

Оптимизация выбора фракции, богатой тромбоцитами плазмы, для хирургического лечения макулярных разрывов



В.Н. Казайкин



Н.С. Демченко



А.Ю. Клейменов

АО «Екатеринбургский центр МНТК «Микрохирургия глаза»
ул. Академика Бардина, 4а, Екатеринбург, 620149, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2023;20(4):664–674

Цель: на основе клинического и морфофункционального анализа восстановления сетчатки и оценки клеточного состава, богатой тромбоцитами плазмы, определить ее оптимальную фракцию для хирургического лечения макулярного разрыва. **Пациенты и методы.** В настоящем исследовании представлены результаты 120 случаев хирургического лечения глаз с макулярным разрывом. Пациенты были разделены на 2 группы. В 1-й группе (60 глаз) применена разработанная в нашей клинике технология без использования послеоперационной тампонады витреальной полости, но с применением аутологичной богатой тромбоцитами плазмы (БотП), во 2-й — традиционная технология лечения макулярных разрывов (60 глаз). Проанализирован клеточный состав БотП 30 пациентов. **Результаты.** Через 2 месяца после операции у 119 пациентов наблюдалось восстановление всех слоев сетчатки в области макулярного разрыва и зафиксирована положительная динамика остроты зрения в сравнении с дооперационным периодом. После наблюдения в течение 6 месяцев после операции случаи рецидива макулярного разрыва не выявлены. **Заключение.** Лечебное значение БотП заключается в тампонирующем и регенераторном эффекте. По результатам настоящего исследования для хирургии макулярного разрыва рационально использовать плазму из слоя чистой богатой тромбоцитами плазмы (P-PRP), которая содержит достаточное количество тромбоцитов, способных оказать положительный терапевтический эффект, и минимальное количество лейкоцитов, способных выполнить функции иммунной защиты и репарации сетчатки и окружающих тканей.

Ключевые слова: макулярный разрыв, богатая тромбоцитами плазма

Для цитирования: Казайкин В.Н., Демченко Н.С., Клейменов А.Ю. Оптимизация выбора фракции, богатой тромбоцитами плазмы, для хирургического лечения макулярных разрывов. *Офтальмология*. 2023;20(4):664–674. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2023-4-664-674>

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

Конфликт интересов отсутствует



Optimization of Platelet-Rich Plasma Fraction Selection for Surgical Treatment of Macular Holes

V.N. Kazaykin, N.S. Demchenko, A.Yu. Kleimenov

Eye Microsurgery Ekaterinburg Center

Academician Bardin str., 4A, Ekaterinburg, 620149, Russian Federation

ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2023;20(4):664–674

Objective: based on clinical and morpho — functional analysis of retinal restoration and assessment of the cellular composition of platelet-rich plasma, to determine its optimal fraction for surgical treatment of macular hole. **Materials and methods.** This study presents the results of 120 cases of surgical treatment of eyes with macular hole. The patients were divided into 2 groups. In the 1st group (60 eyes), the technology developed in our clinic was used without the use of postoperative tamponade of the vitreal cavity and the use of autologous platelet-rich plasma (PRP), in the 2nd — traditional technology for the treatment of macular hole s (60 eyes). The cellular composition of the PRP of 30 patients was analyzed. **Results.** 2 months after surgery, 119 patients had the restoration of all retinal layers in the macular hole area and positive dynamics of visual acuity was recorded in comparison with the preoperative period. After observation for 6 months after surgery, cases of recurrence of macular hole were not detected. **Conclusion.** The therapeutic value of BoTP lies in the tamponing and regenerative effect. According to the results of this study, for maculrupture surgery, it is rational to use plasma from a layer of pure platelet-rich plasma (P-PRP), which contains a sufficient number of platelets capable of having a positive therapeutic effect, and a minimum number of leukocytes capable of performing the functions of immune protion and repair of the retiand surrounding tissues.

Keywords: macular hole, platelet-rich plasma

For citation: Kazaykin V.N., Demchenko N.S., Kleimenov A.Yu. Optimization of Platelet-Rich Plasma Fraction Selection for Surgical Treatment of Macular Holes. *Ophthalmology in Russia*. 2023;20(4):664–674. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2023-4-664-674>

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned

There is no conflict of interests

ВСТУПЛЕНИЕ

Макулярный разрыв (МР) относится к ведущим причинам необратимой потери зрения и слепоты в развитых странах мира в возрасте старше 50 лет [1]. Классическим методом хирургического лечения МР является 3-портовая витрэктомия с последующим окрашиванием и удалением внутренней пограничной мембраны (ВПМ) вокруг разрыва и тампонада витреальной полости газовой смесью. Данная техника позволяет достичь практически 100 % успеха при малых и средних разрывах [2]. В случае МР большого диаметра (>400 мкм) вероятность несмыкания и рецидива МР при традиционной хирургии снижается до 69,0–94,4 %, а при ПЗО ≥ 26 мм — до 38,9–88,4 % [3, 4].

В настоящее время в мировой практике хирургического лечения осложненных МР известны методы перевернутого лоскута ВПМ в различных модификациях, пересадка свободного лоскута ВПМ, гидродиссекция макулы, аркуатная и радиальная ретиномия, трансплантация амниотической мембраны человека, аутологичная трансплантация сетчатки [5–7].

Для упрощения выбора тактики хирургического лечения пациентов с МР большого диаметра группа экспертов (CLOSE Study Group) провела анализ результатов 31 исследования оперативных вмешательств по поводу МР в совокупности по 1135 глазам [8]. Результатом явилась хирургическая классификация на основе биомаркеров макулярных разрывов по данным оптической когерентной томографии (ОКТ), определяющая наиболее эффективную хирургическую технику и ее результативность в зависимости от размера МР (табл. 1).

Данная стратегия должна быть эффективной при выборе метода хирургического лечения с получением наилучших функциональных и анатомических результатов при первичных и рецидивирующих МР.

В нашей клинике для хирургического лечения МР применяется как классическая технология с использованием газовой тампонады на заключительном этапе операции, так и разработанная оригинальная бес-тампонадная технология с применением богатой тромбоцитами плазмы — БоТП (platelet-rich plasma — PRP)

Таблица 1. Обзор эффективности хирургического лечения МР (CLOSE Study Group)

Table 1. Review of the effectiveness of surgical treatment of MH (CLOSE Study Group)

Величина МР, мкм / MH value, mcm	Хирургическая тактика / Surgical tactics	Эффективность / Effectiveness, %
≤ 535	Пилинг внутренней пограничной мембраны / Peeling of the inner boundary membrane	96,8
535–799	Техника перевернутого лоскута / Inverted flap technique	99,0
≥ 800	Трансплантация амниотической мембраны человека / Human amniotic membrane transplantation	100
	Гидродиссекция макулы / Hydrodissection of the macula	83,3
	Аутологичная трансплантация сетчатки / Autologous retinal transplantation	90,5

V.N. Kazaykin, N.S. Demchenko, A.Yu. Kleimenov

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

Optimization of Platelet-Rich Plasma Fraction Selection for Surgical Treatment of Macular Holes

в качестве дополнительного элемента для смыкания макулярного разрыва. На основании полученного опыта были разработаны патенты на изобретения^{1,2,3}.

Применение БоТП обусловлено мощным биологическим действием основных ее компонентов: плазмы с растворенными в ней биоактивными молекулами и клеточными элементами, которые на первом этапе осуществляют гемостатическую функцию тампонады МР с центростремительной тракцией краев разрыва и далее стимулируют регенерацию сетчатки в зоне дефекта. Компоненты БоТП обеспечивают морфологическое и функциональное восстановление тканей сетчатки за счет последовательного каскада фаз репарации: воспаления, пролиферации, ремоделирования и реваскуляризации, а также лизиса и полного удаления образованного тромба.

Регенерирующие свойства БоТП широко используются в различных областях медицины уже более 30 лет, в том числе и в офтальмологии: при синдроме сухого глаза, первичной дистрофии роговицы, вторичной эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы, реабилитации после послойной и сквозной кератопластики, нейротрофической кератопатии, комплексном лечении неинфекционного увеита, центральной серозной хориоретинопатии, хронической эрозии роговицы [9–16].

