитов на сроках до 7 дней [24]. Возможно, замена плазмы добавочным раствором потенциально снизит концентрацию тромбоцитарных микрочастиц в конечном компоненте и приведет к лучшим клиническим результатам.

Имеются данные о том, что все изменения, ухудшающие процессы метаболизма и функциональную активность тромбоцитов, обычно нарастают по мере хранения, значительно снижая жизнеспособность тромбоцитов [25]. Со временем во всех КТ появляются «повреждения», полученные в процессе хранения. Следовательно, КТ должен храниться в условиях, которые гарантируют оптимальное сохранение жизнеспособности и гемостатической активности тромбоцитов.

Активация тромбоцитов, сопровождаемая высвобождением биологически активных веществ, начинается уже в момент заготовки и связана с существенными морфофункциональными изменениями. Активность тромбоцитов обусловлена особенностями структурного состояния мембранно-цитоскелетной системы и наличием в них большого количества биологически активных веществ, содержащихся в секреторных везикулах (гранулах) и высвобождающихся в процессе активации [5]. Отличительной чертой этого процесса является дегрануляция внутренних зернистых структур тромбоцитов с последующей транслокацией молекул, ранее локализованных внутри клеток, на поверхность тромбоцитов. По мнению С. Sut с соавторами ключевыми гликопротеинами и маркерами активации тромбоцитов являются растворимые CD40L и CD62P, увеличение экспрессии которых происходит в процессе хранения [26]. Авторы связывают активацию тромбоцитов с процессом центрифугирования крови при получении аферезного КТ, подчеркивая разницу в секреции CD62P в зависимости от типа сепаратора клеток крови [27, 28]. В некоторых технологиях используется антикоагулянт, неспособный блокировать преждевременную активацию тромбоцитов. Все это приводит к разрушению, преждевременной активации тромбоцитов и гибели факторов роста.

Донорская кровь и ее компоненты могут содержать клеточные фрагменты различных клеток, и в первую очередь активированных тромбоцитов. Появляется все больше публикаций о том, что при активации тромбоциты высвобождают везикулы, называемые микрочастицами. Процессы формирования мембранных микрочастиц с последующим их высвобождением

вследствие активации или апоптоза тромбоцитов, негативно влияют на КТ. [29–31]. Также, клеточное старение и апоптоз связаны с усилением экспрессии фосфатидилсерина на мембране тромбоцитов, что отражает нарастающие изменения тромбоцитов во время хранения, которые, по-видимому, ускоряются за счет активации, происходящей в процессе получения клеток.

*Микрочастицы тромбоцитарного происхождения* (МЧ) представляют собой небольшие везикулы (размером 0,1–1,0 мкм в диаметре), образующиеся в результате отпочковывания плазматической мембраны во время активации тромбоцитов или апоптоза, несущие на своей поверхности антигены, присущие родительским клеткам. МЧ обладают способностью ускорять процессы свертывания крови и коагуляционной активностью. Они способны повышать протромботический потенциал за счет наличия отрицательно заряженных фосфолипидов и тканевого фактора на своей поверхности, а также участвуют в механизмах регуляции воспаления и иммунного ответа. Прокоагулянтные свойства микрочастиц обусловлены присутствием на их поверхности фосфатидилсерина, который участвует в сборке коагуляционных комплексов. Образование МЧ стимулируется повышением концентрации внутриклеточного кальция, тромбином, компонентами системы комплемента, медиаторами воспаления, АДФ, адреналином, гипоксией, апоптозом [32].

Значимость микрочастиц в трансфузионной медицине признало управление по контролю за продуктами питания и лекарствами США, поскольку микрочастицы присутствуют как в плазме, так и в клеточных продуктах крови. Данные крупнейших банков крови в США установили, что средний состав тромбоцитов составляет 49% активированных (с высоким содержанием микрочастиц) и 51% неактивированных [33].

При изучении процесса активации тромбоцитов микрочастицы оценивают количественно с учетом их митохондриального содержимого в КТ. Микрочастицы неоднородны по наличию или отсутствию митохондрий. Установлено, что МЧ и внеклеточные митохондрии, как маркеры активации тромбоцитов, значительно увеличиваются в КТ, однако остаются стабильными на протяжении всего срока хранения. Более выраженное увеличение наблюдалось в КТ, полученном из богатой тромбоцитами плазмы, по сравнению с КТ, заготовленным из ЛТС или при аферезе при сроке хранения в течение 7 дней. Следовательно, способ приготовления, а не продолжительность хранения, влияет на высвобождение микрочастиц и митохондрий в КТ [34].

Детали происхождения и состава микрочастиц в настоящее время продолжают изучаться, но полученные результаты могут быть противоречивы, в виду отсутствия стандартизированных методов исследования микрочастиц [35]. Тромбоцитарные

микрочастицы участвуют в формировании межклеточных контактов и способствуют развитию воспалительных реакций [36]. Взаимодействуя с лейкоцитами микрочастицы тромбоцитов повышают их адгезивность, активируют процесс взаимодействия нейтрофильных гранулоцитов как с эндотелиальными клетками, так и с тромбоцитами. Образование тромбоцитарных микрочастиц способствует иммунным реакциям в виду высокого содержания в них провоспалительных цитокинов (IL-8, IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ), различных хемокинов и липидных медиаторов [10, 37]. При воспалительных и тромботических состояниях количество образуемых микрочастиц существенно увеличивается [38].

Количество МЧ на 5 дней хранения КТ в результате активации и старения тромбоцитов увеличивается в 2 раза [39,40]. Образование микрочастиц во время хранения происходит по мере того, как везикулярные фрагменты плазматической мембраны тромбоцитов отделяются от клеток. Выбор антикоагулянта в образце влияет на степень активации тромбоцитов и, следовательно, на содержание микрочастиц [35]. Показано, что высокие уровни микрочастиц тромбоцитарного происхождения связаны с неблагоприятными трансфузионными реакциями [41]. Следовательно, наличие микрочастиц может быть предиктором снижения качества и клинической эффективности КТ [42].

В последние годы активно изучается еще один механизм, обуславливающий развитие повреждений при хранении тромбоцитов касающийся молекулярной регуляции мРНК. Внутри тромбоцитарных микрочастиц могут находиться нуклеиновые кислоты (мРНК, в том числе и не кодирующие микроРНК). Отметим, что уровень микроРНК может быть одним из маркеров активации тромбоцитов при хранении, а также коррелировать с условиями их хранения [43–45]. S. Singh с соавторами сравнивая КТ, полученные различными способами, выявили значительные различия в степени изменений, происходящих в тромбоцитах при хранении [46].

