© Коллектив авторов, 2020
УДК 612.111.7
DOI 10.21886/2308-6424-2020-8-2-67-77
ISSN 2308-6424

Аутологичная плазма обогащённая тромбоцитами: что это и для чего?

Владимир Л. Медведев[1,2,3], Михаил И. Коган[3], Игорь В. Михайлов[1,2], Сергей Н. Лепетунов[1,2]

[1]ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России
350063, Россия, г. Краснодар, ул. им. М. Седина, д. 4
[2]ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1 им. проф. С.В. Очаповского» Минздрава Краснодарского края
350086, Россия, г. Краснодар, ул. 1 Мая, д. 167
[3]ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России
344022, Россия, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, д. 29

Аутологичная плазма обогащённая тромбоцитами (АПОТ/PRP) часто используется в различных отраслях медицины. Сфера применения PRP-терапии расширилась от стимуляции регенерации костей, заживления ран и язв, скелетно-мышечных травм до повышения возможностей в приживлении различных видов трансплантатов. Благодаря природным свойствам плазмы обогащённой тромбоцитами введение её в организм человека является одной из перспективных процедур в восстановлении тканей. После разрушения тромбоцитов АПОТ содержит α-гранулы, из которых после активации высвобождается множество факторов, таких как трансформирующий фактор роста-бета (TGF-β), фактор роста эндотелия сосудов (VGFF) и эпидермальный фактор роста (EGF). Нынешнее состояние проблемы использования АПОТ несёт в себе огромную перспективу по развитию методологии, которая обусловлена многими аспектами, делающими эту процедуру простой. АПОТ может улучшить течение множества урологических заболеваний, таких как эректильная дисфункция, болезнь Пейрони, стриктурная болезнь уретры, пузырно-влагалищные свищи, интерстициальный цистит и стрессовое недержание мочи. Существует множество протоколов для подготовки АПОТ, каждый из которых имеет свои стандартизированные параметры и заявленные результаты. В статье представлен обзор литературы по применению плазмы обогащённой тромбоцитами в урологии, фокусируется внимание на определении АПОТ, различных методах подготовки и активации, а также концентрации факторов роста.

Ключевые слова: плазма обогащённая тромбоцитами; урология; эректильная дисфункция; пузырно-влагалищные свищи; болезнь Пейрони; интерстициальный цистит; стриктура уретры

Раскрытие информации: Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Поступила в редакцию: 29.04.2020. ***Принята к публикации:*** 09.06.2020. ***Опубликована:*** 26.06.2020.
Автор для связи: Сергей Николаевич Лепетунов; тел.: +7 (918) 414-64-62; e-mail: lepetunov@gmail.com
Для цитирования: Медведев В.Л., Коган М.И., Михайлов И.В., Лепетунов С.Н. Аутологичная плазма обогащённая тромбоцитами: что это и для чего? *Вестник урологии.* 2020;8(2):67-77. https://doi.org/10.21886/2308-6424-2020-8-2-67-77

Platelet-rich autologous plasma: what is it and for what?

Vladimir L. Medvedev[1,2,3], Mikhail I. Kogan[3], Igor V. Mihailov[1,2], Sergey N. Lepetunov[1,2]

[1]Kuban State Medical University
350063, Russian Federation, Krasnodar, 4 Mitrofana Sedina str.
[2]Prof. S.V. Ochapovsky Scientific and Research Institute – Krasnodar Regional Clinical Hospital No. 1
350086, Russian Federation, Krasnodar, 167 1st May str.
[3]Rostov State Medical University
344022, Russian Federation, Rostov-on-Don, 29 Nakhichevansky lane

Platelet-rich autologous plasma (PRP) is often used in various branches of medicine. The scope of PRP therapy has expanded from stimulating bone regeneration, healing wounds and ulcers, and musculoskeletal injuries to improving

the ability to engrave various types of grafts. Due to the natural properties of platelet-rich plasma, its introduction into the human body is one of the most promising procedures for tissue restoration. After the destruction of platelets, PRP contains α-granules, from which many factors are released after activation, such as transforming growth factor-beta (TGF-β), vascular endothelial growth factor (VGFF) and epidermal growth factor (EGF). The current state of the problem of using APOT has a huge perspective on the development of the methodology, which is due to many aspects that make this procedure simple. PRP can improve the course of many urological diseases, such as erectile dysfunction, Peyronie's disease, urethral stricture, vesicovaginal fistulas, interstitial cystitis, and stress urinary incontinence. There are many protocols for preparing PRP, each of which has its standardized parameters and stated results. The article presents a review of the literature on the use of platelet-rich plasma in urology, focuses on the definition of PRP, various methods of preparation and activation, as well as the concentration of growth factors.

Key words: platelet-rich plasma; urology; erectile dysfunction; vesicovaginal fistulas; Peyronie's disease; interstitial cystitis; urethral strictures

Disclosure: The study did not have sponsorship. The authors have declared conflicts of interest.
Received: 29.04.2020. ***Accepted:*** 09.06.2020. ***Published:*** 26.06.2020.
For correspondence: Sergey N. Lepetunov; tel.: +7 (918) 414-64-62; e-mail: lepetunov@gmail.com
For citation: Medvedev V.L., Kogan M.I., Mihailov I.V., Lepetunov S.N. Platelet-rich autologous plasma: what is it and for what? *Urology Herald.* 2020;8(2):67-77. (In Russ.). https://doi.org/10.21886/2308-6424-2020-8-2-67-77

Введение

За последние три десятилетия вызрела тенденция к использованию аутологичной плазмы обогащённой тромбоцитами (АПОТ/PRP) в гнойной, реконструктивной и пластической хирургии. Сфера применения PRP-терапии расширилась от стимуляции регенерации костей, заживления ран и язв, скелетно-мышечных травм до повышения возможностей в приживлении различных видов трансплантатов. Благодаря природным свойствам плазмы обогащённой тромбоцитами введение её в организм человека является одной из перспективных процедур в восстановлении тканей. После разрушения тромбоцитов АПОТ содержит α-гранулы, из которых после активации высвобождается множество факторов, таких как трансформирующий фактор роста-бета (TGF-β), фактор роста эндотелия сосудов (VGFF) и эпидермальный фактор роста (EGF).

Обзор фокусирует внимание на определении АПОТ, различных методах её подготовки и активации, а также концентрации факторов роста.