Цель: на основе клинического и морфофункционального анализа восстановления сетчатки и оценки клеточного состава богатой тромбоцитами плазмы определить ее оптимальную фракцию для хирургического лечения макулярного разрыва.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В настоящее исследование вошли 120 глаз 120 пациентов, прооперированных в «Екатеринбургском центре МНТК «Микрохирургия глаза»» по поводу идиопатического сквозного макулярного разрыва. Пациенты были разделены на 2 группы. В 1-й (основной) группе использовалась разработанная в нашей клинике технология без послеоперационной тампонады витреальной полости (60 глаз), во 2-й — традиционная технология лечения макулярных разрывов (60 глаз). В основную группу вошли 11 мужчин (18,3 %) и 49 женщин (81,7 %) в возрасте $69,92 \pm 1,23$ года (от 57 до 84 лет). Средний диаметр макулярного разрыва в узкой части составил $558,5 \pm 50,9$ (от 100 до 932) мкм, базовый диаметр — $989,04 \pm 57,24$ (от 599 до 1710) мкм, максимально скорректированная острота зрения (МКОЗ) до операции — МКОЗ_{ср.} = $0,11 \pm 0,02$ (от 0,02 до 0,25) отн. ед., длительность МР $15,5 \pm 2,8$ месяца (от 2 до 72).

В группу сравнения (контрольная группа) вошли 12 мужчин (20 %) и 48 женщин (80 %) в возрасте $66,41 \pm$

$2,21$ года (от 53 до 84 лет). Средний диаметр макулярного разрыва в его узкой части составил $446,43 \pm 32,37$ (от 194 до 755) мкм, базовый диаметр — $951,27 \pm 102,95$ (от 431 до 1700) мкм, МКОЗ_{ср.} до операции — $0,16 \pm 0,02$ (от 0,04 до 0,40) отн. ед., длительность МР $14,1 \pm 3,0$ месяца (от 1 до 72). Достоверных различий предоперационного статуса обеих групп выявлено не было ($p > 0,05$). Критериями для включения пациентов в исследование явились: сквозной МР, подтвержденный на ОКТ, отсутствие ранее выполненных хирургических вмешательств на сетчатке, прозрачные оптические среды.

Техника операции. Оперативное лечение пациентов 1-й и 2-й групп включало следующие этапы: сначала выполняли стандартную 3-портовую витректомию 25–27G, передние слои стекловидного тела сохраняли, производили выделение задней гиалоидной мембран, прокрашивание и удаление ВПМ вокруг МР. Затем производили замену инфузионного раствора на воздух, однократное «высушивание» сетчатки при помощи пассивной аспирации экструзионной канюлей без контакта с краями разрыва и при подаче воздуха в витреальную полость под давлением 20–25 мм рт. ст. Механическое воздействие на сетчатку инструментом не допускалось. Далее в зону МР производили аппликацию БоТП в количестве 0,05–0,1 мл. Во 2-й группе операция на этом этапе сразу завершалась заменой воздуха на газ сульфургексафторид — SF₆ 20 %. В 1-й группе капля БоТП сначала выдерживалась в течение 1 мин. без каких-либо манипуляций, далее на образовавшийся тромбоцитарный агрегат наносили жидкое перфторорганическое соединение (ПФОС) и выполняли замену воздуха на ирригационный раствор. По истечении 5 минут ПФОС пассивно аспирировали.

Получение БоТП. У 30 пациентов из 60, составивших 1-ю группу (основную), было выполнено определение концентрации клеточных элементов во фракциях БоТП на гематологическом анализаторе Sysmex XS-500i (Sysmex, Германия).

Для приготовления аутологичной БоТП использовали контейнеры Ycellbio-Kit (Ycellbio Medical Co., Ltd, Южная Корея), в которых производили центрифугирование (центрифуга CM-6M, ELMi, Латвия) венозной крови пациента, взятой с антикоагулянтом (3,2 % цитрат натрия с декстрозой). Использовали два режима центрифугирования: основной с центробежной силой 2132 g (3400 оборотов/мин) и дополнительный — с центробежной силой 738 g (2000 оборотов/мин). Количество минут и кратность центрифугирования подбирали последовательно и индивидуально для каждой пробы с целью получения фракции чистой богатой тромбоцитами плазмы (P-PRP — pure-platelet-rich plasma) (рис. 1а). После измерения клеточного состава фракции P-PRP выполняли следующее центрифугирование в режиме 738 g и в результате получали четко выделенный лейкоцитарный слой (L-PRP — leucocyte-platelet-rich plasma) (рис. 1б), в котором также исследовали

¹ Способ хирургического лечения разрыва сетчатки. RU 2773204, 31.05.22.

² Способ формирования фовеолярного фрагмента внутренней пограничной мембраны при хирургическом лечении макулярного разрыва. RU 2754805, 07.09.21.

³ Способ хирургического лечения больших и рецидивирующих макулярных разрывов. RU 2763477, 29.12.21.

клеточный состав. В ряде случаев, если при центрифугировании не удавалось выделить фракцию P-PRP, ее получали путем простого взбалтывания верхней части L-PRP при помощи инъекционной иглы, вызывая ее частичное перемешивание с бедной тромбоцитами плазмой (фракция PPP, poor-platelet plasma), расположенной в верхней части контейнера Ycellbio-Kit (рис. 2).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Statistica 10. Значения непрерывных величин представлены в виде $M \pm m$, где M — выборочное среднее арифметическое, m — стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинические результаты

Полное закрытие макулярного разрыва в основной группе было достигнуто у всех 60 пациентов (100 %), в контрольной — у 59 (из 60; 98,3 %). В первый день после операции пациентам проводили оптическую когерентную томографию (ОКТ): у пациентов основной группы с применением БотП на поверхности сетчатки визуализировалась фибриновая пленка. Фибрино-клеточный тромб рассасывался к концу первой недели, в этот же срок у всех пациентов наблюдалось восстановление профилямакулы, а через 2 месяца — полная репарация архитектуры ретикулярной ткани, о чем свидетельствует положительная динамика остроты зрения. Аналогичные результаты наблюдались у всех пациентов.

В первые сутки после операции острота зрения пациентов основной группы составила $\text{МКОЗ}_{\text{ср.}} = 0,20 \pm 0,02$ (от 0,08 до 0,50) отн. ед., у пациентов контрольной группы (с газовой тампонадой) $\text{МКОЗ}_{\text{ср.}} = 0,02 \pm 0,01$ (от 0,005 до 0,15) отн. ед. ($p < 0,001$). В отдаленном периоде наблюдения (через 2 месяца после операции) показатели остроты зрения основной и контрольной групп составили $\text{МКОЗ}_{\text{ср.}} = 0,50 \pm 0,05$ (от 0,30 до 0,70) отн. ед. и $0,43 \pm 0,07$ (от 0,15 до 0,60) отн. ед. соответственно ($p > 0,05$).

После наблюдения в течение 6 месяцев после операции случаи рецидива МР не выявлены.

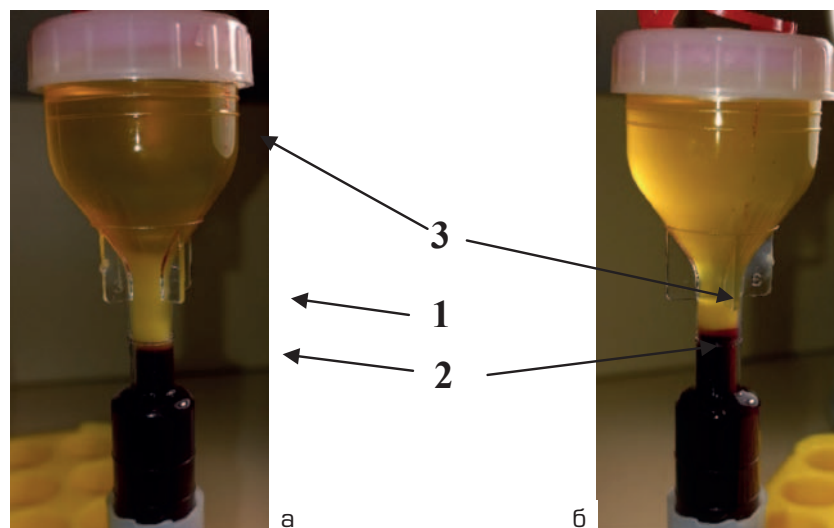


Рис. 1. Фракции плазмы (клинический пример): а — плазма после центрифугирования с центробежной силой 2132 g (3400 оборотов/мин, 6 мин) состоит из трех фракций; б — плазма после дополнительного центрифугирования с центробежной силой 738 g (2000 оборотов/мин, 2 мин) состоит из двух фракций; 1 — фракция чистой богатой тромбоцитами плазмы (P-PRP), 2 — лейкотромбоцитарный слой (L-PRP), 3 — бедная тромбоцитами плазма (PPP)

