



ВЛИЯНИЕ ВЫСОТЫ ЗАПОЛНЕНИЯ ПРОБИРОК КРОВЬЮ НА КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОЛУЧАЕМОЙ ТРОМБОЦИТАРНОЙ ПЛАЗМЫ

Бокарев Александр Владимирович, др.ветеринар.наук, доц.

Минина Анастасия Олеговна, канд.ветеринар.наук, доц.

Холодный Руслан Дмитриевич

Пилипец Елизавета Ярославовна

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, Россия

РЕФЕРАТ

На образцах крови крыс линии Вистар исследована взаимосвязь между высотой заполнения пробирок кровью и количественными показателями тромбоцитарной плазмы, получаемой путем центрифугирования. В качестве критериев сравнения выбрана высота заполнения пробирок 6,0 см и 3,0 см. В сочетании с другим критерием, таким как объем крови помещенной в пробирку, всего было исследовано и проанализировано четыре (4) варианта получения тромбоцитарной плазмы. В первом варианте (№1) пробирки содержали 4,0 мл крови, высота заполнения пробирок была 6,0 см. Во втором варианте (№2) пробирки содержали 2,0 мл крови, высота заполнения пробирок была 3,0 см. В третьем варианте (№3) были использованы инсулиновые шприцы, которые содержали 1,0 мл крови, высота их заполнения составляла 6,0 см. В четвертом варианте (№4) так же использовали инсулиновые шприцы, которые содержали 0,5 мл крови, высота их заполнения составляла 3,0 см. Все пробирки/шприцы центрифугировали в одинаковом режиме (3000 об/мин – 1,0 минута + 1000 об/мин – 10,0 мин) на центрифуге ОПН-3 с бакет-ротором. Далее, в отделившейся плазме сразу определяли концентрацию тромбоцитов на разном расстоянии от верхнего слоя эритроцитарного осадка. Затем плазму полностью отбирали, определяли концентрацию тромбоцитов и ее объем. Результаты обрабатывали методами вариационной статистики.

Анализ полученных результатов показал, что в вариантах №1 и №3, концентрация тромбоцитов в полученной плазме была почти на 30% и на 10% выше, чем в вариантах №2 и №4, соответственно. Учитывая, что общее количество полученной плазмы, выраженное в процентах относительно исходного количества крови, во всех вариантах было примерно одинаково, можно сделать вывод, что более высокий уровень заполнения пробирок кровью перед центрифугированием позволяет получить плазму более насыщенную тромбоцитами.

Ключевые слова: Крысы, кровь, тромбоцитарная плазма, центрифугирование.

ВВЕДЕНИЕ

Центрифугирование стабилизированной крови для отделения плазмы от форменных элементов является рутинной и простой лабораторной процедурой. Однако, для того, что бы при помощи центрифугирования разделить на чистые фракции сами форменные элементы требуются дополнительные и весьма изощренные методики. В том случае, если стабилизированная кровь просто достаточно долго стоит в пробирке или центрифугируется при высоких скоростях, то она разделяется на чистую плазму и клеточный осадок. В последнем форменные элементы крови распределяются таким образом, что в самом низу в основном оказываются эритроциты, над ними лежит тонкая пленка лейкоцитов, а выше совсем тонким слоем располагается слой тромбоцитов. Распределение клеток в осадке обусловлено разницей в скорости их спонтанной или индуцированной центрифугированием седиментацией. А сама скорость осаждения клеток в большей степени зависит от их плотности относительно бесклеточной плазмы и относительно друг друга [1;2]. Самыми тяжелыми являются эритроциты. Их плотность относительно воды, у млекопитающих, составляет примерно 1,095. Поэтому после

центрифугирования они оказываются в самом низу. Несколько легче гранулоциты – 1,085. Плотность лимфоцитов составляет примерно 1,075. И самыми легкими являются тромбоциты, плотность которых варьирует от 1,040 до 1,06. Плотность бесклеточной плазмы относительно воды составляет примерно 1,026 [3]. Безусловно, существует незначительная индивидуальная внутривидовая и межвидовая вариабельность данных показателей, но общая закономерность сохраняется. Разделение клеток на чистые фракции в соответствии с разностью их плотности широко используется в иммунологии и осуществляется путем градиентного центрифугирования лимфоцитов и гранулоцитов крови [7; 8].