Клиническая эффективность трансфузий и безопасность пациентов напрямую зависит от качества КТ [29,47]. В среднем тромбоциты переливают для профилактики кровотечения в 3,6 раза чаще, чем для остановки кровотечения. На клиническую эффективность трансфузии оказывают влияние факторы, связанные как с характеристиками донора, так и с характеристиками полученного КТ [37]. Количество МЧ в КТ зависит от индивидуальных особенностей донора. Но спорным остается вопрос о наличии *in vivo* донорских микрочастиц, возможности их перехода в конечный компонент крови, а также о влиянии метода производства с последующей обработкой на образование микрочастиц [48]. Так, по некоторым данным повышенное содержание микрочастиц в донорской крови может повлиять на реципиента и быть условием, определяющим безопасность и качество КТ [35]. Отметим,

что в настоящее время ни один тест *in vitro* не используется в рутинной практике для характеристики различия между эффективным и неэффективным КТ, что представляет значительный риск для здоровья пациентов.

В клинической практике в качестве оценки эффективности трансфузии КТ используются ряд параметров, оцениваемых у пациента. Прирост количества тромбоцитов после переливания может снижаться с увеличением числа проведенных трансфузий. По некоторым данным до 30% всех трансфузий КТ оказываются неэффективными, что определяется по 24-часовому скорректированному приросту тромбоцитов менее  $4,5 \times 10^9/\text{л}$  (< 5%), соответственно не приводя к желаемому клиническому результату [37, 49].

МЧ являются перспективным маркером оценки клинической эффективности КТ и определение их в КТ может иметь большой потенциал для трансфузионной медицины [50]. Микрочастицы могут быть индикаторами качества благодаря их потенциальной физиологической и патофизиологической роли. Учитывая различные показания и клиническую значимость трансфузий КТ возникает необходимость их оценки в отделениях переливания крови. Следовательно, требуется внедрение рутинного скрининга КТ с помощью простого неинвазивного теста, который оценивает характеристики тромбоцитов, в том числе и их активацию.

*Метод скрининга МЧ при переливании (Активированные и неактивированные тромбоциты).*

Обязательным условием является использование для трансфузионной терапии гемокомпонентов, отвечающих современным требованиям к качеству и безопасности. Более четкое понимание механизма высвобождения МТ во время обработки и хранения компонентов крови с помощью тщательной подготовки образцов и комбинации аналитических методов, имеет важное значение для безопасности трансфузионной терапии. При оценке МЧ должен быть сделан разумный выбор аналитических методов, сочетающих методики, характеризующие клеточное происхождение, численность, размер и функциональную активность микрочастиц. Установлено, что около 33% здоровых доноров сдают предварительно активированные тромбоциты, на что указывает высокий уровень микрочастиц [35,51]. Показан потенциал измерения микрочастиц в образцах тромбоцитов как характеристики качества для производства, хранения, прекращения спонтанной тромбоцитопенической кровоточивости и прироста числа тромбоцитов при трансфузии тромбоцитного концентрата для профилактического и терапевтического переливания [22, 52]. Имеются данные, что пациенты, получающие многократные переливания тромбоцитов, подвержены риску инфекции, посттрансфузионных реакций и развитию рефрактерности [53].

Рефрактерность тромбоцитов, ситуация, при которой у пациента не наблюдается ожидаемого ответа на переливание тромбоцитов является осложнением, наблюдаемым у 27% реципиентов тромбоцитов. Рефрактерность тромбоцитов определяется как две последовательные трансфузии тромбоцитов, приводящие к недостаточному увеличению скорректированного прироста тромбоцитов. В развитии рефрактерности все больше признается клиническая значимость микрочастиц.

Большой интерес вызывает изучение количества МЧ в КТ в связи с клинической эффективностью тромбоконцентрата. Перспективным для оценки качества лейкоредуцированного КТ является определение в нем концентрации МЧ. Однако трансфузии КТ, содержащих большое количество микрочастиц, могут быть клинически неэффективны [54]. Для профилактических переливаний онкогематологическим пациентам, важна длительность циркуляции тромбоцитов в кровотоке для снижения количества трансфузий и, соответственно, снижения аллоиммунизации и посттрансфузионных осложнений. Этим целям, на данный момент, больше соответствует КТ в добавочном растворе лейкоредуцированный, патогенинактивированный, хранящийся при регламентированной нормативными документами температуре ( $22 \pm 2$  °C) при непрерывном помешивании, содержащий, вероятно, меньшее количество микрочастиц. Переливание неактивированных тромбоцитов с профилактическими целями, пациентам с гематологическими и онкологическими заболеваниями, позволит снизить риск развития у них рефрактерности и окажет положительное влияние на течение и исход заболевания.

Показаниями к переливанию активированных тромбоцитов являются массивные кровопотери в результате травм, хирургических вмешательств [55,56]. Для купирования острой кровопотери наиболее значима гемостатическая функция тромбоцитов и не столь важна длительность циркуляции тромбоцитов в кровотоке, так как по мере образования тромбов тромбоциты выводятся из кровотока. Для хирургических или травматологических пациентов трансфузии КТ, содержащих предварительно активированные тромбоциты, будут иметь хорошую эффективность ввиду реализации гемостатической функции для остановки острого кровотечения [56].

***Выбор методик анализа показателей качества тромбоцитов*** (методы диагностики функциональной активности тромбоцитов).

На сегодняшний день оценка функциональной способности тромбоцитов возможна различными методами, включающими как скрининговое тестирование, так и более детальные исследования с углубленным изучением выявленных нарушений после скрининга. Существенно расширяются диагностические возможности для оценки качества

тромбоцитов на основании определения значимого маркера активации тромбоцитов – микрочастиц тромбоцитарного происхождения, циркулирующих микрочастиц (при использовании антител против антигенов CD41/61 или CD42b) [26]. Наиболее распространенный метод оценки функциональной активности тромбоцитов это оптическая агрегатометрия. Еще одним методом оценки функциональной активности тромбоцитов на разных сроках хранения является лазерная проточная цитофлуориметрия. Метод заключается в анализе светорассеяния лазерного луча при прохождении его через клетки в потоке жидкости. Оценка световой дисперсии позволяет получить представление о размерах и структуре клетки. Данным методом изучают функцию тромбоцитов во взвеси отмытых тромбоцитов, в плазме, богатой тромбоцитами и в цельной крови. Концентрация микрочастиц определяется относительно известной концентрации флуоресцентно меченных микросфер размером 1000 нм [57]. Проблемой в использовании данного метода, как диагностического теста является оптимизация и валидация тестового набора, кроме того, определение референтного диапазона. Преимуществом является то, что тромбоциты анализируются без предварительной обработки в их физиологической среде, которая включает эритроциты и лейкоциты, влияющие на активацию тромбоцитов. Этим методом выявляют степень активации тромбоцитов, повышение которой может играть ключевую роль в патогенезе различных заболеваний и ассоциируется с риском развития тромботических осложнений. Однако на сегодняшний день это не самый точный метод определения, вследствие отсутствия стандартизации и ограничения размера анализируемых микрочастиц. Цитометрический анализ применяют и при низкой концентрации тромбоцитов. Однако, применение проточной цитометрии [35,49] может привести к недооценке содержания микрочастиц, вследствие ограничения размера анализируемых МЧ даже в современных высокочувствительных цитометрах. Микрочастицы менее 500 нм и хиломикроны плохо определяются проточной цитометрией на основе рассеяния или динамического светорассеяния в плазме, богатой тромбоцитами, а также при помощи анализа отслеживания наночастиц или настраиваемого резистивного импульсного зондирования в плазме с низким содержанием тромбоцитов [58]. Результат повлияет на точное определение микрочастиц клеточного происхождения в образцах, богатых липидами. Методы проточной цитометрии имеют ограничение и в тех случаях, когда микровезикулы образуют агрегаты или комплексы друг с другом или с клетками [53].