Fig. 1. Plasma fractions (clinical example): а — plasma after centrifugation with a centrifugal force of 2132 g (3400 rpm, 6 min) consists of three fractions; б — plasma after additional centrifugation with a centrifugal force of 738 g (2000 rpm, 2 min) consists of two fractions; 1 — fraction of pure platelet-rich plasma (P-PRP), 2 — leukothrombocyte layer (L-PRP), 3 — platelet-poor plasma (PRP)

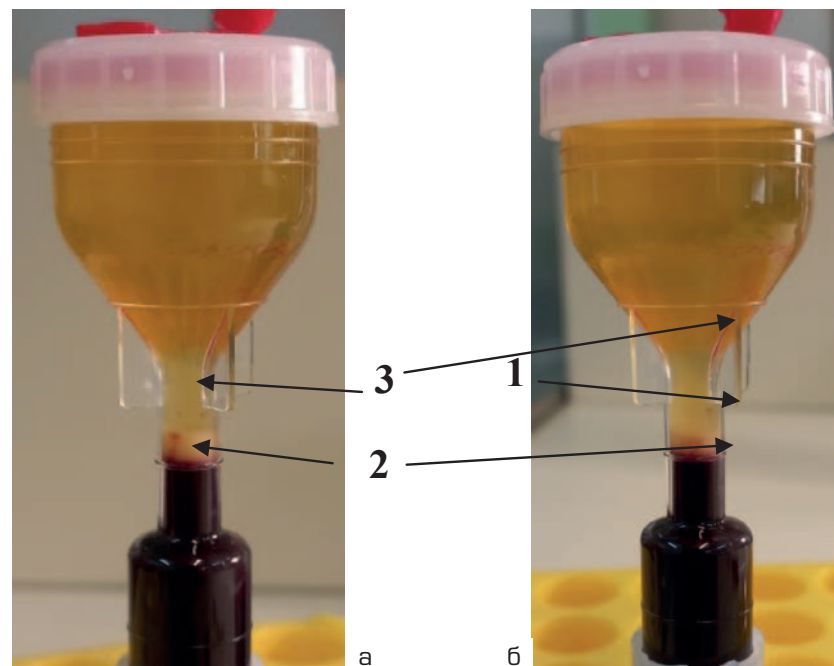


Рис. 2. Получение P-PRP после взбалтывания L-PRP: а — центрифугированием плазма разделена на две фракции: L-PRP и PPP; б — после взбалтывания верхнего слоя L-PRP инъекционной иглой плазма состоит из трех фракций: L-PRP, P-PRP и PPP; 1 — фракция чистой богатой тромбоцитами плазмы (P-PRP), 2 — лейкотромбоцитарный слой (L-PRP), 3 — бедная тромбоцитами плазма (PPP)

Fig. 2. Obtaining P-PRP after stirring L-PRP: а — centrifugation, the plasma is divided into two fractions: L-PRP and PPP; б — after stirring the upper layer of L-PRP with an injection needle, the plasma consists of three fractions: L-PRP, P-PRP and PPP; 1 — fraction of pure platelet-rich plasma (P-PRP), 2 — leukothrombocyte layer (L-PRP), 3 — platelet-poor plasma (PRP)

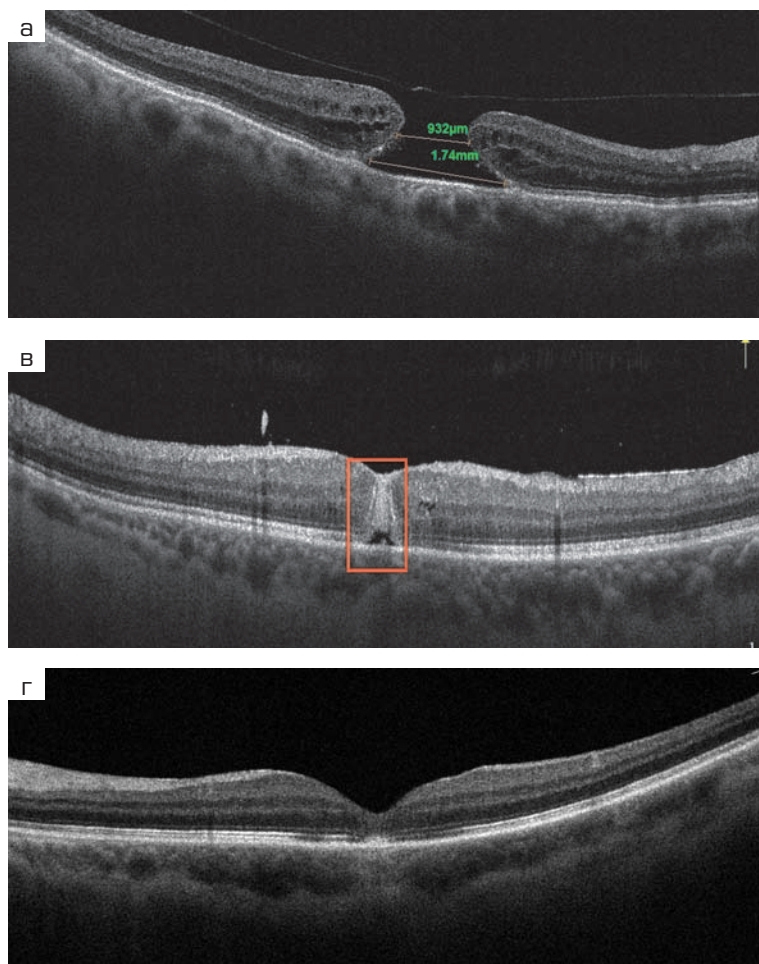


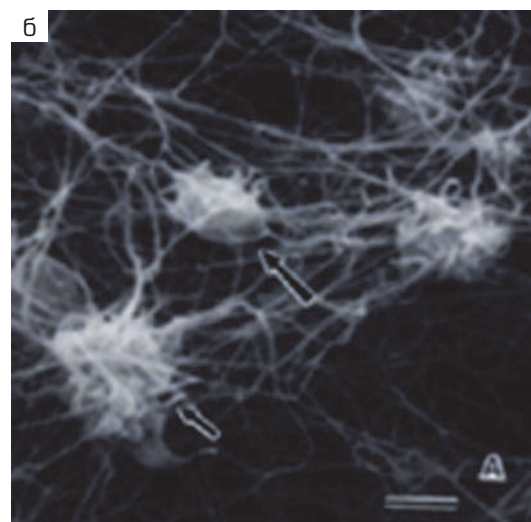
Рис. 3. Этапы смыкания макулярного разрыва после витрэктомии с применением БоТП (клинический пример): а — ОКТ: МР размером в узкой части 932 мкм, в широкой части 1,74 мм, Vis OD с корр. = 0,35 отн. ед.; б — фибрино-клеточный окклюзионный тромб на 5-й минуте экспозиции после внесения БоТП в МР; в — ОКТ: результат смыкания макулярного разрыва в 1-е сутки после операции с применением БоТП, Vis OD с корр. = 0,2 отн. ед.; г — фибрино-клеточный тромб в зоне МР; г — ОКТ: состояние макулы через 2 месяца после операции, Vis OD с корр. = 0,4 отн. ед.; восстановление фовеального профиля

Fig. 3. Stages of macular rupture closure after vitrectomy using PRP (clinical example): а — OCT: MH with a size of 932 microns in the narrow part, 1.74 mm in the wide part, Vis OD with a correspondent = 0.35 rel. units; б — fibrin-cell occlusive thrombus at the 5th minute of exposure after PRP was introduced into MH; в — OCT: the result of closing the macular rupture in 1-e day after surgery with PRP, Vis OD with a correspondent = 0.2 rel. units; г — fibrin-cell thrombus in the MH zone; г — OCT: the state of the macula 2 months after surgery, Vis OD with a correspondent = 0.4 rel. units; restoration of the foveal profile

Таким образом, восстановление структуры и функций сетчатки наблюдалось с 1 суток после операции и продолжалось, по меньшей мере, в течение первых 2 месяцев послеоперационного периода.