Нынешнее состояние проблемы использования АПОТ несёт в себе огромную перспективу по развитию методологии, которая обусловлена многими аспектами, делающими эту процедуру простой:

- малоинвазивная техника введения;
- препараты АПОТ не нужно культивировать в специализированных лабораториях;
- вводимый материал не является «стволовыми клетками»;
- АПОТ является экономичным способом одновременного получения нескольких факторов роста, которые отвечают требованиям для сложных процессов при восстановлении или регенерации тканей;
- возраст не является противопоказанием. Процедуру можно проводить на протяжении всей жизни пациента, поскольку не имеется ограничений в исходном материале, который демонстрирует характеристики высокой эффективности восстановления, даже у пожилых людей.

Назначение обогащённой тромбоцитами плазмы:

- обеспечение питательной поддержки со стороны плазменного компонента;
- стимуляция ангиогенеза благодаря множественным ангиогенным факторам роста;
- усиление пролиферации тканей в зоне регенерации.

Аутологичная плазма обогащённая тромбоцитами наиболее широко применяется для следующих терапевтических эффектов: заживление ран, ангиогенез и ремоделирование тканей. Тем не менее, терапевтические эффекты АПОТ всё ещё противоречивы, отчасти из-за отсутствия оптимизированных и стандартизированных протоколов подготовки.

Исходно методология была разработана с целью разделения эритроцитов и плазмы из цельной крови (ЦК) для различного рода гемотрансфузий. АПОТ впервые была применена для гемостаза во время хирургических операций и переливания тромбоцитов при некоторых тром-

боцитопенических состояниях [1]. В 1985 г. Дэвид Кнайтон впервые применил плазму обогащённую тромбоцитами для лечения хронических трофических язв [2]. Как оказалось, АПОТ более безопасна, чем регенеративная терапия на клеточной основе. Ещё с 1998 г. независимо друг от друга несколько американских исследовательских групп начали проводить исследования АПОТ для ускорения заживления ран и восстановления тканей в челюстно-лицевой хирургии. Постепенно началось её использование и в других областях, таких как кардиохирургия, офтальмология, ортопедия, пластическая хирургия, спортивная медицина и косметология [3].

В течение последнего десятилетия активно проводились исследования по применению АПОТ в сфере урологических нозологий. Так в условиях эксперимента было изучено влияние АПОТ на восстановление эректильной функции при повреждении кавернозных нервов [4, 5]. М.Е. Чалый и М.В. Епифанова в клинической практике доказали эффективность плазмы обогащённой тромбоцитарными факторами роста в лечении эректильной дисфункции [6].

H.H. Tavukcu et al. в эксперименте на крысах изучили профилактическое воздействие АПОТ на формирование стриктуры уретры при её повреждениях [7]. C.A. Sekerci et al. на модели ишемии/реперфузии яичка у самцов крыс после деторсии показали, что АПОТ, ингибируя инфильтрацию нейтрофилов и окислительный стресс, усиливает антиоксидантную защиту, оказывая защитное действие на ткани яичка [8]. M.G. Culha et al. установили, что лечение с применением АПОТ может быть эффективным при фибробластической индурации полового члена [9].

В 2016 г. учёные из Анкары смоделировали цистит у 36 кроликов и в последующем внутрипузырно вводили АПОТ доказав при этом, что инстилляции увеличивают митотический индекс, уменьшая такое осложнение при циститах, как макрогематурия [10]. Другое подобное исследование опубликовано в декабре 2016 г., где в условиях эксперимента был смоделирован цистит у 18 самок крыс путём введения циклофосфамида и изучен эффект применения плазмы обогащённой тромбоцитами [11]. Fabrizio Muzi et al. впервые использовали АПОТ в комбинации с гипербарической оксигенацией у пациенток с бактериальным и интерстициальным циститом. Было зарегистрировано, что после лечения все пациентки отметили субъективное снижение уровня боли и ургентных симптомов, а спустя 2 месяца при эндоскопическом исследовании не выявлено воспаления и признаков тригонита [12]. Положительные результаты лечения интерстициального цистита с применением АПОТ также представлены в работах группы учёных во главе с Jia-Fong Jhang [13, 14]. Исследования, проведённые E.L. Matz et al. с ноября 2012 г. по июль 2017 г., подтвердили безопасность и практическую значимость методики в лечении пациентов с урологическими заболеваниями [15]. Таким образом данные литературы показывают перспективу и целесообразность применения плазмы обогащённой тромбоцитами в урологии.

Методики для получения АПОТ

АПОТ готовят центрифугированием, изменяя относительную центробежную силу, температуру и время центрифугирования. Двухэтапная процедура даёт самый высокий результат [16–19].

В современной литературе существует множество протоколов, описывающих оптимальные условия центрифугирования. Однако различные протоколы были оптимизированы с учётом различных переменных процесса, таких как объём ЦК, количество вращений, период времени центрифугирования и диапазон центробежного ускорения. Учитывая сложность аутологичного продукта, такого как АПОТ, и необходимость контроля качества в клинической практике, крайне важно продемонстрировать способность процедуры воспроизводить последовательные результаты.

Несмотря на реальные различия, все протоколы следуют общей последовательности, которая состоит из сбора крови, первоначального центрифугирования для отделения эритроцитов, последующего центрифугирования для концентрирования тромбоцитов и других компонентов, и активации образца путём добавления агониста тромбоцитов.

Забор цельной крови

Цельная кровь забирается в пробирки с антикоагулянтом. Немаловажная задача — выбор антикоагулянта, способного сохранить наилучшую функциональность и морфологию тромбоцитов.

Что касается типа используемого антикоагулянта, большинство авторов не рекомендуют использовать этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА), потому что она вызывает повреждение мембраны тромбоцитов. Поэтому рекомендуются антикоагулянты с цитратом и декстрозой цитрата натрия [20].

M.B. Callan at al. (2009) и W.G. Guder at al. (2009) сравнили влияние цитрата натрия и антикоагулянта цитрат декстрозы раствор А (ACD-A) на агрегацию тромбоцитов, pH и концентрацию

внеклеточного ионизированого кальция (iCa). Антикоагулянт ACD-A признан выбором для сбора тромбоцитов путём афереза, тогда как тринатрийцитрат (3,2 % или 3,8 %) оказался антикоагулянтом, наиболее часто используемым для диагностической оценки тромбоцитов. Растворы тринатрийцитрата и ACD-A заметно различаются по pH, при этом ACD-A имеет pH 4,9, а 3,6 % цитрат натрия имеет pH 7,8. Кроме того, концентрация иона цитрата в ACD-A составляет 15,6 мг/мл, тогда как 3,8 % цитрата натрия содержат 24,4 мг иона цитрата/мл. Изменения pH и внеклеточный уровень концентрации ионов кальция PRP могут влиять на агрегацию тромбоцитов *in vitro.* В связи с агрегацией, как правило, нарушающейся в кислой среде, имеет место более низкая концентрация внеклеточных ионов кальция [21, 22].