Одним из современных методов анализа концентрации и размера МЧ, таких как тромбоциты (размером 2–3 мкм) является динамическое рассеяние света (ДРС) [37]. Система светорассеяния разрабатывалась с целью преодоления технических ограничений определения

размера микрочастиц и для скрининга переливаемых тромбоцитов [59]. Обнаружение микрочастиц на основе динамического рассеяния света позволяет отличать активированные (с высоким содержанием микрочастиц) от неактивированных (с низким содержанием микрочастиц) тромбоцитов при трансфузии и оптимизировать использование компонента. Методика выполняется путем освещения взвешенных частиц лазерным светом и анализа изменения интенсивности рассеянного света во времени, которое является следствием движения частиц во взвешенном состоянии (рисунок 1).

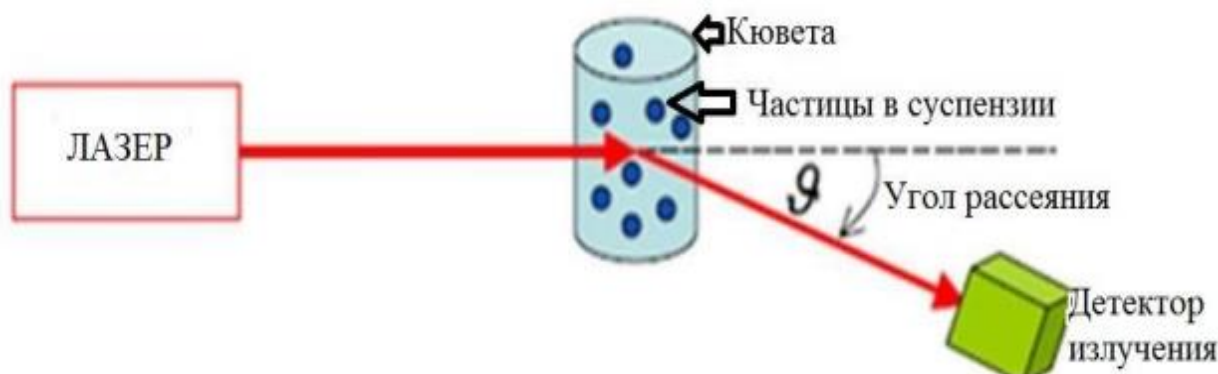


Рисунок 1. Принцип динамического рассеяния света [35]

Кроме того, используется обратная зависимость между скоростью и размером частиц для получения информации о распределении размеров и относительных концентраций микрочастиц в исследуемой пробе. Таким образом, применяя метод динамического светорассеивания можно определить количественное среднее содержание и средний радиус микрочастиц компонента [59].

Заслуживает внимания возможность оценки качества и прогнозирования эффективности клинического применения КТ на основании результатов исследования содержащихся в нем МЧ. Очевидно, что в большинстве случаев увеличение МЧ является следствием и маркером внутрисосудистой активации тромбоцитов. Для измерения микрочастиц в крови и других жидкостях организма может быть использован анализатор ThromboLUX® [60]. Анализатор проводит рутинный скрининг микрочастиц обогащенной тромбоцитами плазмы, или концентратов тромбоцитов, с последующей валидацией результата и формированием заключения о возможности переливания КТ. ThromboLUX®, не используется для характеристики различных субпопуляций микрочастиц, однако он позволяет проводить скрининг микрочастиц концентратов тромбоцитов на различных этапах жизненного цикла. ДРС, применяемое в приборе, представляет собой метод измерения размера микрочастиц, движущихся в суспензии, в образцах нативной, богатой тромбоцитами

плазмы и концентрата тромбоцитов, без удаления тромбоцитов, что важно для рутинного скрининга (рисунок 2).

При определении размера и количества частиц, находящихся в состоянии Броуновского движения, суспензия освещается лазерным лучом. Меньшего размера частицы движутся медленнее, демонстрируют большой доплеровский сдвиг, а большего размера частицы показывают небольшой доплеровский сдвиг. В аферезных тромбоцитах концентрация микрочастиц, рассчитанная по шкале ThromboLUX® (LightIntegra Technology, Inc., Ванкувер, Британская Колумбия, Канада; диапазон 0-40; пороговое значение 12) [37, 33, 61], сильно коррелирует с содержанием микрочастиц, определенным методом проточной цитометрии с коэффициентом корреляции Пирсона  $r = 0,948$ .