Клинический пример смыкания МР с участием БоТП

Во время оперативного вмешательства на МР (рис. 3а) после выполнения витрэктомии, окрашивания и удаления внутренней пограничной мембраны, замены ирригационных растворов на воздух в зону МР



наносили 0,05 мл аутологичной БоТП, посредством которой за несколько секунд в МР формировался тромбоцитарный агрегат, в течение пяти минут превращавшийся в окклюзионный фибрино-клеточный тромб (рис. 3б, в). На первые сутки после операции на снимках ОКТ наблюдалось прочное смыкание МР посредством фибрино-клеточного тромба с положительной динамикой остроты зрения пациента (рис. 3в) в сравнении с дооперационным периодом (рис. 3а). При наблюдении состояния МР на снимках ОКТ через 2 месяца зафиксирован полный лизис фибрино-клеточного сгустка — полная репарация ткани сетчатки. Зафиксирована положительная динамика восстановления остроты зрения пациента по сравнению с первыми сутками после операции (рис. 3г).

Результаты исследования клеточного состава фракций БоТП

Для 30 из 60 пациентов 1-й группы был проведен гематологический анализ БоТП, получены следующие результаты (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Механизмы лечебного воздействия БоТП

Тампонирующий и регенерирующий эффект БоТП обусловлен ее составляющими: тромболейкоцитарной массой и компонентами плазмы (фибриноген, факторы свертывания и другие молекулы). При контакте с МР происходит моментальное свертывание плазмы с формированием рыхлого тромбоцитарного агрегата без участия нитей фибрина, агрегат механически закупоривает макулярный разрыв. При этом фиксация тромбоагрегата к раневой поверхности обеспечивается специфическими рецепторными связями между тромбоцитами и коллагеном окружающих тканей. Тромбоциты, соприкасаясь с тканевыми элементами в МР (базальная мембрана, глиальные отростки

Таблица 2. Клеточный состав фракций БоТП, М ± m**Table 2.** Cellular composition of PRP fractions, M ± m

Фракции БоТП / PRP fractions	Тромбоциты, 10 ³ /мкл / Platelets, 10 ³ /mcl	Большие тромбоциты / Large platelets (P-LCR), %	Лейкоциты, 10 ³ /мкл / Leukocyte, 10 ³ /mcl
L-PRP (рис. 16) / L-PRP (fig. 16)	4356,35 ± 432,58	33,11 ± 1,06	67,28 ± 15,12
P-PRP (рис. 1а) после центрифугирования / P-PRP (fig. 16) after centrifugation	3317,85 ± 768,74	19,38 ± 2,72	0,11 ± 0,05
P-PRP (рис. 2б) после взбалтывания / P-PRP (fig. 2б) after shaking	2669,17 ± 571,34	24,01 ± 2,99	4,72 ± 1,89
P-PRP независимо от способа получения / P-PRP regardless of the method of receipt	3006,48 ± 479,4	21,60 ± 2,03	2,32 ± 1,0

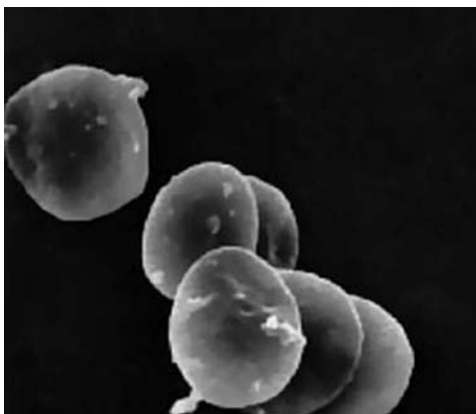
клеток Мюллера, коллагеновые волокна, протеогликаны, гиалуроновая кислота), стремятся к адгезии и агрегации. Эти процессы активируют тромбоциты, которые из дискоцитов превращаются в отростчатые сфероциты. Множественные отростки обеспечивают быстрый контакт отдельных тромбоцитов между собой и с раневой поверхностью (рис. 4).

Тромбоциты адгезируются непосредственно к коллагеновым волокнам посредством специфических гликопротеиновых рецепторов (GpVI, GpIV и GpIa/IIa) либо посредником выступает фактор фон Виллебранда, находящийся в плазме БоТП и в гранулах тромбоцитов. Фактор фон Виллебранда обладает тремя активными центрами, два из которых соединяются с рецепторами тромбоцитов (GpIb), а один — с коллагеном. Одновременно на тромбоцитах экспрессируются рецепторы к фибриногену (GpIIb/IIIa). Растворенные в БоТП мономеры фибриногена вступают в двухсторонние связи с рецепторами на поверхности тромбоцитов, создавая мостики, связывающие их, и одновременно образуют, последовательно соединяясь между собой, растворимые димеры и олигомеры, из которых в итоге формируется полимерная нерастворимая структура — фибрин [19]. В результате образуется сетчатая структура фибрино-тромбоцитарного сгустка (окклюзионного тромба).

Хронологическую связь этапов гемокоагуляции следует увязывать с этапами хирургической техники для получения более стабильного результата закрытия МР (рис. 5).

После внесения в зону разрыва БоТП моментально (за 10 секунд) сворачивается. Хирург наблюдает желеобразный агрегат, состоящий из тромбоцитов, адгезированных в зоне МР и скрепленных между собой мостиками мономеров фибрина, в этой желеобразной массе также присутствуют лейкоциты. Агрегат в течение минуты сжимается, выделяя на своей поверхности беловатую жидкость, состоящую из плазмы и лейкоцитов, которые и придают ей белесоватый цвет. Сжатие обеспечивают сократительные белки (актин, миозин IIa) в цитоплазме тромбоцитов. При нанесении через 1 минуту на образовавшийся тромбоцитарный агрегат жидкого ПФОС последний дополнительно фиксирует и локализует агрегат в МР, защищает от вымывания из него биоактивных молекул постепенно дегранулирующихся тромбоцитов в процессе замены воздуха на ирригационный раствор. Под слоем ПФОС в желеобразной массе агрегата после соприкосновения с компонентами поврежденных клеток МР (тканевым фактором свертывания) каскадом активируются белки — плазменные факторы свертывания, которые фиксируются на поверхности активированных тромбоцитов. Таким образом, на фосфолипидной поверхности мембраны тромбоцитов формируется протромбиназный комплекс. Этот процесс достаточно длительный и происходит в течение пяти минут в сравнении с агрегацией тромбоцитов, которая реализуется за секунды. В итоге протромбиназа ферментативно активирует тромбин, который, в свою очередь, ферментативно превращает растворимый фибриноген

а



б

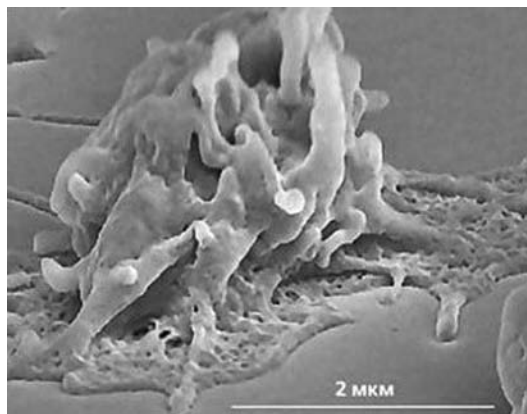


Рис. 4. Трансформация тромбоцитов при их активации: а — дискоидные тромбоциты «покоя» в кровотоке [17]; б — отростчатый, активированный, дегранулированный тромбоцит (адгезия на поверхности) [18]

Fig. 4. Transformation of platelets during their activation: а — discoid platelets of "rest" in the bloodstream [17]; б — process, activated, granular platelets (adhesion on the surface) [18]



Рис. 5. Стадии гемостаза БоТП в МР в хронологии оперативного вмешательства на МР и послеоперационного периода

Fig. 5. Stages of PRP hemostasis in MH in the chronology of surgical intervention on MH and postoperative period

в нерастворимый полимер — фибрин. Нити фибрина в совокупности с тромбоцитарным агрегатом образуют полноценный прочный тромб, который хирург наблюдает в МР к концу операции. Этот тромб отличается по структуре от первоначального сгустка (агрегата) тромбоцитов, для его образования необходимо время, которое совпадает со временем экспозиции после закапывания БоТП в МР, и для его формирования важным является предварительное подсушивание операционного поля от внутриглазной жидкости, которая может размыть или разбавить плазму, уменьшить концентрацию плазменных факторов в зоне МР.