С развитием регенеративной медицины появилась потребность в простых рутинных методах позволяющих получать плазму, содержащую большое количество тромбоцитов и лишённую лейкоцитарной примеси. Так как последняя может индуцировать воспаление по месту введения. С этой целью было предложено много методов, одним из которых является использование пробирок с разделительным гелем [10]. По задумке авторов, такой гель при центрифугировании должен пропускать эритроциты и лейкоциты, но задерживать тромбоциты. Однако наши

собственные исследования по работе с кровью животных, а также работы других исследователей по работе с кровью людей, показали низкую эффективность данных пробирок. При низких оборотах эритроциты не преодолевают разделительный гелевый барьер. А при высоких – тромбоциты прилипают к гелю [4; 6; 5; 8]. Поэтому центрифугирование в обычных пробирках остается и более простой, и более дешевой, и более физиологичной в отношении тромбоцитов процедурой. Методики получения плазмы, обогащенной тромбоцитами путем центрифугирования в обычных пробирках или в пробирках специальной конструкции, так же описаны во множестве руководств, статей и авторских свидетельствах [10]. Однако практически во всех методических рекомендациях внимание акцентируется только на двух критериях (основных условий получения хорошего результата) - скорость и время центрифугирования. И поэтому многие, кто впервые пытаются воспроизвести указанные методики, и основываются только на этих двух критериях, очень часто получают неудовлетворительный результат. Т.е., получают плазму или содержащую малое количество тромбоцитов, или имеющую примесь большого количества лейкоцитов. Дело в том, что, с одной стороны, скорость центрифугирования, действительно, является определяющим фактором, который позволяет одним клеткам крови двигаться под действием центробежной силы быстрее, чем другим. Но, с другой, и такие потенциально медленные клетки как тромбоциты, и такие потенциально быстрые как лейкоциты и эритроциты, в момент старта (включения центрифуги) не стоят ровно в ряд на одной линии, а равномерно распределены между друг другом и полностью заполняют собой пространство между условным стартом, представляющим собой мениск крови в пробирке, и условным финишем, которым является дно пробирки. Отсюда становится понятным, что четкое разделение на фракции быстро и медленно двигающихся клеток не может быть возможным при недостаточной дистанции для обгона одних клеток другими. А дистанция обгона это и есть расстояние от мениска крови до дна пробирки. Т.е., высота заполнения пробирки кровью.

Исходя из этого целесообразно провести исследование как высота заполнения пробирок, которая и определяет дистанцию на которой происходит отставание более легких клеток от более тяжелых влияет на количественные и качественные показатели тромбоцитарной плазмы полученные при помощи центрифугирования.

Цель исследования. Определить влияние высоты заполнения пробирки на количественные характеристики тромбоцитарной плазмы полученной путем центрифугирования.

Задачи исследования. Для достижения цели исследования различные по объёму пробы крови помещали в пробирки с разным внутренним диаметром, что определяло высоту столбика крови в пробирки. Получение тромбоцитарной плазмы проводили путем центрифугирования при абсолютно равных условиях. В полученных

образцах плазмы определяли абсолютное и относительное содержание тромбоцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования была кровь, полученная от 20 крыс линии Вистар. Во время манипуляций животные находились под севофлурановым наркозом. Забор крови, по 2,0 мл от каждого животного, проводили из подкожной вены голени. Кровь брали инсулиновым шприцом и помещали в пробирки с цитратом натрия. После чего проводили подсчет гемограмм. Далее все образцы крови объединяли и проводили повторный подсчет суммарной гемограммы (рисунок 1). Объединение образцов крови взятых у разных крыс проводили с целью стандартизации (усреднения) количества клеток крови и физико-химических свойств плазмы для всех экспериментальных вариантов центрифугирования. Поскольку животные были линейные, данное смешивание не приводило к агрегации клеток и гемокоагуляции.