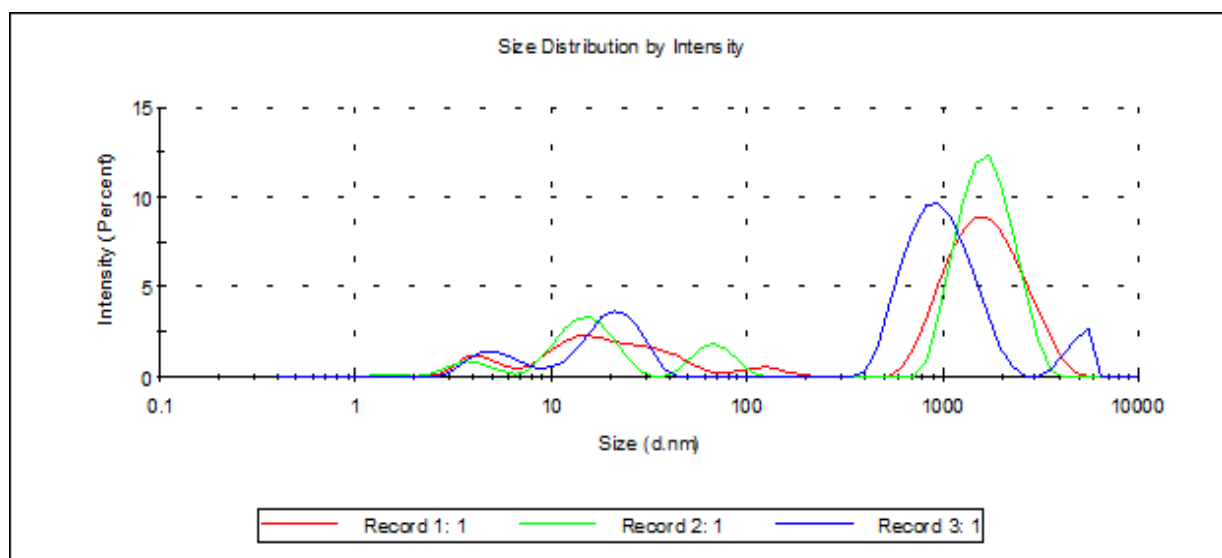


Рисунок 2. Результаты измерений образцов концентратов тромбоцитов. На графиках по оси X отложен размер частиц, а по оси Y – относительный вклад частиц данного размера в интенсивность рассеянного излучения. При этом следует иметь в виду, что интенсивность рассеяния одной частицей резко возрастает с увеличением диаметра, поэтому относительный вклад больших частиц больше, чем вклад малых [37].

Следовательно, идеальный параметр качества для прогнозирования функционирования тромбоцитов после переливания должен позволять различать покоящиеся/жизнеспособные и предварительно активированные/высокофункциональные тромбоциты с одинаковым разрешением по всему спектру жизнеспособности–функциональности. Возникает необходимость определения потенциального маркера – микрочастиц в КТ для сохранения параметров их качества и безопасности (рисунок 3). В плане клинического применения скрининг микрочастиц с помощью ДРС позволит повысить эффективность трансфузий КТ, снизить число переливаний и таким образом профилактировать

рефрактерность к трансфузиям КТ. Наряду с вышеуказанными наработками перспективной является разработка и внедрение отечественной методики с использованием динамического светорассеяния для анализа содержания микрочастиц в концентратах тромбоцитов как одного из критериев контроля качества компонентов крови. Такой подход будет способствовать повышению экономической эффективности за счет преодоления рефрактерности тромбоцитов.

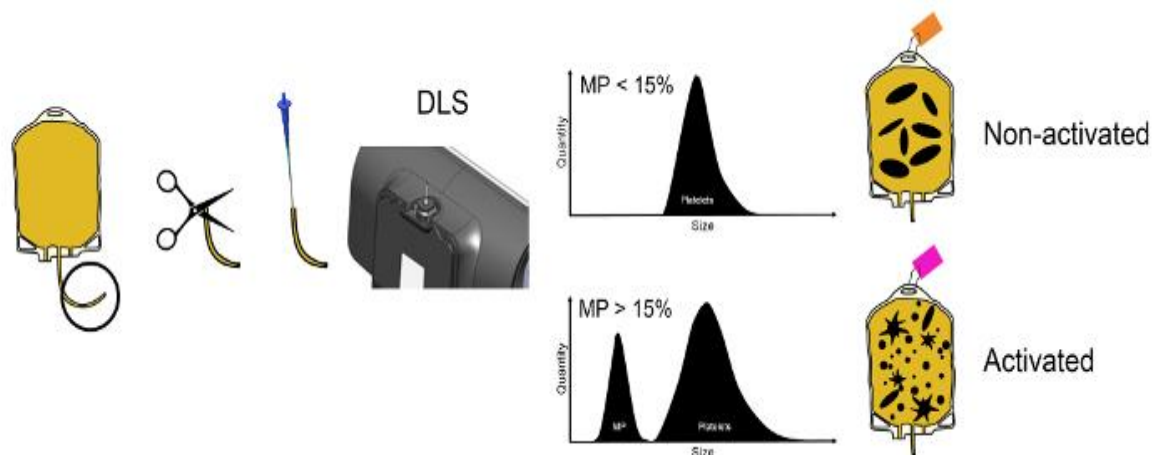


Рисунок 3. Способ выявления содержания микрочастиц позволяющий различать концентраты активированных (Activated) и неактивированных (Non-activated) тромбоцитов [53].

Повышение качества КТ приведет к улучшению клинической эффективности, определяемой приростом числа тромбоцитов после трансфузии, устойчивым гемостазом и снижением риска развития посттрансфузионных реакций у реципиентов.

**Заключение.** Вышеизложенные материалы свидетельствуют о необходимости скрининга микрочастиц в КТ для рационального управления запасами дорогостоящего компонента крови и перспективного планирования трансфузионной терапии. Продолжается поиск метода, позволяющего оценить функциональное состояние тромбоцитов в КТ. Дальнейшие научные исследования помогут определить оптимальный метод контроля качества КТ с учетом активации тромбоцитов на основе скрининга микрочастиц – потенциальных маркеров безопасности. Персонализированное использование концентратов тромбоцитов на основе скрининга содержания микрочастиц, образующихся в результате активации, будет способствовать повышению эффективности и безопасности трансфузионной терапии. Внедрение измерений микрочастиц для контроля качества и безопасности концентратов тромбоцитов поможет устранить влияние инактивации патогенов, добавочных растворов и 7-дневного хранения. Рациональный подход к переливанию КТ с учетом степени

активации тромбоцитов позволит сократить объем заготовки и общее количество лечебных и профилактических трансфузий.