В качестве альтернативы можно использовать цитрат фосфат-декстроза-аденин. Он похож на ACD-A, но содержит меньше вспомогательных ингредиентов и, следовательно, на 10 % менее эффективен в поддержании жизнеспособности тромбоцитов [23].

Как показал анализ литературы, существует определённый спектр мнений относительно забора крови для приготовления АПОТ.

P.R. Amable et al. производился забор крови с использованием пробирок для сбора крови объёмом 4,5 мл, содержащих 0,5 мл раствора цитрата [16].

A.G. Perez et al. для приготовления плазмы обогащённой тромбоцитами производили забор цельной крови объёмами до 3,5 мл в пробирки с содержанием 3,2 % цитрата натрия, как антикоагулянта [17].

R A. Kahn et al. для исследования брали 478 мл крови [24].

S.J. Slichter и L.A. Harker использовали образцы из 250 – 450 мл цельной крови [25].

R. Landesberg et al. забор цельной крови производили в объёме 5 мл, содержащие либо 0,5 мл 0,129 моль/л цитрата натрия или 0,048 мл 15 % этилендиаминтетрауксусной кислоты [18].

C.H. Jo et al. забор выполняли в объёме 40 мл цельной крови, образцы делились на 9 мл, к которым добавляли 1,25 мл цитрат фосфат декстроза аденин-1 (CPDA-1) [19].

O. Bausset et al. обрабатывали 8,5 мл крови [26].

S. Tамімі et al. использовали 8,5 и 3,5 мл крови, её центрифугировали в цитратных пробирках, содержащих 0,5 мл тринатрийцитрата, цитрата и ACD-A в качестве антикоагулянтов [27].

A.D. Mazzocca et al. использовали кровь в объёме 10 – 27 мл [28].

E. Anitua et al. забор цельной крови производили в стерильные пробирки объёмом 4,5 мл, содержащие 3,8 % (мас./об.) цитрата тринатрия [29].

A. Dugrillon et al. получали PRP из 250 мл аутологичной крови [30].

J. Araki et al. в своём протоколе цельную кровь отбирали венопункцией в объёме 40 – 72 мл, собирали и разделяли на аликвоты по 7,5 мл в конических пробирках по 15 мл и центрифугировали [31].

Изучив опыт различных клиник, мы пришли к заключению, что для оптимального приготовления 15 – 20 мл плазмы обогащённой тромбоцитами, необходимо произвести забор цельной крови в объёме 100 мл из кубитальной вены в шприц объёмом 100 мл, предварительно содержащий 10 000 ЕД гепарина.

Центрифугирование цельной крови

P.R. Amable et al. использовали силу центробежного вращения (RCF) от 240 до 400×g, время от 8 до 19 минут и температуру от 8^0 до 16^0 С. Все этапы выполняли в центрифуге с охлаждением. Наилучшие характеристики были получены при использовании параметров 300×g в течение 5 минут при 12^0 С и 240×g в течение 8 минут при 16^0 С для первого центрифугирования. Второе центрифугирование было применено при 700×g в течение 17 минут, так как оно позволяло снизить потери тромбоцитов. При втором центрифугировании извлечение 2/3 остаточной плазмы способствовало повышению количества тромбоцитов (70 – 80 %) и пятикратной их концентрации [16].

У A.G. Perez et al. при первом центрифугировании центробежная сила составляла 100×g в течение 10 минут, второе центрифугирование — 400×g в течение 10 минут [17].

R.A. Kahn et al. в процессе исследования обнаружили, что для оптимальных условий выхода тромбоцитов необходимы следующие условия центрифугирования — 3800 об/мин (3731×g) в течение четырёх минут [24].

S.J. Slichter и L.A. Harker центрифугирование проводили при 1000×g в течение 9 минут. Было также отмечено, что последующий этап центрифугирования при 3000×g в течение 20 минут снижал жизнеспособность тромбоцитов [25].

R. Landesberg et al. осуществляли двойное центрифугирование при 200×g в течение 10 минут на одну фазу центрифугирования [18].

C.H. Jo et al. использовали двухэтапное центрифугирование. Цельную кровь центрифугировали от 500×g до 1900×g с увеличением силы центробежного ускорения на 200×g в течение 5 минут

и от 100×g до 1300×g с увеличением силы центробежного ускорения 200×g в течение 10 минут. На втором этапе центрифугирования тромбоциты в отделённой плазме центрифугировали при 1000×g в течение 15 минут, 1500×g в течение 15 минут, 2000×g в течение 5 минут и 3000×g в течение 5 минут. Они достигали лучшей эффективности (92 %), применив ускорение 900×g в течение 5 минут для первого центрифугирования. Максимальная эффективность для второго центрифугирования (84 %) была получена при применении 1500×g в течение 15 мин [19].

O. Bausset et al. обнаружили, что центрифугирование 130×g или 250×g в течение 15 минут было оптимальным при выполнении процедуры, включающей два центрифугирования [26].

S. Tamimi et al. сравнили две методики получения PRP — двойное центрифугирование и одиночное центрифугирование. При двойном центрифугировании три пробирки, каждая объёмом 8,5 мл, помещали в центрифужную машину и подвергали действию 160×g (1300 об/мин) в течение 10 минут. Для второго центрифугирования применяли центробежное усиление 400×g (2000 об/мин) в течение 10 минут. При одиночном центрифугировании пробирки центрифугировали с силой 280×g (1500 об/мин) в течение 7 минут. Концентрация тромбоцитов при двойном центрифугировании составила 336 % и при одиночном — 227 % соответственно [27].

A.D. Mazzocca et al. проанализировали три протокола для приготовления образцов PRP с различным составом: процесс с низким содержанием тромбоцитов (382×10^3/мм^3) и низким количеством лейкоцитов ($0{,}6\times10^3$/мм^3) с одним этапом центрифугирования при 1500 об/мин. в течение 5 минут (10 мл ЦК); процесс с высоким содержанием тромбоцитов (940×10^3/мм^3) и высоким содержанием лейкоцитов (17×10^3/мм^3) с одной стадией центрифугирования при 3200 об/мин в течение 15 минут (27 мл ЦК); и процесс двойного вращения (1500 об/мин в течение 5 минут и 6300 об/мин в течение 20 минут), который давал более высокую концентрацию тромбоцитов (472 × 103 / мм^3) и более низкую концентрацию лейкоцитов ($1{,}5\times10^3$/мм^3) [28].