Адгезия и агрегация стимулируют тромбоциты к дегрануляции, секреции массы биоактивных молекул в окружающий межклеточный матрикс. Тромбоциты секретируют большое количество прежде всего АДФ и тромбоксана A₂, а также катехоламины, серотонин, арахидоновую кислоту, тромбин, которые активируют окружающие неактивные тромбоциты, вовлекая их в процесс формирования сгустка.

Таким образом, применяя БоТП, мы получаем механическую закупорку МР фибрино-клеточным тромбом, далее с тромбом происходит важный процесс его уплотнения и тракция краев МР, к которым тромбоциты тромба фиксированы. При этом 80 % силы сжатия сгустка обеспечивают тромбоциты, в цитоплазме которых сокращаются белки, актин и миозин, то есть те же, что обеспечивают сокращение скелетных мышц; 20 % сокращения сгустка обеспечивает пространственная компактизация структуры фибрина под действием фибринстабилизирующего фактора (XIII плазменный фактор свертывания крови), который продуцируют тромбоциты. Этот фактор стимулирует формирование все большего количества поперечных связей между волокнами фибрина [20]. Сила тракции, которую развивает единичный тромбоцит, составляет

около 29 н/Н [21]. Далее в послеоперационном периоде происходит постепенная ретракция сгустка и стягивание макулярного разрыва на протяжении около 60 мин, из которых в течение первых 20 минут сгусток подвергается контракции на 50 и более процентов. Степень и скорость контракции сгустка пропорционально зависят от концентрации тромбоцитов, степени их активации и от концентрации фибриногена в плазме. Чем больше во фракции тромбоцитов активированных форм (P-LCR), тем меньше потенциал контракции сгустка вследствие энергетического истощения и вторичной дисфункции таких тромбоцитов [20, 21].

Одновременно с формированием сгустка активируется система его ферментативного лизиса. В течение 3–4 суток происходит постепенное ферментативное растворение фибринового сгустка за счет активации ферментов системы фибринолиза — плазминовой системы, которая состоит из плазминогена, его активаторов и ингибиторов. Плазминоген синтезируется печенью и присутствует в экстравазальном пространстве многих тканей, его много в стекловидном теле. В тканях глаза преимущественно представлен один из активаторов плазминогена — активатор урокиназного типа (u-PA). В норме активатор плазминогена урокиназного типа достаточно широко распространен в тканях заднего сегмента глаза, стекловидном теле, склере, в зрительном нерве, фибробластах сосудистой оболочки, сосудах, внутренних слоях нейрорепителлия и пигментном эпителии сетчатки [22]. Активатор превращает плазминоген в активную форму — плазмин, который растворяет фибрин. Во время постепенного лизиса сгусток плотно фиксирован в ране за счет рецепторных связей тромбоцитов с краями макулярного разрыва.

Экстравазация — присутствие компонентов крови в тканях вызывает воспалительную реакцию,

которая в первую очередь реализуется через привлечение из окружающих тканей нейтрофилов. Нейтрофилы в сформированном тромбе из БоТП и мигрирующие из тканей выделяют литические ферменты, которые растворяют фибрин сгустка. Через два дня к ним присоединяются мигрирующие в область тромба макрофаги, которые фагоцитируют обломки фибрина и клеточный детрит. Если в течение двух недель растворимые остатки тромба не будут удалены путем диффузии в сосуды сетчатки, а остатки детрита — системой мононуклеарных фагоцитов, то в место образования тромба начинают устремляться клетки грануляционной ткани, которые удаляют остатки тромба и могут способствовать формированию рубцовой ткани [23]. Но насколько значимое влияние могут оказать лейкоциты на рубцевание сетчатки, по данным офтальмологической литературы, не исследовано.

При динамическом наблюдении пациентов в рамках нашего исследования по результатам снимков ОКТ у всех пациентов максимально в срок до семи дней, в среднем в течение 3–4 дней, происходило полное растворение фибрино-клеточного тромба без признаков присутствия элементов грануляционной ткани. В итоге мы наблюдали у пациентов полное анатомическое восстановление фoveального профиля с положительной функциональной динамикой (улучшение остроты зрения уже в раннем послеоперационном периоде на первые сутки).

После формирования тромба лечебный эффект БоТП заключается в активации и поддержании процессов регенерации тканевой структуры сетчатки за счет выделения в окружающий межклеточный матрикс тромбоцитами и в меньшей степени лейкоцитами различных биоактивных молекул, в том числе ростовых факторов, различных ферментов, коагуляционных факторов. Выделение биоактивных веществ происходит постепенно в течение нескольких дней в процессе активации и постепенной дегрануляции тромбоцитов [24, 25].

Тромбоциты участвуют в регенерации тканей за счет факторов роста (VEGF, PDGF, FGF, EGF, IGF, TGF, FGF, Ang) и других активных молекул (хемокинов, арахидоновой кислоты, фибриногена, серотонина, адениловых нуклеотидов и др.) [26, 27]. Влияние факторов роста на поведение клеток и последовательность регенерации тканей широко изучено [28, 29]. Таким образом, за счет широкого спектра факторов роста БоТП стимулирует образование коллагена, ускоряет регенерацию тканей, индуцирует рост сосудов, эпителиальных и мезенхимальных клеток, обладает противовоспалительным потенциалом [30]. В основе этих эффектов лежит синергичное взаимодействие с местными клетками сетчатки, определяющее специфические реакции пролиферации, клеточной миграции и синтез экстрацеллюлярного матрикса [31].

Фактор роста тромбоцитов (PDGF — platelet dimeric growth factor) стимулирует пролиферацию, секрецию и миграцию мезенхимальных, глиальных клеток, фибробластов, является кофактором других ростовых

факторов, в частности сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF — vascular endothelial growth factor) [32]. PDGF регулирует синтез коллагена и секрецию не-обходимой для этого коллагеназы; стимулирует хемотаксис макрофагов и нейтрофилов в области МР [33]. Таким образом, БоТП способна стимулировать пролиферативную, секреторную и миграционную активность клеток различных слоев сетчатки и тем самым способствовать консолидации МР.

Лейкоциты, взаимодействуя с тромбоцитами, участвуют в репарации тканей, которая начинается с воспалительного процесса, развитие которого регулируется высвобождением провоспалительных и противовоспалительных биомолекул (хемокинов, цитокинов) тромбоцитами и лейкоцитами. Тромбоциты играют основную роль в активации иммунокомпетентных лейкоцитов, продуцируя серотонин, который усиливает хемотаксис и миграцию лейкоцитов в очаг воспаления [34]. Взаимодействуя с иммунными клетками, серотонин способствует продукции ими гамма-интерферона (IFN- γ — interferon- γ), иммуномодулятора всего комплекса иммунных реакций в ответ на повреждение тканей [35]. Тромбоциты являются источником ферментов и субстратов, дополняющих возможности нейтрофилов при производстве противовоспалительных липидных медиаторов, позволяющих перейти от стадии острого воспаления к процессам восстановления ткани сетчатки [36].