Подсчет клеточных элементов в цельной крови и в полученной тромбоцитарной плазме проводили на гематологическом анализаторе МЕК-6550. Разделение крови на эритроцитарный осадок и тромбоцитарную плазму проводили на центрифуге ОПН-3. В качестве пробирок для малого объёма крови имеющих маленький внутренний диаметр использовали инсулиновые шприцы. Для получения плазмы обогащенной тромбоцитами кровь центрифугировали в два этапа по собственной методике. Первое центрифугирование 1 минута при 3000 оборотов в минуту. И следующее центрифугирование 10 минут при 1000 оборотов в минуту.

Всего было опробовано четыре экспериментальных варианта центрифугирования. Первый вариант (№1) – в пробирке находилось 4,0 мл крови. Высота столбика крови от дна центрифужной пробирки равнялась 6,0 см (рисунок 2а). Второй вариант (№2) – в пробирке находилось 2,0 мл крови. Высота столбика крови от дна центрифужной пробирки равнялась 3,0 см (рисунок 2б).

Третий вариант (№3) – в инсулиновом шприце находился 1,0 мл крови. Высота столбика крови от нижнего конца шприца равнялась 6,0 см (рисунок 3в). Четвертый вариант (№4) – в инсулиновом шприце находился 0,5 мл крови. Высота столбика крови от нижнего конца шприца равнялась 3,0 см (рисунок 3б).

Все варианты выделения проводились в пяти повторах. После завершения центрифугирования и осадения эритроцитарного осадка (рисунок 2 (а-1, б-1); рисунок 3 (а-1, б-1)), в отделившейся плазмы, проводили замеры концентрации тромбоцитов. Замеры проводили в трех или двух точках расположенных на разном расстоянии столбика отделившейся плазмы осадка (рисунок 4(а); рисунок 5(а); рисунок 6(а); рисунок 7(а)). После этого, из каждой пробирки/шприца в отдельные эппендорфы аккуратно отбирали плазму не захватывая лейкоцитарный слой, лежащий на поверхности эритроцитарного осадка. И повторно измеряли объем полученной плазмы и концентрацию тромбоцитов в каждом эппендорфе. По-

лученные результаты обрабатывали. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью персонального компьютера на программе BioStat Professional 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно проведенным исследованиям получены следующие результаты.

Для пробирок содержащих 4,0 мл крови и высотой заполнения 6,0 см аккуратный отбор плазмы без захвата надэритроцитарной пленки, позволил получить $1,66 \pm 0,11$ мл тромбоцитарного продукта не содержащего лейкоцитов (таблица 1 (в-1)). Для пробирки содержащей 2,0 мл крови и высотой заполнения 3,0 см объем полученной тромбоцитарной плазмы составил $1,06 \pm 0,11$ мл (таблица 1(в-2)). Для инсулинового шприца, используемого в качестве пробирки содержащего 1,0 мл крови и высоту заполнения 6,0 см объем полученной тромбоцитарной плазмы составил $0,41 \pm 0,02$ мл (таблица 1(в-3)). И для инсулинового шприца содержащего 0,5 мл крови и высоту заполнения 3,0 см - $0,21 \pm 0,01$ мл (таблица 1(в-4)).