E. Anitua et al. использовали одноэтапное центрифугирование при 460×g в течение 8 минут, и этот протокол получил коэффициент концентрации тромбоцитов в 2,67 раза выше базового значения [29].

A. Dugrillon et al. доказали, что концентрация TGF-β1 и тромбоцитов пропорционально связана с силами центрифугирования, когда силы меньше 800×g. Концентрация TGF-β1 обратно пропорционально связана с центробежной силой, когда её показатели превышают 800×g [30].

J. Araki et al. центрифугировали пробирки при 20^0 C в центрифуге с охлаждением (Kubota 5900; Kubota Co.). Оптимизировали протокол для приготовления PRP путём центрифугирования ЦК при 230 – 270×g в течение 10 минут. Для второго этапа применяли ускорение 2300×g в течение 10 минут [31]. Следует отметить, что температура во время обработки имеет решающее значение для предотвращения активации тромбоцитов. В руководстве Американской ассоциации банков крови (AABB) рекомендуют 21 – 24^0 C для центрифугирования крови при получении PRP [32].

M. Macey et al. [33] также заявили, что охлаждение может замедлить активацию тромбоцитов, и это может быть важно при получении PRP с жизнеспособными тромбоцитами. Многие авторы использовали уровень температуры 12 – 16^0 C во время центрифугирования для лучшего извлечения тромбоцитов. Это актуально для тех, кто использует центрифугу для приготовления PRP, которая, в основном, предназначена для диагностических целей, а не для специализированного приготовления плазмы обогащённой тромбоцитами и, следовательно, не может обеспечить достаточную концентрацию тромбоцитов [34].

Y. Kecesi et al. для первого центрифугирования выбрали силу равную 250 – 270×g в течение 10 минут. При втором этапе центрифугирующая сила варьировала от 300×g, 500×g, 750×g, 1000×g, 1500×g и 2000×g в течение 10 минут. Коэффициент концентрации тромбоцитов увеличивался по мере того, как центробежная сила второго вращения увеличивалась в 1,92, 2,16, 2,80, 3,48, 3,67 и 3,76 раза после 10-минутного второго центрифугирования при 300×g. 500×g, 750×g, 1000×g, 1500×g и 2000×g соответственно. Авторы высказали мнение, что получение определенной концентрации тромбоцитов возможно путём индивидуальной регулировки силы центрифугирования в соответствии с личным исходным значением [35].

R.C. Tsay et al. использовали методику приготовления при помощи одноэтапного центрифугирования при оборотах 3200 в минуту [36].

N. Kakudo et al. плазму обогащенную тромбоцитами готовили с использованием метода двойного центрифугирования с подсчётом количества тромбоцитов на каждой стадии приготовления [37].

На базе НИИ-ККБ №1 г. Краснодара приготовление плазмы обогащённой тромбоцитами производится следующим образом: забор аутокрови выполняют в шприц объёмом 100 мл, содержа-

щий 10 000 Ед гепарина. Далее она разливается в стерильные пробирки по 50 мл. После чего проводится центрифугирование в течение 15 минут на скорости 2000 оборотов в минуту, на первом этапе центрифугирования плазма и тромбоциты отделяются от эритроцитов и лейкоцитов. Далее плазму с тромбоцитами отбирают шприцом. Переливают в чистую пробирку, и центрифугируют 10 минут на скорости 3500 оборотов в минуту. Всего получается около 15 – 22 мл плазмы обогащённой тромбоцитами, с концентрацией тромбоцитов до 600 % от их нормального показателя в крови. Производится отбор верхнего слоя 20 мл плазмы в новую пробирку, пипеткой тщательно ресуспендируют осадок. Из гомогенной взвеси отбирают 1 мл на анализ крови для определения количества тромбоцитов. Пробирку с плазмой обогащённой тромбоцитами помещают в морозильную камеру –40^0 С и в дальнейшем передают в операционную.

Активация тромбоцитов

Активация — это процесс дегрануляции, который приводит к слиянию α-гранул с мембраной тромбоцитов, причём секреторные белки становятся биологически активными в результате добавления гистонов и боковых цепей углеводов [23, 38].

R.E. Marx et al. описали активацию путём смешивания 6 мл PRP, 1 мл хлористого кальция и тромбина (10 мл 10 % кальция хлорида смешивали с 10 тысячами единиц бычьего тромбина) [39]. Однако активация PRP тромбином обычно приводит к выбросу факторов роста, высвобождающихся в течение 10 минут после свёртывания, и более 95 % высвобождается через 1 час [23, 38]. Добавление только $CaCl_2$ без тромбина является альтернативным способом активации PRP. Добавление $CaCl_2$ приводит к образованию аутологичного тромбина из протромбина и возможному образованию рыхлой фибриновой матрицы, которая будет захватывать факторы роста, что приводит к медленной секреции факторов роста в течение 7 дней. Этот метод наиболее часто используется при клиническом применении PRP.

G. Wiebrich et al. использовали иной метод активации — цикл замораживания / размораживания. Количество тромбоцитов в плазме обогащённой тромбоцитами в 5 раз превышало концентрацию, чем в донорской крови. Был проведён анализ активации: содержание факторов роста плохо коррелировало с количеством тромбоцитов в цельной крови, и с обогащённой тромбоцитами плазмой (p = 0,35). Никаких влияний пола или возраста на количество тромбоцитов или концентраций факторов роста обнаружено не было [40].

R.C. Tsay et al. активировали PRP при помощи бычьего тромбина или при помощи пептида-активатора рецептора тромбина-6 (TRAP). Кроме того, PRP была активизирована с использованием Allogro (Ceramed, Lakewood, CO), BioGlass (MoSci, Rolla, MN) или BioOss (Osteohealth, Shirley, NY). При активации PRP тромбином происходит значительное немедленное высвобождение факторов роста. TRAP-BS может оказаться более эффективным, чем тромбин, в поддержании уровней факторов роста [36].

N. Kakudo et al. проводили активацию PRP аутологичным тромбином и хлористым кальцием. PRP содержала примерно в 7,9 раз больше тромбоцитов, чем цельная кровь, и её активация была связана с высвобождением большого количества PDGF-AB и TGF-бета1 [37].

Q. Huang et al. получали ЦК из банка крови, а метод активации — тромбин + $CaCl_2$ [41].

G. Pietramaggiori et al. изучили влияние плазмы обогащённой тромбоцитами на вялотекущие трудно заживающие раны. Кровь брали из «банка крови», а разрушение тромбоцитов проводили ультразвуком [42].