В зависимости от тканевого окружения нейтрофилы БоТП могут по-разному проявлять свой эффекторный потенциал, проявляющийся в фагоцитозе, высвобождении содержимого гранул, продукции активных форм кислорода и образовании внеклеточных ловушек. В условиях МР (стерильная травма) главная роль нейтрофилов заключается в рекрутировании моноцитов из окружающих тканей и регулировании иммунного процесса в МР, направленного от фазы острого воспаления к регенерации тканей [37]. Моноциты из БоТП и окружающих тканей при участии сигнальных молекул нейтрофилов превращаются в макрофаги, которые обеспечивают фагоцитоз, в том числе нейтрофилов после их апоптоза, ослабляют воспалительную реакцию и стимулируют восстановление тканей за счет продукции интерлейкина-10 (IL-10), гамма интерферона (IFN- γ), оксида азота, фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактора роста фибробластов (FGF — fibroblast growth factor). Макрофаги продуцируют компоненты внеклеточного матрикса. Лимфоциты, продуцируя инсулиноподобный фактор роста (IGF-I — insulin-like growth factor-I), поддерживают ремоделирование тканей [27]. Тромбоциты не только иницируют, но и поддерживают и направляют иммунный ответ. Они способны презентировать антиген в контексте молекул HС I класса и активировать наивные CD8⁺ цитотоксические Т-лимфоциты. Тромбоциты при дегрануляции выделяют АДФ, который распознается рецептором P2Y₁₂ADP на дендритных клетках (разновидность моноцитов), усиливая

у последних эндоцитоз. Дендритные клетки инициируют Т-клеточные иммунные реакции и связывают механизмы врожденного и приобретенного иммунного ответа [38]. В то же время лейкоциты, выделяя в окружающий матрикс протеолитические, лизосомальные ферменты в большой концентрации, могут оказать отрицательное воздействие на нейроэпителий сетчатки.

Какую часть БоТП рациональнее использовать для воздействия на сетчатку?

Для получения аутологичной БоТП в работе использовались специализированные пробирки Ycellbio-Kit (Южная Корея). В результате центрифугирования можно получить следующие фракции БоТП: ейкотромбоцитарный слой, фракцию бедной тромбоцитами плазмы, в ряде случаев возможно получение слоя чистой богатой тромбоцитами плазмы (рис. 1). Если после стандартного центрифугирования фракция чистой богатой тромбоцитами плазмы не выделяется, ее можно получить путем легкого взбалтывания верхней части ЛТС инъекционной иглой от шприца.

Обозначенные слои БоТП отличаются по клеточному составу, но содержат одинаковое количество фибриногена и плазменных коагуляционных факторов. В результате проведенного исследования 30 проб БоТП на предмет их клеточного состава (табл. 2) было выявлено, что в ЛТС (L-PRP) концентрация тромбоцитов составляет $(4356,35 \pm 432,58) \times 10^3/\text{мкл.}$, лейкоцитов — $(67,28 \pm 15,12) \times 10^3/\text{мкл.}$, а в Р-PRP, независимо от способа ее получения, $(3006,48 \pm 479,40) \times 10^3/\text{мкл}$ и $(2,32 \pm 1,00 \pm 1,30) \times 10^3/\text{мкл}$ соответственно. Таким образом, Р-PRP содержит достаточное для терапевтического эффекта количество тромбоцитов и минимальное количество лейкоцитов в сравнении с фракцией L-PRP. Исходя из этого, по нашему мнению, фракция Р-PRP более приемлема для хирургии МР. Выбор этой фракции БоТП позволяет исключить избыточное воздействие лизосомальных ферментов лейкоцитов на нейроэпителий сетчатки.

Получение Р-PRP представляет ряд сложностей в рутинной практике, так как нет стандартной процедуры ее получения после центрифугирования в пробирках Ycellbio-Kit. Осаждение компонентов крови происходит по-разному у каждого пациента в зависимости от количества различных клеточных элементов и от состава плазмы в отношении белков, жиров и ряда других веществ. Поэтому для наших пациентов мы подбираем индивидуальный дробный по времени режим центрифугирования, целью которого является остановить центрифугирование на этапе неполного осаждения фракции тромбоцитов (рис. 1а). С этой целью первое центрифугирование мы проводим с центробежной силой 2132 g (3400 оборотов/мин) 4 минуты, далее визуально оцениваем, на какой уровень опустилась эритромаасса, и принимаем решение о втором центрифугировании с центробежной силой 2132 g (3400 оборотов/мин) в течение от 1 до 4 минут, чтобы получить картину неполного осаждения фракции

тромбоцитов, приближенной к состоянию, представленному на рисунке 1а. Далее при недостаточно компактном выделении слоя ЛТС и слоя Р-PRP над ним выполняется следующее центрифугирование, при котором для более деликатного осаждения тромбомассы центробежная сила составляет 738 g (2000 оборотов/мин) в течение от 1 до 4 минут. Целью таких параметров является получение компактной фракции Р-PRP — в пределах узкой части контейнера (рис. 1а).

Если не удастся после очередного центрифугирования выделить рыхлый слой тромбомассы над более плотным слоем лейкоцитов, как на рисунке 1а, и формируется плотный ЛТС (рис. 1б), тогда применяется техника взбалтывания верхнего слоя ЛТС: инъекционная игла сначала погружается в пробирку в ЛТС на глубину около 2 мм (иногда меньше), и далее производятся круговые движения до вмучивания верхней части ЛТС. Клеточный состав двух типов Р-PRP, полученных центрифугированием и взмучиванием, представлен в таблице 2. Оба вида Р-PRP статистически не отличались по содержанию тромбоцитов ($p = 0,38$), но Р-PRP, полученная методом взбалтывания, содержала значительно большее количество лейкоцитов $((4,72 \pm 1,89) \times 10^3/\text{мкл}$ против $(0,11 \pm 0,05) \times 10^3/\text{мкл}$; $p = 0,023$). В любом случае, концентрация лейкоцитов в Р-PRP была значительно ниже в сравнении с L-PRP $((67,28 \pm 15,12) \times 10^3/\text{мкл.})$.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что метод получения Р-PRP техникой взбалтывания может быть включен в хирургическую практику макулярного разрыва. Он прост в техническом исполнении, не требует длительной тренировки и дает возможность с большей вероятностью получить Р-PRP приемлемого клеточного состава у подавляющего большинства пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патология макулярной области сетчатки устойчиво занимает ведущие позиции в структуре слабовидения взрослого населения развитых стран. Одним из таких нарушений, приводящих к ухудшению центральной остроты зрения, является макулярный разрыв (МР) [39]. «Золотым стандартом» хирургии МР до настоящего времени остается применение послеоперационной воздушной или газовой тампонады. Развитие и совершенствование микроинвазивных техник способствует разработке новых методов его лечения [4, 40], одним из которых является применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами (БоТП). Механизм действия БоТП заключается в образовании фибрино-клеточного тромба, обладающего контрактильными свойствами и способствующего клеточной инфильтрации в зону разрыва различных клеток, играющих важную роль в репарации тканей. Анализ клеточного состава БоТП способствовал разработке новых методов хирургического лечения МР, в том числе исключающих использование послеоперационной тампонады витреальной полости и позволяющих

значительно ускорить период послеоперационной реабилитации, снизить риск послеоперационных осложнений [41–44].

Результаты настоящего исследования продемонстрировали, что для хирургии МР рационально использовать плазму из слоя чистой богатой тромбоцитами (P-PRP), которая содержит достаточное для положительного терапевтического эффекта количество тромбоцитов