Таким образом, объем полученной плазмы по отношению к объему эритроцитарного осадка в трех вариантах №1, №3 и №4 составил примерно 40% (рисунок 2(а-а1); рисунок 3(а-а1;б-б1); таблица 1(г-1; г-3; г-4)). Исключение составляет вариант №2, в котором объем полученной плазмы по отношению к объему эритроцитарного осадка составил чуть более 50% (рисунок 2(б-б1); таблица 1(г-2)). Процент концентрирования тромбоцитов в полученной плазме имел обратную закономерность. Минимальное концентрирование имело место в варианте №2 и составило 142% (таблица 1 (ж-2)). Что в абсолютных цифрах составило $928 \pm 81 \times 10^3$ тр/мкл (таблица 1(д-2)). А максимальное концентрирование имело место в варианте №1 - 196% (таблица 1(ж-1)). Что в абсолютных цифрах составило $1275 \pm 61 \times 10^3$ тр/мкл (таблица 1 (д-1)). Среднее концентрирование имело место в варианте №3 - 171% (таблица 1(ж-3)). Что в абсолютных цифрах составило $1116 \pm 51 \times 10^3$ тр/мкл (таблица 1(д-3)). И близкое к минимальному в варианте №4 - 152% (таблица 1(ж-4)). Что в абсолютных цифрах составило $999 \pm 123 \times 10^3$ тр/мкл (таблица 1(д-4)). Но в последнем варианте результат кардинально отличался от предыдущих тем, что плазма была сильно контаминирована лейкоцитами, что накладывает ограничение ее использование в терапии (таблица 1(е-4)).

Проведенные исследования так же показали, что в представленных вариантах получения тромбоцитарной плазмы имеют место отличия в градиенте концентрации тромбоцитов в направлении от мениска плазмы до начала эритроцитарного осадка. Так при высоком (6,0 см) заполнении кровью пробирок, плотность тромбоцитов в столбике плазмы (рисунок 4(а)) распределяется градиентно с увеличением сверху вниз (рисунок 4(б,в,г)). Сходная картина наблюдается при центрифугировании 1,0 мл крови в инсулиновых шприцах, при котором высота заполнения последнего так же составляет 6,0 см. За исключением того, что в верхней трети столбика плазмы

концентрация тромбоцитов ниже исходной концентрации цельной крови (рисунок 6(а,б,в,г)). В тех вариантах получения тромбоцитарной плазмы, в которых высота заполнения пробирки/инсулинового шприца составляла только 3,0 см распределение плотности тромбоцитов сверху вниз было более ступенчатым. Что определялось как визуально по резкому изменению мутности (рисунок 5(а); рисунок 7(а)). Так и точным подсчетом на гематологическом анализаторе (рисунок 5(б,в); рисунок 7(б,в)). Причем в случае использования в качестве центрифужной пробирки инсулинового шприца, в нижнем концентрированном слое тромбоцитов сохраняется очень большое количество лейкоцитов (рисунок 7(в)).

Обсуждение и выводы. Т.о., если сравнивать между собой вариант №1 и вариант №2, а также вариант №3 и вариант №4, то очевидно, что в том случае, когда высота заполнения пробирки/инсулинового шприца была 6,0 см, эффективность процедуры выделения тромбоцитов путем центрифугирования была выше.

Причем имеет место близкое сходство по основным количественным показателям полученной тромбоцитарной плазмы как между вариантами №1 и №3, в которых высота заполнения пробирок/инсулиновых шприцов была 6,0 см. Так и между вариантами №2 и №4, в которых высота заполнения пробирок/инсулиновых шприцов была 3,0 см.

Как показано в таблице 1, в вариантах №1 и №3 количество тромбоцитов в 1 мкл полученной плазмы составило $1275 \pm 61 \times 10^3$ и $1116 \pm 51 \times 10^3$ соответственно (таблица 1 (д-1; д-3)). Что, во-первых, сходно, и во-вторых выше, чем в вариантах №2 и №4 в которых те же показатели составили соответственно $928 \pm 81 \times 10^3$ и $999 \pm 123 \times 10^3$ (таблица 1(д-2; д-4)).

Аналогичная закономерность наблюдается при сравнении относительного увеличения концентрации тромбоцитов в полученной плазме при центрифугировании пробирок/шприцов с высотой заполнения кровью 6,0 см и пробирок/шприцов с высотой заполнения кровью 3,0 см.

Так в вариантах №1 и №3 (6,0 см) концентрация тромбоцитов в полученной плазме относительно концентрации цельной крови составила 196,15% и 171,70% соответственно (таблица 1(к-1; к-3)).

В то время как в вариантах №2 и №4 (3,0 см) концентрация тромбоцитов в полученной плазме относительно концентрации цельной крови была представлена меньшими величинами - 142,77 и 153,70% соответственно (таблица 1(к-2; к-4)).