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

**Источники финансирования.** Исследование не имело спонсорской поддержки

**Вклад авторов:** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE.

**Концепция и дизайн:** все авторы.

**Сбор и обработка данных:** Гришина Г.В., Ласточкина Д.В., Голованова И.С.

**Анализ и интерпретация данных:** все авторы.

**Подготовка рукописи:** Гришина Г.В., Кробинец И.И., Матвиенко О.Ю.

**Окончательное одобрение рукописи:** Гришина Г.В., Касьянов А.Д., Бессмельцев С.С.

### Список литературы.

1. Гапонова Т.В., Капранов Н.М., Тихомиров Д.С. и др. Характеристика основных тенденций в работе службы крови Российской Федерации в 2016–2020 годах. *Гематология и трансфузиология*. 2022;67(3):388-397. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2022-67-3-388-397>.
2. Даваасамбуу Б., Грицаев С.В., Глазанова Т.В. и др. Эффективность трансфузий тромбоконцентрата при острых миелоидных лейкозах в период проведения стандартной индукционной химиотерапии. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*. 2014; 7(2):213-219.
3. Чечеткин А.В., Макеев А.Б., Киселева Е.А. Обеспечение безопасности и качества тромбоцитов для трансфузий онкогематологическим больным. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 1(1):80.
4. Румянцев А.Г., Мадзаев С.Р., Филина Н.Г. и др. Эффективность переливания тромбоцитов. *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа*. 2015;2:16–24.
5. Hegde S, Akbar H, Zheng Y, Cancelas JA. Towards increasing shelf life and haemostatic potency of stored platelet concentrates. *Curr Opin Hematol*. 2018 Nov;25(6):500-508.
6. Arraud N., Linares R., Tan S. et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *J Thromb Haemost*. 2014; 12:614-27.
7. Greening D.W., Simpson R.J., Sparrow R. L. Preparation of platelet concentrates for research and transfusion purposes. *Methods Mol. Biol*. 2017;1619:31-42.
8. Vasconcelos E., Figueiredo A. C., Seghatchian J. Quality of platelet concentrates derived by platelet rich plasma, buffy coat and apheresis. *Transfus Apher Sci*. 2003 Aug;29(1):13-16.
9. Bohec P, Gachelin J, Ollivier V. et al. Acoustophoretic purification of platelets: feasibility and impact on platelet activation and function. *Platelets*. 2019;30(2):174-180.

10. Колесникова И.М., Ройтман Е.В., Карпова О.В., Румянцев С.А. Изменение гемостатических свойств тромбоцитов при хранении тромбоцитных концентратов. *Медицинский алфавит*. 2016;3 (19):61-62.
11. Vucic M, Stanojkovic Z, Antic A, Vucic J, Pavlovic V. Evaluation of platelet activation in leukocyte-depleted platelet concentrates during storage. *Bosn J Basic Med Sci*. 2018 Feb 20;18(1):29-34. doi: 10.17305/bjbms.2017.2321.
12. Singh S, Shams Hakimi C, 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.
13. Wang S, Yuan J, Yang J et al. Advancement of platelet-inspired nanomedicine. *Platelets*. 2018;29(7):690-694. doi: 10.1080/09537104.2018.1475633
14. Sen Gupta A. Bio-inspired nanomedicine strategies for artificial blood components. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2017;9(6):10.1002/wnan.1464.
15. Пальцын А.А. Микрочастицы тромбоцитов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(1): 99–105. <https://pfiet.ru/article/view/440/354>. Russian
16. Shea SM, Thomas KA, Spinella PC. The effect of platelet storage temperature on haemostatic, immune, and endothelial function: potential for personalised medicine. *Blood Transfus*. 2019;17(4):321-330. doi: 10.2450/2019.0095-19.
17. Milford EM, Reade MC. Comprehensive review of platelet storage methods for use in the treatment of active hemorrhage. *Transfusion*. 2016;56 (2): 140-148. doi: 10.1111/trf.13504.
18. Bynum JA, Meledeo MA, Getz TM et al. Bioenergetic profiling of platelet mitochondria during storage: 4°C storage extends platelet mitochondrial function and viability. *Transfusion*. 2016;56 (1):76-84. doi: 10.1111/trf.13337.
19. Ng MSY, Tung JP, Fraser JF. Platelet Storage Lesions: What More Do We Know Now? *Transfus Med Rev*. 2018 Apr 17: S0887-7963(17)30189-X. doi: 10.1016/j.tmr.2018.04.001.
20. Жибурт Е.Б., Хамитов Р.Г., Похабов Д.С. и др. Обновление европейских правил заготовки и переливания крови. *Трансфузиология*. 2024; 25(1):30-38.
21. Горожанская Э.Г., Свиридова С.П., Байкова В.Н. и др. Окислительный стресс в тромбоцитах при онкопатологии. *Биомедицинская химия*. 2015;61(4):519-525.
22. Maurer-Spurej E, Chipperfield K. Past and future approaches to assess the quality of platelets for transfusion. *Transfus Med Rev*. 2007;21(4):295-306. doi: 10.1016/j.tmr.2007.05.005.
23. Aubron C, Flint AWJ, Ozier Y, McQuilten Z. Platelet storage duration and its clinical and transfusion outcomes: a systematic review. *Crit Care*. 2018 Aug 5;22(1):185.

24. Карпова О.В., Ройтман Е.В., Игнатова А.А. Оценка качества тромбоцитного концентрата, заготовленного методом афереза с использованием добавочного раствора SSP+. *Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2014; 13(2): 20–4.
25. Handigund M., Cho Y.G. Insights into platelet storage and the need for multiple approaches. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2015;45(6):713-9. PMID: 26663804.
26. Sut C, Aloui C, Tariket S et al. Assessment of soluble platelet CD40L and CD62P during the preparation process and the storage of apheresis platelet concentrates: Absence of factors related to donors and donations. *Transfus. Clin. Biol.* 2018;25(3):192-196. doi: 10.1016/j.traccli.
27. Millar D, Hayes C, Jones J et al. Comparison of the platelet activation status of single-donor platelets obtained with two different cell separator technologies. *Transfusion*. 2020;60(9):2067-2078. doi: 10.1111/trf.15934.
28. Reddoch-Cardenas KM, Montgomery RK, Lafleur CB et al. Cold storage of platelets in platelet additive solution: an in vitro comparison of two Food and Drug Administration-approved collection and storage systems. *Transfusion*. 2018;58(7):1682-1688. doi: 10.1111/trf.14603.
29. Кищенко В.В., Сироткина О.В., Сидоркевич С.В., Вавилова Т.В. Тромбоцитарные везикулы—потенциальный маркер качества концентрата тромбоцитов. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2020; 77 (4): 93–101.
30. Халиулин А.В., Гусякова О.А., Козлов А.В., Габрильчак А.И. Процессы метаболизма и механизмы регуляции активности тромбоцитов (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (3): 164-169.
31. Noolsri E, Lerdwana S. Quantitation of phosphatidylserine-exposing platelets and platelet-derived microparticles in platelet products: A new strategy to improve efficacy of platelet transfusion. *Med Hypotheses*. 2020; 145:110306. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110306.
32. Antwi-Baffour S., Adjei J., Aryeh C. et al. Understanding the biosynthesis of platelets-derived extracellular vesicles. *Immun Inflamm Dis*. 2015; 3(3):133-40.
33. Maurer-Spurej E, Brown K, Labrie A et al. Portable dynamic light scattering instrument and method for the measurement of blood platelet suspensions. *Physics in Medicine and Biology*. 2006;51(15):3747–3758.
34. Marcoux G, Duchez AC, Rousseau M et al. Microparticle and mitochondrial release during extended storage of types of platelet concentrates. *Platelets*. 2017;28(3):272-280.
35. Maurer-Spurej E., Larsen R., Labrie A. et al. Microparticle content of platelet concentrates is predicted by donor microparticles and is altered by production methods and stress. *Transfusion and Apheresis Science*. 2016;55(1):35–43. doi: 10.1016/j.transci.2016.07.010.