На сегодняшний день оптимальный способ активации тромбоцитов — это добавление 10 % раствора хлорида кальция. Следует отметить, что при данной методике более 95 % факторов роста будет высвобождаться в течение одного часа. Добавление хлористого кальция приводит к образованию аутологичного тромбина из протромбина в АПОТ и возможному образованию свободной фибриновой матрицы, которая будет захватывать факторы роста, что приводит к медленной секреции факторов роста в течение 7 дней. Именно этот метод активации применяется в нашей клинике [43–45].

В нашем исследовании средняя концентрация тромбоцитов в исходной крови составила 305 тысяч (в норме от 170 до 432 тысяч тромбоцитов), после центрифугирования 982 тысячи (от 502 тысяч до 1667 тысяч тромбоцитов), после размораживания концентрация тромбоцитов составила 509 тысяч.

Механизм действия АПОТ

Тромбоциты участвуют в регенерации тканей за счёт факторов роста и других активных молекул (хемокинов, арахидоновой кислоты, фибриногена и фибрина). В настоящее время изучено более 30 факторов роста, содержащихся в α-гранулах. После активации тромбоцитов тромбином или кальция хлоридом, происходит высвобождение α-гранул. Известно, что α-гранулы тромбоцитов

содержат митогенные и хемотаксические факторы роста, такие как тромбоцитарные факторы роста (PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB), два трансформирующих фактора роста (TGF-β1 и TGF-β2), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактор роста эпителия (EGF), фактор роста фибробластов (FGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF-1 и IGF-2) [22]. Влияние этих факторов роста на поведение клеток и последовательность регенерации тканей были тщательно изучены [34, 45].

Было доказано, что за счёт широкого спектра факторов роста АПОТ стимулирует образование коллагена, ускоряет регенерацию тканей, индуцирует рост сосудов, эндотелия, обеспечивает гемостаз, уменьшает боль, обладает противовоспалительным эффектом, снижает риск инфекционных осложнений, предотвращает послеоперационные осложнения [7]. В основе этих эффектов лежит синергичное взаимодействие с местными клетками, обусловливающее специфические реакции пролиферации, клеточной миграции и синтез экстрацеллюлярного матрикса [46].

Поскольку факторы роста стимулируют клеточную пролиферацию, высказывается опасение, что АПОТ может стимулировать рак. На самом деле, никакой фактор роста не может спровоцировать рак. Все факторы роста действуют на клеточные мембраны, а не на клеточное ядро. Факторы роста активируют внутренний цитоплазматический сигнальный белок, который способствует нормальной экспрессии генов, а не аномальной экспрессии генов. Факторы роста не являются мутагенами в отличие от доказанных канцерогенов, таких как радиация, табачные антраценовые смолы, ультрафиолетовое излучение и т.д. Факторы роста являются нормальными белками организма. Безопасность, связанная с АПОТ и раком, заключается в том, что АПОТ — это не что иное, как тот же сгусток крови, который был бы в любой нормальной ране, за исключением того, что он содержит большее количество тромбоцитов. И самое главное, введение аутологичной плазмы обогащённой тромбоцитами не относится к терапии стволовыми клетками [47].

Заключение

АПОТ является источником огромного количества активных веществ (факторов роста) и обладает мощным репаративным потенциалом. Однако реализация этого потенциала варьирует в широких пределах в зависимости от способа приготовления и цели использования плазмы обогащённой тромбоцитами. Существует множество протоколов для подготовки АПОТ, каждый из которых имеет свои стандартизированные параметры и заявленные результаты. Клиницисту требуется чётко определить цель для реализации оригинальных задач, с последующей стандартизацией методики для получения оптимального клинического ответа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ачкасов Е.Е., Безуглов Э.Н., Ульянов А.А., Куршев В.В., Репетюк А.Д., Егорова О.Н. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в клинической практике. *Биомедицина*. 2013;1(4):46–59.
2. Knighton DR, Ciresi KF, Fiegel VD, Austin LL, Butler EL. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF). *Ann Surg.* 1986;204(3):322–330. https://doi.org/10.1097/00000658-198609000-00011
3. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(4):529–535. PMID: 10453668.
4. Wu YN, Wu CC, Sheu MT, Chen KC, Ho HO, Chiang HS. Optimization of platelet-rich plasma and its effects on the recovery of erectile function after bilateral cavernous nerve injury in a rat model. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016;10(10):E294–E304. https://doi.org/10.1002/term.1806
5. Ding XG, Li SW, Zheng XM, Hu LQ, Hu WL, Luo Y. The effect of platelet-rich plasma on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Asian J Androl.* 2009;11(2):215–221. https://doi.org/10.1038/aja.2008.37
6. Чалый М.Е., Григорян В.А., Епифанова М.В., Краснов А.О. Эффективность интракавернозного введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в лечении эректильной дисфункции. *Урология.* 2015;(4):76–79.

REFERENCES

1. Achkasov E.E., Bezuglov E.N., Ul'Yanov E.N., Ul'Yanov A.A., Kurshev V.V., Repetyuk A.D. Application platelet-rich plasma in clinical practice. *Journal Biomed.* 2013;1(4):46–59. (In Russ.).
2. Knighton DR, Ciresi KF, Fiegel VD, Austin LL, Butler EL. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF). *Ann Surg.* 1986;204(3):322–330. https://doi.org/10.1097/00000658-198609000-00011
3. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(4):529–535. PMID: 10453668.
4. Wu YN, Wu CC, Sheu MT, Chen KC, Ho HO, Chiang HS. Optimization of platelet-rich plasma and its effects on the recovery of erectile function after bilateral cavernous nerve injury in a rat model. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016;10(10):E294–E304. https://doi.org/10.1002/term.1806
5. Ding XG, Li SW, Zheng XM, Hu LQ, Hu WL, Luo Y. The effect of platelet-rich plasma on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Asian J Androl.* 2009;11(2):215–221. https://doi.org/10.1038/aja.2008.37
6. Chalyj M.E., Grigorjan V.A., Epifanova M.V., Krasnov A.O. The effectiveness of intracavernous autologous platelet-rich plasma in the treatment of erectile dysfunction. *Urologiia*. 2015;(4):76–79. (In Russ.).