Из всех полученных и представленных показателей только процентное соотношение количества тромбоцитов в объеме полученной плазмы к количеству тромбоцитов в объеме центрифугированной крови в экспериментальном варианте №2 выбивается из общей тенденции. В данном варианте, при котором высота заполнения пробирки была 3,0 см, этот показатель составил 75,0%. В то время как в варианте №3 с высотой заполнения инсулинового шприца также на 6,0 см данный показатель был меньше и составил 70,0% (таблица 1(и-2; и-3)). Данный артефакт, по-видимому, обусловлен тем, что относительное

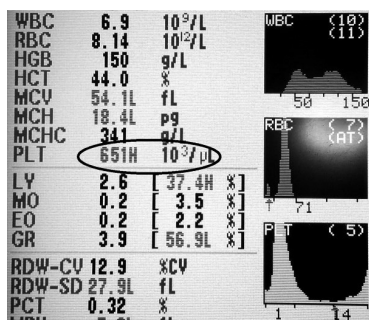


Рисунок 1. Гемограмма смешанной крови взятой от 20 крыс линии Вистар. Эллипсом выделена концентрация тромбоцитов в одном микролитре крови.

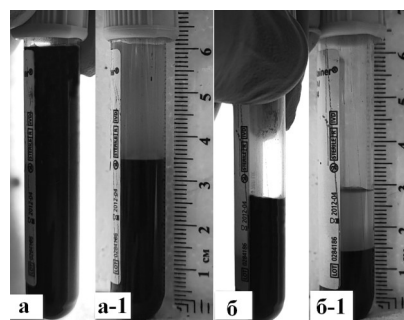


Рисунок 2. Цитратная кровь крыс до и после центрифугирования в пробирках при режиме 3000 об/мин – 1,0 минута + 1000 об/мин – 10,0 минут; а - пробирка с 4,0 мл крови; б – пробирка содержащая 2,0 мл крови; а-1 и б-1 соотношение эритроцитарного осадка и плазмы после центрифугирования.

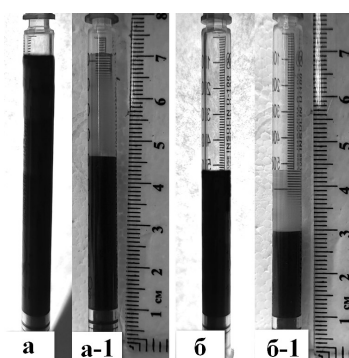


Рисунок 3. Цитратная кровь крыс до и после центрифугирования в инсулиновых шприцах при режиме 3000 об/мин – 1,0 минута + 1000 об/мин – 10,0 минут; а - шприц с 1,0 мл крови; б – шприц содержащий 0,5 мл крови; а-1 и б-1 соотношение эритроцитарного осадка и плазмы после центрифугирования.



Рисунок 4. Распределение концентрации тромбоцитов в плазме в зависимости от удаленности от мениска. Плазма получена из 4,0 мл крови с высотой заполнения пробирки 6,0 см; а – точки замера тромбоцитарной концентрации; б; в; г – гемограммы с количественным показателем концентрации тромбоцитов из каждой точки (обведены).

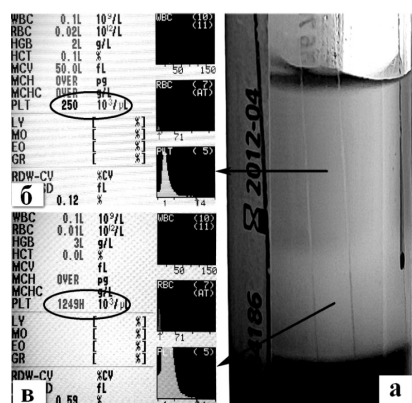


Рисунок 5. Распределение концентрации тромбоцитов в плазме в зависимости от удаленности от мениска. Плазма получена из 2,0 мл крови с высотой заполнения пробирки 3,0 см; а – точки замера тромбоцитарной концентрации; б; в; – гемограммы с количественным показателем концентрации тромбоцитов из каждой точки (обведены).