и минимальное количество лейкоцитов, способных выполнять функции иммунной защиты и репарации сетчатки и окружающих тканей.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Демченко Надежда Сергеевна — определение концепции и дизайна работы, написание текста, научное редактирование текста;
Казайкин Виктор Николаевич — научное редактирование текста, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации;
Клейменов Андрей Юрьевич — написание, научное редактирование текста.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Global data on visual impairments 2010. Available by: <http://www.who.int/blindness/GLOBALDATAFINALforweb.pdf>. (date of application 16.09.2022).
- Liu L, Enkh-Amgalan I, Wang NK, Chuang LH, Chen YP, Hwang YS, Chang CJ, Chen KJ, Wu WC, Chen TL, Lai CC. RESULTS OF MACULAR HOLE SURGERY: Evaluation Based on the International Vitreomacular Traction Study Classification. *Retina*. 2018 May;38(5):900–906. doi: 10.1097/IAE.0000000000001647.
- Steel DH, Donachie PHJ, Aylward GW, Laidlaw DA, Williamson TH, Yorston D; BEAVERS Macular hole outcome group. Factors affecting anatomical and visual outcome after macular hole surgery: findings from a large prospective UK cohort. *Eye (Lond)*. 2021 Jan;35(1):316–325. doi: 10.1038/s41433-020-0844-x.
- Rizzo S, Tartaro R, Barca F, Caporossi T, Bacherini D, Giansanti F. Internal limiting membrane peeling versus inverted flap technique for treatment of full-thickness macular holes: a comparative study in a large series of patients. *Retina*. 2018 Sep;38 Suppl 1:S73–S78. doi: 10.1097/IAE.0000000000001985.
- Charles S, Randolph JC, Neekhra A, Salisbury CD, Littlejohn N, Calzada JI. Arcuate retinotomy for the repair of large macular holes. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2013 Jan-Feb;44(1):69–72. doi: 10.3928/23258160-20121221-15.
- Meyer CH, Szurman P, Haritoglou C, Maier M, Wolf A, Lytvynchuk L, Priglinger S, Hillenkamp J, Wachtlin J, Becker M, Mennel S, Koss MJ. Application of subretinal fluid to close refractory full thickness macular holes: treatment strategies and primary outcome: APOSTEL study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2020 Oct;58(10):2151–2161. doi: 10.1007/s00417-020-04735-3.
- Frisina R, Tozzi L, Sabella P, Cacciatori M, Midena E. Surgically Induced Macular Detachment for Treatment of Refractory Full-Thickness Macular Hole: Anatomical and Functional Results. *Ophthalmologica*. 2019;242(2):98–105. doi: 10.1159/000500573.
- Rezende FA, Ferreira BG, Rampakakis E, Steel DH, Koss MJ, Nawrocka ZA, Bacherini D, Rodrigues EB, Meyer CH, Caporossi T, Mahmoud TH, Rizzo S, Johnson MW, Duker JS. Surgical classification for large macular hole: based on different surgical techniques results: the CLOSE study group. *Int J Retina Vitreous*. 2023 Jan 30;9(1):4. doi: 10.1186/s40942-022-00439-4.
- Миронов А.В., Магарян Т.О., Кутин И.М., Стальная А.С. Отдаленные результаты хирургического лечения сквозных макулярных разрывов без томпадан-ды витреальной полости. *Офтальмология*. 2023;1(15):60–62.
- Mironov AV, Margaryan TO, Kotin IM, Stalnaya AS. Long-term results of surgical treatment of end-to-end macular ruptures without tompanada of the vitreal cavity. *Reflection*. 2023;1(15):60–62 (In Russ.). doi: 10.25276/2686-6986-2023-160-62.
- Filardo G, Di Matteo B, Kon E, Merli G, Marcacci M. Platelet-rich plasma in tendon-related disorders: results and indications. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2018 Jul;26(7):1984–1999. doi: 10.1007/s00167-016-4261-4.
- Belk JW, Kraeutler MJ, Houck DA, Goodrich JA, Dragoo JL, McCarty EC. Platelet-Rich Plasma Versus Hyaluronic Acid for Knee Osteoarthritis: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Am J Sports Med*. 2021 Jan;49(1):249–260. doi: 10.1177/0363546520909397.
- Xuan Z, Yu W, Dou Y, Wang T. Efficacy of Platelet-rich Plasma for Low Back Pain: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg*. 2020 Nov;81(6):529–534. doi: 10.1055/s-0040-1709170.
- Лощкарева А.О., Майчук Д.Ю. Применение богатой тромбоцитами плазмы у пациентов с хроническими эрозиями роговицы. *Современные технологии в офтальмологии*. 2016;4:131–132.
- Loshkareva AO, Maychuk DYU. The use of platelet-rich plasma in patients with chronic corneal erosions. *Modern technologies in ophthalmology*. 2016;4:131–132 (In Russ.). doi: 10.25276/0235-4160-2020-2-20-25.
- Арбеньева Н.С., Братко В.И., Братко Г.В., Трунов А.Н., Повешченко О.В., Черных В.В. Результаты применения аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами, в составе комплексной схемы лечения увеита, ассоциированного с системными заболеваниями, сопровождающегося макулярным отеком. *Офтальмохирургия*. 2020;2:20–25.
- Arbenyeva NS, Bratko VI, Bratko GV, Trunov AN, Poveshchenko OV, Chernykh VV. Results of using autologous plasma enriched with platelets as part of a complex treatment regimen for uveitis associated with systemic diseases accompanied by macular edema. *Ophthalmosurgery*. 2020;2:20–25 (In Russ.). doi: 10.25276/0235-4160-2020-2-20-25.
- Станисhevskaya O.M., Братко В.И., Повешченко О.В., Трунов А.Н., Черных В.В. Первые результаты комплексного лечения центральной серозной хориоретинопатии с использованием субпорогового микроимпульсного лазерного воздействия длиной волны 577 нм и инъекциями тромбоцитарной аутоплазмы. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2019;15(2):539–543.
- Stanishevskaya OM, Bratko VI, Poveshchenko OV, Trunov AN, Chernykh VV. The first results of complex treatment of central serous chorioretinopathy using sub-threshold micro-pulse laser exposure with a wavelength of 577 nm and injections of platelet autoplasm. *Saratov Scientific Medical Journal*. 2019;15(2):539–543 (In Russ.).
- Alío JL, Rodríguez AE, Ferreira-Oliveira R, Wróbel-Dudzińska D, Abdelghany AA. Treatment of Dry Eye Disease with Autologous Platelet-Rich Plasma: A Prospective, Interventional, Non-Randomized Study. *Ophthalmol Ther*. 2017 Dec;6(2):285–293. doi: 10.1007/s40123-017-0100-z.
- Ohlmann P, Eckly A, Freund M, Cazenave JP, Offermanns S, Gachet C. ADP induced partial platelet aggregation without shape change and potentiates collagen-induced aggregation in the absence of Galphax. *Blood*. 2000 Sep 15;96(6):2134–2139.
- Fatissou J, Mansouri S, Yacoub D, Merhi Y, Tabrizian M. Determination of surface-induced platelet activation by applying time-dependency dissipation factor versus frequency using quartz crystal microbalance with dissipation. *J R Soc Interface*. 2011 Jul 6;8(60):988–997. doi: 10.1098/rsif.2010.0617.
- Марковчин А.А. Физиологические особенности тромбоцитов. *Современные проблемы науки и образования*. 2014;6:1437.
- Markovchin AA. Physiological features of platelets. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014;6:1437 (In Russ.).
- Литвинов Р.И., Пешкова А.Д. Контракция (ретракция) сгустков крови и тромбов: патогенетическое и клиническое значение. *Альманах клинической медицины*. 2018;46(7):662–671.
- Litvinov RI, Peshkova AD. Contraction (retraction) of a blood clot and blood clots: pathogenetic and clinical significance. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(7):662–671 (In Russ.). doi: 10.18786/2072-05-05-2018-46-7-66-662-671.
- Пешкова А.Д., Сайхунов М.В., Демин Т.В., Ложкин А.П., Паносюк М.В., Литвинов Р.И., Хасанов Д.Р. Контракция (ретракция) сгустков крови у больных с острым ишемическим инсультом. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуск*. 2016;116 (3-2):9–17.
- Peshkova AD, Saikhunov MV, Demin TV, Lozhkin AP, Panosyuk MV, Litvinov RI, Hasanov DR. Contraction (retraction) of blood clots in patients with acute ischemic stroke. *Journal of Neurology and Psychiatry moniker Korsakov S.S. Special issues*. 2016;116(3-2):9–17 (In Russ.). doi: 10.17116/jnevro2016116329-17.
- Маркова Е.Ю., Дубровина К.А., Берева Б.Ш., Валиевская М.Е., Аминуллы Л.В., Пронько Н.А., Венедиктова Л.В. Современные тенденции в лечении воспалительных заболеваний глазной поверхности у детей. *Эффективная фармакотерапия*. 2019;15(17):12–15.
- Markova EYu, Dubrovina KA, Begeeva BSh, Valyavskaya ME, Aminulla LV, Pronko NA, Venediktova LV. Modern trends in the treatment of inflammatory diseases of the ocular surface in children. *Effective pharmacotherapy*. 2019;15(17):12–15 (In Russ.). doi: 10.33978/2307-3586-2019-15-17-12-15.
- Tiu RY. Resolving Vitreous Hemorrhage in the Setting of Diabetic Retinopathy. *Mathews J Case Rep*. 2019;4(1):43. doi: 10.30654/MJCR.10043.
- Мининкова А.И. Структура и функции тромбоцитов. Исследование тромбоцитов методом проточной цитофлуориметрии (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2010;11:21–26.
- Mininkova AI. [Platelet structure and functions (a review of literature). Part 1. *Klin Lab Diagn*. 2010 Nov;11:21–26 (In Russ.).
- Yakimenko AO, Verholomova FY, Kotova YN, Ataulkhanov FI, Pantelev MA. Identification of different proaggregatory abilities of activated platelet subpopulations. *Biophys J*. 2012 May 16;102(10):2261–2269. doi: 10.1016/j.bpj.2012.04.004.
- Медведев В.Л., Коган М.И., Михайлов И.В., Лепетунев С.Н. Аутологичная плазма, обогащенная тромбоцитами: что это и для чего? *Вестник урологии*. 2020;8(2):67–77.
- Medvedev VL, Kogan MI, Mikhailov IV, Lepetunov SN. Autologous plasma enriched with platelets: what is it and for what? *Bulletin of Urology*. 2020;8(2):67–77. doi: 10.21886/2308-6424-2020-8-2-67-77.
- Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct 21;21(20):7794. doi: 10.3390/ijms21207794.
- International Cellular Medicine Society. Guidelines for the use of platelet rich plasma (adopted 2011). Available by: <http://www.cellmedicinesociety.org/icms-guidelines> (date of application 16.09.2022).
- Woodell-May JE, Ridderman DN, Swift MJ, Higgins J. Producing accurate platelet counts for platelet rich plasma: validation of a hematology analyzer and preparation techniques for counting. *J Craniofac Surg*. 2005 Sep;16(5):749–756; discussion 757–759. doi: 10.1097/01.scs.00000180007.30115.fa.