7. Tavukcu HH, Aytaç Ö, Atuğ F, Alev B, Çevik Ö, Bülbül N, Yarat A, Çetinel Ş, Şener G, Kulaksızoğlu H. Protective effect of platelet-rich plasma on urethral injury model of male rats. *Neurourol Urodyn.* 2018;37(4):1286–1293. https://doi.org/10.1002/nau.23460
8. Sekerci CA, Tanidir Y, Sener TE, Sener G, Cevik O, Yarat A, Alev-Tuzuner B, Cetinel S, Kervancioglu E, Sahan A, Akbal C. Effects of platelet-rich plasma against experimental ischemia/reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Urol.* 2017;13(3):317.e1–317.e9. https://doi.org/10.1016/j.jpurol.2016.12.016
9. Culha MG, Erkan E, Cay T, Yücetaş U. The Effect of Platelet-Rich Plasma on Peyronie's Disease in Rat Model. *Urol Int.* 2019;102(2):218–223. https://doi.org/10.1159/000492755
10. Dönmez Mİ, İnci K, Zeybek ND, Doğan HS, Ergen A. The Early Histological Effects of Intravesical Instillation of Platelet-Rich Plasma in Cystitis Models. *Int Neurourol J.* 2016;20(3):188–196. https://doi.org/10.5213/inj.1632548.274
11. Ozyuvali E, Yildirim ME, Yaman T, Kosem B, Atli O, Cimentepe E. Protective Effect of Intravesical Platelet-Rich Plasma on Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis. *Clin Invest Med.* 20161;39(6):27514. PMID: 27917804.
12. Muzi F, Delicato G, D'Andria D, Baffigo G, Tartaglia E, Tati E, Corvese F, Signore S, Perla A, Montagna G, Tati G.Carboxytherapy and Platelet Rich Plasma: A New Therapy for Trigonitis, Abacterial and Interstitial Cystitis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015;(3):405–410. https://doi.org/10.17265/2328-2150/2015.09.001
13. Jhang JF, Wu SY, Lin TY, Kuo HC. Repeated intravesical injections of platelet-rich plasma are effective in the treatment of interstitial cystitis: a case control pilot study. *Low Urin Tract Symptoms.* 2019;11(2):O42–O47. https://doi.org/10.1111/luts.12212
14. Jhang JF, Lin TY, Kuo HC. Intravesical injections of platelet-rich plasma is effective and safe in treatment of interstitial cystitis refractory to conventional treatment – A prospective clinical trial. *Neurourol Urodyn.* 2019;38(2):703–709. https://doi.org/10.1002/nau.23898
15. Matz EL, Pearlman AM, Terlecki RP. Safety and feasibility of platelet rich fibrin matrix injections for treatment of common urologic conditions. *Investig Clin Urol.* 2018;59(1):61–65 https://doi.org/10.4111/icu.2018.59.1.61
16. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, da Cruz Pacheco I, Corrêa do Amaral RJ, Granjeiro JM, Borojevic R. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4(3):67. https://doi.org/10.1186/scrt218
17. Perez AG, Lana JF, Rodrigues AA, Luzo AC, Belangero WD, Santana MH. Relevant aspects of centrifugation step in the preparation of platelet-rich plasma. *ISRN Hematol.* 2014;2014:176060. https://doi.org/10.1155/2014/176060
18. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58(3):297-300; discussion 300–301. https://doi.org/10.1016/s0278-2391(00)90058-2
19. Jo CH, Roh YH, Kim JE, Shin S, Yoon KS. Optimizing platelet-rich plasma gel formation by varying time and gravitational forces during centrifugation. *J Oral Implantol.* 2013;39(5):525–532. https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-10-00155
20. Anitua E, Prado R, Sánchez M, Orive G. Platelet-rich-plasma: Preparation and formulation. *Oper Tech Orthop.* 2013;22(1):25–32. https://doi.org/10.1053/j.oto.2012.01.004

7. Tavukcu HH, Aytaç Ö, Atuğ F, Alev B, Çevik Ö, Bülbül N, Yarat A, Çetinel Ş, Şener G, Kulaksızoğlu H. Protective effect of platelet-rich plasma on urethral injury model of male rats. *Neurourol Urodyn.* 2018;37(4):1286–1293. https://doi.org/10.1002/nau.23460
8. Sekerci CA, Tanidir Y, Sener TE, Sener G, Cevik O, Yarat A, Alev-Tuzuner B, Cetinel S, Kervancioglu E, Sahan A, Akbal C. Effects of platelet-rich plasma against experimental ischemia/reperfusion injury in rat testis. *J Pediatr Urol.* 2017;13(3):317.e1–317.e9. https://doi.org/10.1016/j.jpurol.2016.12.016
9. Culha MG, Erkan E, Cay T, Yücetaş U. The Effect of Platelet-Rich Plasma on Peyronie's Disease in Rat Model. *Urol Int.* 2019;102(2):218–223. https://doi.org/10.1159/000492755
10. Dönmez Mİ, İnci K, Zeybek ND, Doğan HS, Ergen A. The Early Histological Effects of Intravesical Instillation of Platelet-Rich Plasma in Cystitis Models. *Int Neurourol J.* 2016;20(3):188–196. https://doi.org/10.5213/inj.1632548.274
11. Ozyuvali E, Yildirim ME, Yaman T, Kosem B, Atli O, Cimentepe E. Protective Effect of Intravesical Platelet-Rich Plasma on Cyclophosphamide-Induced Hemorrhagic Cystitis. *Clin Invest Med.* 20161;39(6):27514. PMID: 27917804.
12. Muzi F, Delicato G, D'Andria D, Baffigo G, Tartaglia E, Tati E, Corvese F, Signore S, Perla A, Montagna G, Tati G.Carboxytherapy and Platelet Rich Plasma: A New Therapy for Trigonitis, Abacterial and Interstitial Cystitis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015;(3):405–410. https://doi.org/10.17265/2328-2150/2015.09.001
13. Jhang JF, Wu SY, Lin TY, Kuo HC. Repeated intravesical injections of platelet-rich plasma are effective in the treatment of interstitial cystitis: a case control pilot study. *Low Urin Tract Symptoms.* 2019;11(2):O42–O47. https://doi.org/10.1111/luts.12212
14. Jhang JF, Lin TY, Kuo HC. Intravesical injections of platelet-rich plasma is effective and safe in treatment of interstitial cystitis refractory to conventional treatment – A prospective clinical trial. *Neurourol Urodyn.* 2019;38(2):703–709. https://doi.org/10.1002/nau.23898
15. Matz EL, Pearlman AM, Terlecki RP. Safety and feasibility of platelet rich fibrin matrix injections for treatment of common urologic conditions. *Investig Clin Urol.* 2018;59(1):61–65 https://doi.org/10.4111/icu.2018.59.1.61
16. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, da Cruz Pacheco I, Corrêa do Amaral RJ, Granjeiro JM, Borojevic R. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4(3):67. https://doi.org/10.1186/scrt218
17. Perez AG, Lana JF, Rodrigues AA, Luzo AC, Belangero WD, Santana MH. Relevant aspects of centrifugation step in the preparation of platelet-rich plasma. *ISRN Hematol.* 2014;2014:176060. https://doi.org/10.1155/2014/176060
18. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58(3):297-300; discussion 300–301. https://doi.org/10.1016/s0278-2391(00)90058-2
19. Jo CH, Roh YH, Kim JE, Shin S, Yoon KS. Optimizing platelet-rich plasma gel formation by varying time and gravitational forces during centrifugation. *J Oral Implantol.* 2013;39(5):525–532. https://doi.org/10.1563/AAID-JOI-D-10-00155
20. Anitua E, Prado R, Sánchez M, Orive G. Platelet-rich-plasma: Preparation and formulation. *Oper Tech Orthop.* 2013;22(1):25–32. https://doi.org/10.1053/j.oto.2012.01.004