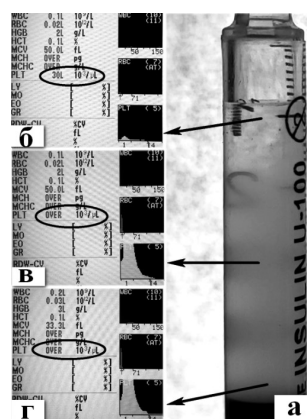


Рисунок 6. Распределение концентрации тромбоцитов в плазме в зависимости от удаленности от мениска. Плазма получена из 1,0 мл крови с высотой заполнения инсулинового шприца 6,0 см; а – точки замера тромбоцитарной концентрации; б; в; г – гемограммы с количественным показателем концентрации тромбоцитов из каждой точки (обведены).

Таблица 1.
Абсолютные и относительные значения концентрации тромбоцитарной плазмы полученной центрифугированием в пробирках с разной высотой заполнения кровью

		Ед. измерения	Пробирки		Инсулиновые шприцы	
Количество Тр в 1 мкл цельной крови		$\times 10^3$	650,0	650,0	650,0	650,0
Варианты		№	1	2	3	4
а	Объём крови/высота наполнения пробирки кровью	Мл/см	4/6	2/3	1/6	0,5/3
б	Суммарное количество Тр во всем объёме взятой крови	$\times 10^6$	2600,0	1300,0	650,0	325,0
в	Количество плазмы полученной после центрифугирования (n=5)	мл	1,66 $\pm$ 0,11	1,06 $\pm$ 0,11	0,41 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,01
г	Соотношение объёма полученной плазмы к исходному количеству крови	%	41,50	53,00	41,00	42,00
д	Среднее количество Тр в 1 мкл полученной плазмы (n=5)	$\times 10^3$	1275 $\pm$ 61	928 $\pm$ 81	1116 $\pm$ 51	999 $\pm$ 123
е	Среднее количество Лк в 1 мкл полученной плазмы (n=5)	$\times 10^3$	-	-	-	21 $\pm$ 2,8
ж	Концентрация Тр в 1 мкл полученной плазмы относительно исходного количества в 1 мкл центрифугируемой крови	%	196	142	171	154
з	Суммарное количество Тр во всем объёме полученной плазмы	$\times 10^6$	2117,0	984,0	458,0	210,0
и	Общее количество Тр в полученной плазме относительно исходного количества в центрифугируемой крови	%	81	75	70	64
к	Концентрация Тр в полученной плазме относительно исходного количества в центрифугируемой крови	%	196,15	142,77	171,70	153,70
л	Количество Тр в условном 1 мл полученной плазмы	$\times 10^6$	1275,0	928,0	1116,0	999,0

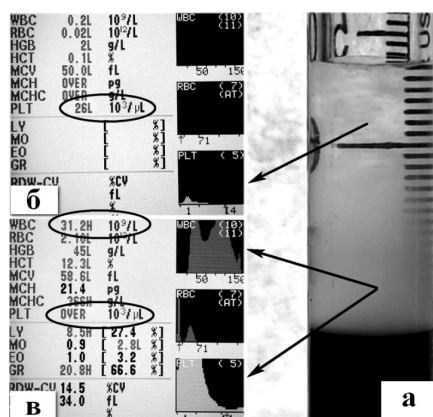


Рисунок 7. Распределение концентрации тромбоцитов в плазме в зависимости от удаленности от мениска. Плазма получена из 0,5 мл крови с высотой заполнения инсулинового шприца 3,0 см; а – точки замера тромбоцитарной концентрации; б; в; – гемограммы с количественным показателем концентрации тромбоцитов из каждой точки (обведены). На гемограмме «в» кроме тромбоцитов визуализируется примесь большого количества лейкоцитов.

количество плазмы в варианте №2 выше, чем в остальных более чем на 10% (таблица 1(г-2)), но их общее количество пересчитанное на весь объём несколько искажает общую закономерность.