36. Cognasse F, Hamzeh-Cognasse H, Laradi S et al. The role of microparticles in inflammation and transfusion: A concise review. *Transfus Apher Sci.* 2015;53(2):159-67.
37. Labrie A, Marshall A, Bedi H, Maurer-Spurej E. Characterization of platelet concentrates using dynamic light scattering. *Transfus Med Hemother.* 2013;40(2):93-100.
38. Elvira L, Fernández A, León L et al. Evaluation of the Cell Concentration in Suspensions of Human Leukocytes by Ultrasound Imaging: The Influence of Size Dispersion and Cell Type. *Sensors (Basel).* 2023;23(2):977. doi: 10.3390/s23020977.
39. Maurer-Spurej E, Chipperfield K. Could Microparticles Be the Universal Quality Indicator for Platelet Viability and Function? *J Blood Transfus.* 2016;2016:6140239.
40. Saas P, Angelot F, Bardiaux L et al. Phosphatidylserine-expressing cell by-products in transfusion: A pro-inflammatory or an anti-inflammatory effect? *Transfus Clin Biol.* 2012 Jun;19(3):90-7. doi: 10.1016/j.tracli.2012.02.002.
41. Gilstad CW. Anaphylactic transfusion reactions. *Curr Opin Hematol.* 2003;10:419–423.
42. Pienimaeki-Roemer A., Kuhlmann K., Böttcher A et al. Lipidomic and proteomic characterization of platelet extracellular vesicle subfractions from senescent platelets. *Transfusion.* 2015;55(3):507–521. doi: 10.1111/trf.12874.
43. Yan Y, Zhang J, Zhang Q et al. The role of microRNAs in platelet biology during storage. *Transfus Apher Sci.* 2017;56(2):147-150. doi: 10.1016/j.transci.2016.10.010.
44. Mukai N, Nakayama Y, Ishi S et al. Cold storage conditions modify microRNA expressions for platelet transfusion. *PLoS One.* 2019;14(7): e0218797. doi: 10.1371/journal.pone.0218797.
45. Elgendy W, Swelem R, Aboudiba N, Elwafa RA. Role of MicroRNA-326 and its Target Genes Bcl-xL and Bak as Potential Markers in Platelet Storage Lesion in Blood Banks. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2022 Oct;38(4):731-738. doi: 10.1007/s12288-022-01542-0.
46. Singh S, Shams Hakimi C, 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.
47. Raczat T, Kraemer L, Gall C et al. The influence of four different anticoagulants on dynamic light scattering of platelets. *Vox Sang.* 2014;107(2):196–199.
48. Kanzler P, Mahoney A, Leitner G et al. Microparticle detection to guide platelet management for the reduction of platelet refractoriness in children - A study proposal. *Transfus Apher Sci.* 2017;56(1):39-44. doi: 10.1016/j.transci.2016.12.016.
49. Sigle JP, Medinger M, Stern M et al. Prospective change control analysis of transfer of platelet concentrate production from a specialized stem cell transplantation unit to a blood transfusion center. *J Clin Apheresis.* 2012;27:178–182.

50. Black A., Pienimaeki-Roemer A., Kenyon O et al. Platelet-derived extracellular vesicles in plateletpheresis concentrates as a quality control approach. *Transfusion*. 2015;55(9):2184–2196. doi: 10.1111/trf.13128.
51. Apelseth T. O., Bruserud Ø., Wentzel-Larsen T., Hervig T. Therapeutic efficacy of platelet transfusion in patients with acute leukemia: an evaluation of methods. *Transfusion*. 2010;50(4):766–775. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02540.x.
52. Johnson L., Tan S., Wood B. et al. Refrigeration and cryopreservation of platelets differentially affect platelet metabolism and function: a comparison with conventional platelet storage conditions. *Transfusion*. 2016;56(7):1807–1818. doi: 10.1111/trf.13630.
53. Millar D, Murphy L, Labrie A, Maurer-Spurej E. Routine Screening Method for Microparticles in Platelet Transfusions. *J Vis Exp*. 2018;31;(131):56893. doi: 10.3791/56893.
54. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 2. Тромбоциты как участники иммунных реакций. *Медицинская иммунология*. 2019;21(1):9-20. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-1-9-20>
55. Ramsey M.T., Fabian T.C., Shahan C.P. et al. A prospective study of platelet function in trauma patients. *J Trauma. Acute Care Surgery*. 2016; 80 (5): 726–33.
56. Пономаренко Е.А., Игнатова А.А., Федорова Д.В. и др. Функциональная активность тромбоцитов: физиология и методы лабораторной диагностики. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2019; 18 (3): 112–119.
57. Xu Y., Nakane N., Maurer-Spurej E. Novel test for microparticles in platelet-rich plasma and platelet concentrates using dynamic light scattering. *Transfusion*. 2011;51(2):363–370. doi: 10.1111/j.1537-2995.2010.02819.x
58. Foster B. P., Balassa T., Benen T. D. et al. Extracellular vesicles in blood, milk and body fluids of the female and male urogenital tract and with special regard to reproduction. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2016:1–17.
59. Simak J., Gelderman M. P. Cell membrane microparticles in blood and blood products: potentially pathogenic agents and diagnostic markers. *Transfusion Medicine Reviews*. 2006;20(1):1–26. doi: 10.1016/j.tmr.2005.08.001.
60. Boilard E., Duchez A.-C., Brisson A. The diversity of platelet microparticles. *Current Opinion in Hematology*. 2015;22(5):437–444. doi: 10.1097/MOH.000000000000166.
61. Сироткина О.В. Исследование функциональной активности тромбоцитов: история, современность, перспективы. *Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике*. 2010; 15:60-74.