21. Callan MB, Shofer FS, Catalfamo JL. Effects of anticoagulant on pH, ionized calcium concentration, and agonist-induced

21. Callan MB, Shofer FS, Catalfamo JL. Effects of anticoagulant on pH, ionized calcium concentration, and agonist-induced platelet aggregation in canine platelet-rich plasma. *Am J Vet Res.* 2009;70(4):472–477. https://doi.org/10.2460/ajvr.70.4.472
22. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Special Aspects of Haematological Analysis: *Diagnostic Samples: From the Patient to the Laboratory: The Impact of Preanalytical Variables on the Quality of Laboratory Results. 4th ed.* Wiley – Blackwell, Publications; 2009: 36–37.
23. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225–228. https://doi.org/10.1097/00008505-200110000-00002
24. Kahn RA, Cossette I, Friedman LI. Optimum centrifugation conditions for the preparation of platelet and plasma products. *Transfusion.* 1976;16(2):162–165. https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.1976.16276155111.x
25. Slichter SJ, Harker LA. Preparation and storage of platelet concentrates. I. Factors influencing the harvest of viable platelets from whole blood. *Br J Haematol.* 1976;34(3):395–402. https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1976.tb03586.x
26. Bausset O, Giraudo L, Veran J, Magalon J, Coudreuse JM, Magalon G, Dubois C, Serratrice N, Dignat-George F, Sabatier F. Formulation and storage of platelet-rich plasma homemade product. *Biores Open Access.* 2012;1(3):115–123. https://doi.org/10.1089/biores.2012.0225
27. Tamimi FM, Montalvo S, Tresguerres I, Blanco Jerez L. A comparative study of 2 methods for obtaining platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(6):1084–1093. https://doi.org/10.1016/j.joms.2006.09.012
28. Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowaniec DM, Cote MP, Romeo AA, Bradley JP, Arciero RA, Beitzel K. Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg Am.* 2012;94(4):308–316. https://doi.org/10.2106/JBJS.K.00430
29. Anitua E, Aguirre JJ, Algorta J, Ayerdi E, Cabezas AI, Orive G, Andia I. Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;84(2):415–421. https://doi.org/10.1002/jbm.b.30886
30. Dugrillon A, Eichler H, Kern S, Klüter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(6):615–619. https://doi.org/10.1054/ijom.2002.0322
31. Araki J, Jona M, Eto H, Aoi N, Kato H, Suga H, Doi K, Yatomi Y, Yoshimura K. Optimized preparation method of platelet-concentrated plasma and noncoagulating platelet-derived factor concentrates: maximization of platelet concentration and removal of fibrinogen. *Tissue Eng Part C Methods.* 2012;18(3):176–185. https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2011.0308
32. Sweeny J, Grossman BJ. Methods for collecting, storing, and preparing blood. In: Brecher M, editor. *Technical manual. 14th ed.* Bethesda, MD: American Association of blood banks (AABB); 2002: 955–958.
33. Macey M, Azam U, McCarthy D, Webb L, Chapman ES, Okrongly D, Zelmanovic D, Newland A. Evaluation of the anticoagulants EDTA and citrate, theophylline, adenosine, and dipyridamole (CTAD) for assessing platelet activation on the ADVIA 120 hematology system. *Clin Chem.* 2002;48(6 Pt 1):891–899. PMID: 12029005.
34. International Cellular Medicine Society. *Guidelines for the use of platelet rich plasma (adopted 2011).* Доступно по: http://www.cellmedicinesociety.org/icms-guidelines Ссылка активна на 20.04.2020.

21. Callan MB, Shofer FS, Catalfamo JL. Effects of anticoagulant on pH, ionized calcium concentration, and agonist-induced platelet aggregation in canine platelet-rich plasma. *Am J Vet Res.* 2009;70(4):472–477. https://doi.org/10.2460/ajvr.70.4.472
22. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Special Aspects of Haematological Analysis: *Diagnostic Samples: From the Patient to the Laboratory: The Impact of Preanalytical Variables on the Quality of Laboratory Results. 4th ed.* Wiley – Blackwell, Publications; 2009: 36–37.
23. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225–228. https://doi.org/10.1097/00008505-200110000-00002
24. Kahn RA, Cossette I, Friedman LI. Optimum centrifugation conditions for the preparation of platelet and plasma products. *Transfusion.* 1976;16(2):162–165. https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.1976.16276155111.x
25. Slichter SJ, Harker LA. Preparation and storage of platelet concentrates. I. Factors influencing the harvest of viable platelets from whole blood. *Br J Haematol.* 1976;34(3):395–402. https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1976.tb03586.x
26. Bausset O, Giraudo L, Veran J, Magalon J, Coudreuse JM, Magalon G, Dubois C, Serratrice N, Dignat-George F, Sabatier F. Formulation and storage of platelet-rich plasma homemade product. *Biores Open Access.* 2012;1(3):115–123. https://doi.org/10.1089/biores.2012.0225
27. Tamimi FM, Montalvo S, Tresguerres I, Blanco Jerez L. A comparative study of 2 methods for obtaining platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(6):1084–1093. https://doi.org/10.1016/j.joms.2006.09.012
28. Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowaniec DM, Cote MP, Romeo AA, Bradley JP, Arciero RA, Beitzel K. Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg Am.* 2012;94(4):308–316. https://doi.org/10.2106/JBJS.K.00430
29. Anitua E, Aguirre JJ, Algorta J, Ayerdi E, Cabezas AI, Orive G, Andia I. Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;84(2):415–421. https://doi.org/10.1002/jbm.b.30886
30. Dugrillon A, Eichler H, Kern S, Klüter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002;31(6):615–619. https://doi.org/10.1054/ijom.2002.0322
31. Araki J, Jona M, Eto H, Aoi N, Kato H, Suga H, Doi K, Yatomi Y, Yoshimura K. Optimized preparation method of platelet-concentrated plasma and noncoagulating platelet-derived factor concentrates: maximization of platelet concentration and removal of fibrinogen. *Tissue Eng Part C Methods.* 2012;18(3):176–185. https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2011.0308
32. Sweeny J, Grossman BJ. Methods for collecting, storing, and preparing blood. In: Brecher M, editor. *Technical manual. 14th ed.* Bethesda, MD: American Association of blood banks (AABB); 2002: 955–958
33. Macey M, Azam U, McCarthy D, Webb L, Chapman ES, Okrongly D, Zelmanovic D, Newland A. Evaluation of the anticoagulants EDTA and citrate, theophylline, adenosine, and dipyridamole (CTAD) for assessing platelet activation on the ADVIA 120 hematology system. *Clin Chem.* 2002;48(6 Pt 1):891–899. PMID: 12029005.
34. International Cellular Medicine Society. *Guidelines for the use of platelet rich plasma (adopted 2011).* Available at: http://www.cellmedicinesociety.org/icms-guidelines Accessed April 20, 2020.
35. Kececi Y, Ozsu S, Bilgir O. A cost-effective method for obtaining standard platelet-rich plasma. *Wounds.* 2014;26(8):232–238. PMID: 25860639.