ВЫВОДЫ

Подводя итог всему выше сказанному можно сделать несколько основополагающих выводов.

1 – Чистота разделения клеток крови на фракции под действием центробежной силы зависит от дистанции проходимой клеткой от места старта в начале центрифугирования до места финиша по ее окончании.

2 – Чем длиннее дистанции пробега клеточных элементов крови под действием центробежной силы, тем значительнее тромбоциты отстают от более тяжелых и более быстродвигающихся эритроцитов и лейкоцитов и эффективней накапливаются в плазме.

3 – Увеличить дистанцию пробега клеток крови при центрифугировании и, тем самым увеличить количество и концентрацию тромбоцитарной плазмы, можно путем увеличения высоты заполнения пробирок. А при равных объёмах крови путем использования пробирок или их аналогов с меньшим внутренним диаметром.

3 – Для получения плазмы обогащенной тромбоцитами из малых объёмов (1,0 – 0,5 мл)

крови можно в качестве пробирок использовать инсулиновые шприцы, которые за счет малого внутреннего диаметра увеличивают высоту заполнения и, соответственно эффективную дистанцию разделения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боейков, В.Л. Кровь как активный коллоид. Нелинейные эффекты, наблюдаемые при седиментации крови, разведенной физиологическим раствором / В.Л. Боейков, Е.В. Буравлева, С.Э. Кондаков // Вестник Московского университета. - Серия 2: Химия. - 2012. - Т. 53. - № 6. - С. 413-416.
2. Кондаков, С.Э. Седиментация форменных элементов крови. Модель активной коллоидной системы / С.Э. Кондаков, М.Я. Мельников, А.А. Токарев // Вестник Московского университета. - Серия 2: Химия. - 2008. - Т. 49. - № 4. - С. 238-240.
3. Липунова, Е.А. Физиология крови: монография / Е.А. Липунова, М.Ю. Скоркина. - Белгород : Изд-во БелГУ, 2007. - 324 с. - ISBN 978-5-9571-0305-9.
4. Неэффективный Плазмолифтинг. Гель – зло // Cross D : [сайт]. - 2018. - URL : <https://cross-dental.com/ru/posts/2765747/> (дата обращения 05.11.2023).
5. Оптимизация метода получения плазмы, обога-

щенной тромбоцитами (PRP) из крови лошадей / А.Ю. Захаров, А.В. Бокарев, А.А. Стекольников [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2020. - № 4. С. - 89-92.

6. Сулаева, О.Н. Получение богатой тромбоцитами плазмы: мифы и реальность / О.Н. Сулаева // Мир медицины и биологии. - 2017. - Т. 13. - № 3 (61). - С. 150-153.

7. Фримель, Г. Иммунологические методы : монография / Г. Фримель - Москва: «Медицина», 1987. - С. 226-254.

8. Хейфец, Л.Б. Разделение форменных элементов крови человека в градиенте плотности верографин-фикола / Л.Б. Хейфец, В.А. Абалакин // Лабораторное дело. - 1973. - № 10. - С. 579-581.

9. Effect of anticoagulant type and centrifugation speed on platelet-rich plasma of cats and dogs blood / M. Sverdlova, A. Zakharov, A. Stekolnikov [et al.] // EurAsian Journal of BioSciences. - 2020. - Т. 14. - № 2. - С. 7589-7593.

10. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review / P.A. Everts, J.T. Knape, G. Weibrich [et al.] // The journal of extra-Corporeal Technology. - 2006. - № 38(2). - P. 174-187.