## References

1. Gaponova T.V., Kapranov N.M., Tihomirov D.S. i dr. Harakteristika osnovnyh tendencij v rabote sluzhby krovi Rossijskoj Federacii v 2016–2020 godah. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2022;67(3):388-397. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2022-67-3-388-397> (in Russian).
2. Davaasambuu B., Gricaev S.V., Glazanova T.V. i dr. Effektivnost transfuzij trombokoncentrata pri ostryh mieloidnyh lejkozah v period provedeniya standartnoj indukcionnoj himioterapii. *Klinicheskaya onkogematologiya. Fundamentalnye issledovaniya i klinicheskaya praktika*. 2014; 7(2):213-219 (in Russian).
3. Chechetkin A.V., Makeev A.B., Kiseleva E.A. Obespechenie bezopasnosti i kachestva trombocitov dlya transfuzij onkogematologicheskimi bolnym. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2016; 1(1):80 (in Russian).
4. Rumyanцев A.G., Madzaev S.R., Filina N.G. i dr. Effektivnost perelivaniya trombocitov. *Gematologiya. Transfuziologiya. Vostochnaya Evropa*. 2015;2:16–24 (in Russian).
5. Hegde S, Akbar H, Zheng Y, Cancelas JA. Towards increasing shelf life and haemostatic potency of stored platelet concentrates. *Curr Opin Hematol*. 2018 Nov;25(6):500-508.
6. Arraud N., Linares R., Tan S. et al. Extracellular vesicles from blood plasma: determination of their morphology, size, phenotype and concentration. *J Thromb Haemost*. 2014; 12:614-27.
7. Greening D.W., Simpson R.J., Sparrow R. L. Preparation of platelet concentrates for research and transfusion purposes. *Methods Mol. Biol*. 2017;1619:31-42.
8. Vasconcelos E., Figueiredo A. C., Seghatchian J. Quality of platelet concentrates derived by platelet rich plasma, buffy coat and apheresis. *Transfus Apher Sci*. 2003 Aug;29(1):13-16.
9. Bohec P, Gachelin J, Ollivier V. et al. Acoustophoretic purification of platelets: feasibility and impact on platelet activation and function. *Platelets*. 2019;30(2):174-180.
10. Kolesnikova I.M., Rojzman E.V., Karpova O.V., Rumyanцев S.A. Izmenenie gemostaticheskikh svojstv trombocitov pri hranenii trombocitnykh koncentratov. *Medicinskij alfavit*. 2016;3 (19):61-62 (in Russian).
11. Vucic M, Stanojkovic Z, Antic A, Vucic J, Pavlovic V. Evaluation of platelet activation in leukocyte-depleted platelet concentrates during storage. *Bosn J Basic Med Sci*. 2018 Feb 20;18(1):29-34. doi: 10.17305/bjbms.2017.2321.
12. Singh S, Shams Hakimi C, 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.
13. Wang S, Yuan J, Yang J et al. Advancement of platelet-inspired nanomedicine. *Platelets*. 2018;29(7):690-694. doi: 10.1080/09537104.2018.1475633

14. Sen Gupta A. Bio-inspired nanomedicine strategies for artificial blood components. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*. 2017;9(6):10.1002/wnan.1464.
15. Palcyn A.A. Mikrochasticy trombocitov. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2017; 61(1): 99–105. <https://pfiet.ru/article/view/440/354>. Russian
16. Shea SM, Thomas KA, Spinella PC. The effect of platelet storage temperature on haemostatic, immune, and endothelial function: potential for personalised medicine. *Blood Transfus*. 2019;17(4):321-330. doi: 10.2450/2019.0095-19.
17. Milford EM, Reade MC. Comprehensive review of platelet storage methods for use in the treatment of active hemorrhage. *Transfusion*. 2016;56 (2): 140-148. doi: 10.1111/trf.13504.
18. Bynum JA, Meledeo MA, Getz TM et al. Bioenergetic profiling of platelet mitochondria during storage: 4°C storage extends platelet mitochondrial function and viability. *Transfusion*. 2016;56 (1):76-84. doi: 10.1111/trf.13337.
19. Ng MSY, Tung JP, Fraser JF. Platelet Storage Lesions: What More Do We Know Now? *Transfus Med Rev*. 2018; S0887-7963(17)30189-X. doi: 10.1016/j.tmr.2018.04.001.
20. Zhiburt E.B., Hamitov R.G, Pohabov D.S. i dr. Obnovlenie evropejskih pravil zagotovki i perelivaniya krovi. *Transfuziologiya*. 2024; 25(1):30-38 (in Russian).
21. Gorozhanskaya E.G., Sviridova S.P., Bajkova V.N. i dr. Okislitelnyj stress v trombocitah pri onkopatologii. *Biomedicinskaya himiya*. 2015;61(4):519-525 (in Russian).
22. Maurer-Spurej E, Chipperfield K. Past and future approaches to assess the quality of platelets for transfusion. *Transfus Med Rev*. 2007;21(4):295-306. doi: 10.1016/j.tmr.2007.05.005.
23. Aubron C, Flint AWJ, Ozier Y, McQuilten Z. Platelet storage duration and its clinical and transfusion outcomes: a systematic review. *Crit Care*. 2018;22(1):185.
24. Karpova O.V., Rojzman E.V., Ignatova A.A. Ocenka kachestva trombocitnogo koncentrata, zagotovlennogo metodom afereza s ispolzovaniem dobavochnogo rastvora SSP+. *Voprosy gematologii, onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2014; 13(2): 20–4 (in Russian).
25. Handigund M., Cho Y.G. Insights into platelet storage and the need for multiple approaches. *Ann. Clin. Lab. Sci*. 2015;45(6):713-9. PMID: 26663804.
26. Sut C, Aloui C, Tariket S et al. Assessment of soluble platelet CD40L and CD62P during the preparation process and the storage of apheresis platelet concentrates: Absence of factors related to donors and donations. *Transfus. Clin. Biol*. 2018;25(3):192-196. doi: 10.1016/j.tracbi.2018.03.001.
27. Millar D, Hayes C, Jones J et al. Comparison of the platelet activation status of single-donor platelets obtained with two different cell separator technologies. *Transfusion*. 2020;60(9):2067-2078. doi: 10.1111/trf.15934.