35. Kececi Y, Ozsu S, Bilgir O. A cost-effective method for obtaining standard platelet-rich plasma. *Wounds.* 2014;26(8):232–238. PMID: 25860639.
36. Tsay RC, Vo J, Burke A, Eisig SB, Lu HH, Landesberg R. Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(4):521–528. https://doi.org/10.1016/j.joms.2004.09.012
37. Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, Kushida S, Notodihardjo FZ, Kusumoto K. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts. *Plast Reconstr Surg.* 2008;122(5):1352–1360. https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181882046
38. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2006;118(6):147e–159e. https://doi.org/10.1097/01.prs.0000239606.92676.cf
39. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998;85(6):638-46. https://doi.org/10.1016/s1079-2104(98)90029-4
40. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg.* 2002;30(2):97–102. https://doi.org/10.1054/jcms.2002.0285
41. Huang Q, Wang YD, Wu T, Jiang S, Hu YL, Pei GX. Preliminary separation of the growth factors in platelet-rich plasma: effects on the proliferation of human marrow-derived mesenchymal stem cells. *Chin Med J (Engl).* 2009;122(1):83–87. PMID: 19187622.
42. Pietramaggiori G, Kaipainen A, Czeczuga JM, Wagner CT, Orgill DP. Freeze-dried platelet-rich plasma shows beneficial healing properties in chronic wounds. *Wound Repair Regen.* 2006;14(5):573–580. https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2006.00164.x
43. Marlovits S, Mousavi M, Gäbler C, Erdös J, Vécsei V. A new simplified technique for producing platelet-rich plasma: a short technical note. *Eur Spine J.* 2004;13 Suppl 1(Suppl 1):S102–106. https://doi.org/10.1007/s00586-004-0715-3
44. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone*. 2004;34(4):665–671. https://doi.org/10.1016/j.bone.2003.12.010
45. 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;16(5):749–756; discussion 757–759. https://doi.org/10.1097/01.scs.0000180007.30115.fa
46. 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;5(6):533–544. https://doi.org/10.1089/ten.1999.5.533
47. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225–228. https://doi.org/10.1097/00008505-200110000-00002

Сведения об авторах

Владимир Леонидович Медведев – д.м.н., профессор; заведующий кафедрой урологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России; профессор кафедры урологии и репродуктивного здоровья человека (с курсом детской урологии-андрологии) ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава

Information about the authors

Vladimir L. Medvedev – M.D., Dr.Sc.(M), Full Prof.; Head, Dept. of Urology, Kuban State Medical University; Prof., Dept. of Urology and Human Reproductive Health (with the Pediatric Urology and Andrology course), Rostov State Medical University; Head, Urology & Nephrology Center and Urology

России; заместитель главного врача по урологии, руководитель уронефрологического центра ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1 им. проф. С.В. Очаповского» Минздрава Краснодарского края
ORCID iD 0000-0001-8335-2578
e-mail: medvedev_vl@mail.ru
Михаил Иосифович Коган – Заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., профессор; заведующий кафедрой урологии и репродуктивного здоровья человека (с курсом детской урологии-андрологии) ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России
ORCID iD 0000-0002-1710-0169
e-mail: dept_kogan@mail.ru
Игорь Валерьевич Михайлов – д.м.н., профессор; профессор кафедры урологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России
ORCID iD 0000-0003-3724-2794
e-mail: miv67@yandex.ru
Сергей Николаевич Лепетунов – ассистент кафедры урологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России; врач-уролог ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1 им. проф. С.В. Очаповского» Минздрава Краснодарского края
ORCID iD 0000-0001-6657-1496
e-mail: lepetunov@gmail.com

Division No. 2, Deputy Chief Medical Officer for the Urological Service, Prof. S.V. Ochapovsky Scientific and Research Institute - Regional Clinical Hospital No. 1, Krasnodar Region Chief Specialist of Transplantology
ORCID iD 0000-0001-8335-2578
e-mail: medvedev_vl@mail.ru
Mikhail I. Kogan – Honored Scientist of Russian Federation, M.D., Dr.Sc.(M), Full Prof.; Head, Dept. of Urology and Human Reproductive Health (with the Pediatric Urology and Andrology course), Rostov State Medical University
ORCID iD 0000-0002-1710-0169
e-mail: dept_kogan@mail.ru
Igor V. Mihailov – M.D., Dr.Sc.(M), Full Prof.; Prof., Dept. of Urology, Kuban State Medical University
ORCID iD 0000-0003-3724-2794
e-mail: miv67@yandex.ru
Sergey N. Lepetunov – M.D.; Assist., Dept. of Urology, Kuban State Medical University; Urologist, Urology Division No. 2, Prof. S.V. Ochapovsky Scientific and Research Institute - Regional Clinical Hospital No. 1
ORCID iD 0000-0001-6657-1496
e-mail: lepetunov@gmail.com