THE EFFECT OF THE HEIGHT OF FILLING THE TUBES WITH BLOOD ON THE QUANTITATIVE INDICATORS OF THE RESULTING PLATELET PLASMA

Alexander V. Bokarev, Dr.Habil. in veterinary sciences, Docent

Anastasia O. Minina, PhD of Veterinary Sciences, Docent

Ruslan D. Kholodny

Elizaveta Ya. Pilipets

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, Russia

The relationship between the height of filling of test tubes with blood and quantitative indicators of platelet plasma obtained by centrifugation was studied on blood samples of Wistar rats. The test tube filling height of 6.0 cm and 3.0 cm was chosen as the comparison criteria. In combination with another criterion, such as the volume of blood placed in a test tube, a total of four (4) variants of platelet plasma production were investigated and analyzed. In the first variant (No. 1), the tubes contained 4.0 ml of blood, the height of filling the tubes was 6.0 cm. In the second variant (No. 2), the tubes contained 2.0 ml of blood, the filling height of the tubes was 3.0 cm. In the third variant (No. 3), insulin syringes were used, which contained 1.0 ml of blood, their filling height was 6.0 cm. In the fourth variant (No. 4), insulin syringes were also used, which contained 0.5 ml of blood, their filling height was 3.0 cm. All test tubes/syringes were centrifuged in the same mode (3000 rpm – 1.0 min + 1000 rpm – 10.0 min) on an OPN-3 centrifuge with a bucket rotor. Further, the concentration of platelets in the separated plasma was immediately determined at different distances from the upper layer of the erythrocyte sediment. Then the plasma was completely sampled, the platelet concentration and its volume were determined.

The results were processed by methods of variational statistics. Analysis of the results showed that in variants No. 1 and No. 3, the concentration of platelets in the resulting plasma was almost 30% and 10% higher than in variants No. 2 and No. 4, respectively. Considering that the total amount of plasma obtained, expressed as a percentage relative to the initial amount of blood, was approximately the same in all variants, it can be concluded that a higher level of filling of test tubes with blood before centrifugation makes it possible to obtain plasma more saturated with platelets.

Key words: Rats, blood, platelet plasma, centrifugation.

REFERENCES

1. Boyeykov, V.L. Blood as an active colloid. Nonlinear effects observed during sedimentation of blood diluted with physiological solution / V.L. Boyeykov, E.V. Buravleva, S.E. Kondakov // Bulletin of Moscow University. - Episode 2: Chemistry. - 2012. - Т. 53. - No. 6. - P. 413-416.
2. Kondakov, S.E. Sedimentation of blood cells. Model of an active colloidal system / S.E. Kondakov, M.Ya. Melnikov, A.A. Tokarev // Bulletin of Moscow University. - Episode 2: Chemistry. - 2008. - Т. 49. - No. 4. - P. 238-240.
3. Lipunova, E.A. Physiology of blood: monograph / E.A. Lipunova, M.Yu. Skorkina. - Belgorod: BelSU Publishing House, 2007. - 324 p. - ISBN 978-5-9571-0305-9.
4. Ineffective Plasmolifting. Gel is evil // Cross D: [website]. - 2018. - URL: <https://cross-dental.com/ru/posts/2765747/> (access date 11/05/2023).
5. Optimization of the method of obtaining platelet-rich plasma (PRP) from the blood of horses / A.Yu. Zakharov, A.V.

Bokarev, A.A. Stekolnikov [et al.] // Issues of legal regulation in veterinary medicine. - 2020. - No. 4. S. - 89-92.

6. Sulaeva, O.N. Obtaining platelet-rich plasma: myths and reality / O.N. Sulaeva // World of medicine and biology. - 2017. - Т. 13. - No. 3 (61). - P. 150-153.

7. Frimel, G. Immunological methods: monograph / G. Frimel - Moscow: "Medicine", 1987. - P. 226-254.

8. Kheifets, L.B. Separation of human blood cells in a verografin-ficoll density gradient / L.B. Kheifets, V.A. Abalakin // Laboratory work. - 1973. - No. 10. - P. 579-581.

9. Effect of anticoagulant type and centrifugation speed on platelet-rich plasma of cats and dogs blood / M. Sverdlova, A. Zakharov, A. Stekolnikov [et al.] // EurAsian Journal of BioSciences. - 2020. - Т. 14. - № 2. - С. 7589-7593.

10. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review / P.A. Everts, J.T. Knape, G. Weibrich [et al.] // The journal of extra-Corporeal Technology. - 2006. - № 38(2). - P. 174-187.