28. Reddoch-Cardenas KM, Montgomery RK, Lafleur CB et al. Cold storage of platelets in platelet additive solution: an in vitro comparison of two Food and Drug Administration-approved collection and storage systems. *Transfusion*. 2018;58(7):1682-1688. doi: 10.1111/trf.14603.
29. Kishenko V.V., Sirotkina O.V., Sidorkevich S.V., Vavilova T.V. Trombocitarnye vezikuly–potencialnyj marker kachestva koncentrata trombocitov. *Profilakticheskaya i klinicheskaya medicina*. 2020; 77 (4): 93–101 (in Russian).
30. Haliulin A.V., Gussyakova O.A., Kozlov A.V., Gabrilchak A.I. Processy metabolizma i mehanizmy regulyacii aktivnosti trombocitov (obzor literatury). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2019; 64 (3): 164-169 (in Russian).
31. Noulisri E, Lerdwana S. Quantitation of phosphatidylserine-exposing platelets and platelet-derived microparticles in platelet products: A new strategy to improve efficacy of platelet transfusion. *Med Hypotheses*. 2020; 145:110306. doi: 10.1016/j.mehy.2020.110306.
32. Antwi-Baffour S., Adjei J., Aryeh C. et al. Understanding the biosynthesis of platelets-derived extracellular vesicles. *Immun Inflamm Dis*. 2015; 3(3):133-40.
33. Maurer-Spurej E, Brown K, Labrie A et al. Portable dynamic light scattering instrument and method for the measurement of blood platelet suspensions. *Physics in Medicine and Biology*. 2006;51(15):3747–3758.
34. Marcoux G, Duchez AC, Rousseau M et al. Microparticle and mitochondrial release during extended storage of types of platelet concentrates. *Platelets*. 2017;28(3):272-280.
35. Maurer-Spurej E., Larsen R., Labrie A. et al. Microparticle content of platelet concentrates is predicted by donor microparticles and is altered by production methods and stress. *Transfusion and Apheresis Science*. 2016;55(1):35–43. doi: 10.1016/j.transci.2016.07.010.
36. Cognasse F, Hamzeh-Cognasse H, Laradi S et al. The role of microparticles in inflammation and transfusion: A concise review. *Transfus Apher Sci*. 2015;53(2):159-67.
37. Labrie A, Marshall A, Bedi H, Maurer-Spurej E. Characterization of platelet concentrates using dynamic light scattering. *Transfus Med Hemother*. 2013;40(2):93-100.
38. Elvira L, Fernández A, León L et al. Evaluation of the Cell Concentration in Suspensions of Human Leukocytes by Ultrasound Imaging: The Influence of Size Dispersion and Cell Type. *Sensors (Basel)*. 2023;23(2):977. doi: 10.3390/s23020977.
39. Maurer-Spurej E, Chipperfield K. Could Microparticles Be the Universal Quality Indicator for Platelet Viability and Function? *J Blood Transfus*. 2016;2016:6140239.
40. Saas P, Angelot F, Bardiaux L et al. Phosphatidylserine-expressing cell by-products in transfusion: A pro-inflammatory or an anti-inflammatory effect? *Transfus Clin Biol*. 2012 Jun;19(3):90-7. doi: 10.1016/j.traccli.2012.02.002.

41. Gilstad CW. Anaphylactic transfusion reactions. *Curr Opin Hematol*. 2003;10:419–423.
42. Pienimaeki-Roemer A., Kuhlmann K., Böttcher A et al. Lipidomic and proteomic characterization of platelet extracellular vesicle subfractions from senescent platelets. *Transfusion*. 2015;55(3):507–521. doi: 10.1111/trf.12874.
43. Yan Y, Zhang J, Zhang Q et al. The role of microRNAs in platelet biology during storage. *Transfus Apher Sci*. 2017;56(2):147-150. doi: 10.1016/j.transci.2016.10.010.
44. Mukai N, Nakayama Y, Ishi S et al. Cold storage conditions modify microRNA expressions for platelet transfusion. *PLoS One*. 2019;14(7): e0218797. doi: 10.1371/journal.pone.0218797.
45. Elgendy W, Swelem R, Aboudiba N, Elwafa RA. Role of MicroRNA-326 and its Target Genes Bcl-xL and Bak as Potential Markers in Platelet Storage Lesion in Blood Banks. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2022 Oct;38(4):731-738. doi: 10.1007/s12288-022-01542-0.
46. Singh S, Shams Hakimi C, 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.
47. Raczat T, Kraemer L, Gall C et al. The influence of four different anticoagulants on dynamic light scattering of platelets. *Vox Sang*. 2014;107(2):196–199.
48. Kanzler P, Mahoney A, Leitner G et al. Microparticle detection to guide platelet management for the reduction of platelet refractoriness in children - A study proposal. *Transfus Apher Sci*. 2017;56(1):39-44. doi: 10.1016/j.transci.2016.12.016.
49. Sigle JP, Medinger M, Stern M et al. Prospective change control analysis of transfer of platelet concentrate production from a specialized stem cell transplantation unit to a blood transfusion center. *J Clin Apheresis*. 2012;27:178–182.
50. Black A., Pienimaeki-Roemer A., Kenyon O et al. Platelet-derived extracellular vesicles in plateletpheresis concentrates as a quality control approach. *Transfusion*. 2015;55(9):2184–2196. doi: 10.1111/trf.13128.
51. Apelseth T. O., Bruserud Ø., Wentzel-Larsen T., Hervig T. Therapeutic efficacy of platelet transfusion in patients with acute leukemia: an evaluation of methods. *Transfusion*. 2010;50(4):766–775. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02540.x.
52. Johnson L., Tan S., Wood B. et al. Refrigeration and cryopreservation of platelets differentially affect platelet metabolism and function: a comparison with conventional platelet storage conditions. *Transfusion*. 2016;56(7):1807–1818. doi: 10.1111/trf.13630.
53. Millar D, Murphy L, Labrie A, Maurer-Spurej E. Routine Screening Method for Microparticles in Platelet Transfusions. *J Vis Exp*. 2018;31;(131):56893. doi: 10.3791/56893.

54. Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakuceni P.P. Trombocity kak aktivatory i regulatory vospalitelnyh i immunnyh reakcij. Chast 2. Trombocity kak uchastniki immunnyh reakcij. *Medicinskaya immunologiya*. 2019;21(1):9-20. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-1-9-20> (in Russian).
55. Ramsey M.T., Fabian T.C., Shahan C.P. et al. A prospective study of platelet function in trauma patients. *J Trauma. Acute Care Surgery*. 2016; 80 (5): 726–33.
56. Ponomarenko E.A., Ignatova A.A., Fedorova D.V. i dr. Funkcionalnaya aktivnost trombocitov: fiziologiya i metody laboratornoj diagnostiki. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2019; 18 (3): 112–119 (in Russian).
57. Xu Y., Nakane N., Maurer-Spurej E. Novel test for microparticles in platelet-rich plasma and platelet concentrates using dynamic light scattering. *Transfusion*. 2011;51(2):363–370. doi: 10.1111/j.1537-2995.2010.02819.x
58. Foster B. P., Balassa T., Benen T. D. et al. Extracellular vesicles in blood, milk and body fluids of the female and male urogenital tract and with special regard to reproduction. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2016:1–17.
59. Simak J., Gelderman M. P. Cell membrane microparticles in blood and blood products: potentially pathogenic agents and diagnostic markers. *Transfusion Medicine Reviews*. 2006;20(1):1–26. doi: 10.1016/j.tmr.2005.08.001.
60. Boilard E., Duchez A.-C., Brisson A. The diversity of platelet microparticles. *Current Opinion in Hematology*. 2015;22(5):437–444. doi: 10.1097/MOH.0000000000000166.
61. Sirotkina O.V. Issledovanie funkcionalnoj aktivnosti trombocitov: istoriya, sovremennost, perspektivy. *Molekulyarno-biologicheskie tehnologii v medicinskoj praktike*. 2010; 15:60-74 (in Russian).