30. Tavukcu HH, Aytaç Ö, Atug F, Alev B, Çevik Ö, Bülbül N, Yarat A, Çetinel Ş, Şener G, Kulaksızoglu H. Protective effect of platelet-rich plasma on urethral injury model of male rats. *Neurourol Uroldyn*. 2018 Apr;37(4):1286–1293. doi: 10.1002/nau.23460.
31. Weiser L, Bhargava M, Attia E, Torzilli PA. Effect of serum and platelet-derived growth factor on chondrocytes grown in collagen gels. *Tissue Eng*. 1999 Dec;5(6):533–544. doi: 10.1089/ten.1999.5.533.
32. Wang Z, Ahmad A, Li Y, Kong D, Asfar SA, Banerjee S, Sarkar FH. Selective expression of PDGF A and its receptor during early mouse embryogenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2010;180(6):122–130.
33. White JG, Rao GH, Gerrard JM. Effects of the ionophore A23187 on blood platelets I. Influence on aggregation and secretion. *Am J Pathol*. 1974 Nov;77(2):135–149.
34. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev*. 2009 Jul;23(4):177–189. doi: 10.1016/j.blre.2009.04.001. Epub 2009 May 17.
35. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть I. Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток. *Медицинская иммунология*. 2018;20(6):785–796.
Serebryanaya NB, Shanin SN, Fomicheva EE, Yakutseni PP. Platelets as activators and regulators of inflammatory and immune reactions. Part 1. The main characteristics of platelets as inflammatory cells. *Medical immunology*. 2018;20(6):785–796 (In Russ.).
36. Weyrich AS, Schwartz H, Kraiss LW, Zimmerman GA. Protein synthesis by platelets: historical and new perspectives. *J Thromb Haemost*. 2009 Feb;7(2):241–246. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03211.x.
37. Долгушин И.И., Мещенцева Е.А., Савочкина А.Ю., Кузнецова Е.К. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы. *Инфекция и иммунитет*. 2019;9(1):9–38.
Dolgushin II, Metsentseva EA, Savochkina AYU, Kuznetsova EK. Neutrophil as a «multifunctional device» of the immune system // *Infection and immunity*. 2019;9(1):9–38 (In Russ.). doi: 10.4049/jimmunol.1901121.
38. Iberg CA, Hawiger D. Natural and Induced Tolerogenic Dendritic Cells. *J Immunol*. 2020 Feb 15;204(4):733–744. doi: 10.4049/jimmunol.1901121.
39. Шамратов Р.З., Рамазанова Л.Ш., Напылова О.А. Дифференцированный подход к тактике хирургического лечения идиопатических макулярных разрывов. *THE EYE ГЛАЗ*. 2021;23(4):12–16.
Shamratov RZ, Ramazanova LS, Napylova OA. Differentiated Approach to Strategies of Surgical Treatment of Idiopathic Macular Holes. *THE EYE GLAZ*. 2021;23(4):12–16 (In Russ.). doi: 10.33791/2222-4-12-16.
40. Michalewska Z, Michalewski J, Dulciewska-Cichecka K, Adelman RA, Nawrocki J. Temporal inverted internal limiting membrane flap technique versus classic inverted internal limiting membrane flap technique: A Comparative Study. *Retina*. 2015 Sep;35(9):1844–1850. doi: 10.1097/IAE.0000000000000555.
41. Шкворченко Д.О., Захаров В.Д., Крупина Е.А., Письменская В.А., Какунина С.А., Норманн К.С., Петерсен Е.В. Хирургическое лечение первичного макулярного разрыва с применением богатой тромбоцитами плазмы крови. *Офтальмохирургия*. 2017;3:27–30.
Shkvorchenko DO, Zakharov VD, Krupina EA, Pismenskaya VA, Kakunina SA, Norman KS, Petersen EV. Surgical treatment of primary macular hole using platelet-rich plasma. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2017;3:27–30 (In Russ.).
42. Chakrabarti M, Benjamin P, Chakrabarti K, Chakrabarti A. Closing macular holes with «macular plug» without gas tamponade and postoperative posturing. *Retina*. 2017 Mar;37(3):451–459. doi: 10.1097/IAE.0000000000001206.
43. Zhu D, Ma B, Zhang J, Huang R, Liu Y, Jing X, Zhou J. Autologous blood clot covering instead of gas tamponade for macular holes. *Retina*. 2020 Sep;40(9):1751–1756. doi: 10.1097/IAE.0000000000002651.
44. Клейменов А.Ю., Казайкин В.Н., Липина М.А. Сравнительный анализ эффективности хирургического лечения сквозных макулярных разрывов с применением и без применения послеоперационной газовой тампонады витреальной полости. *Офтальмохирургия*. 2022;2:6–14.
Kleimenov AYU, Kazaykin VN, Lipina MA. Comparative analysis of the effectiveness of surgical treatment of end-to-end macular ruptures with and without the use of postoperative gas tamponade of the vitreal cavity. *Ophthalmosurgery*. 2022;2:6–14 (In Russ.). doi: 10.25276/0235-4160-2022-2-6-14.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

АО «Екатеринбургский центр МНТК «Микрохирургия глаза»
Казайкин Виктор Николаевич
доктор медицинских наук, врач-офтальмохирург, ведущий научный сотрудник
ул. Академика Бардина, 4а, Екатеринбург, 620149, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0001-9569-5906>

АО «Екатеринбургский центр МНТК «Микрохирургия глаза»
Демченко Надежда Сергеевна
кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики и лабораторной генетики
ул. Академика Бардина, 4а, Екатеринбург, 620149, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-5196-2168>

АО «Екатеринбургский центр МНТК «Микрохирургия глаза»
Клейменов Андрей Юрьевич
врач-офтальмохирург
ул. Академика Бардина, 4а, Екатеринбург, 620149, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-1848-1207>

ABOUT THE AUTHORS

Eye Microsurgery Ekaterinburg Center
Kazaykin Viktor N.
MD, ophthalmic surgeon, leading researcher
Akademichan Bardin, 4A, Yekaterinburg, 620149, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0001-9569-5906>

Eye Microsurgery Ekaterinburg Center
Demchenko Nadezhda S.
PhD, doctor of Clinical laboratory diagnostics and laboratory genetics
Akademichan Bardin, 4A, Yekaterinburg, 620149, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-5196-2168>

Eye Microsurgery Ekaterinburg Center
Kleimenov Andrey Yu.
ophthalmic surgeon
Akademichan Bardin, 4A, Yekaterinburg, 620149, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-1848-1207>