

М. С. Макаров

Физиологическое и прогностическое значение тромбоцитов без гранул

М. С. Макаров, к.б.н., научный сотрудник

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н. В. Склифосовского» Департамента здравоохранения г. Москвы

Physiological and prognostic value of platelets without granules

M. S. Makarov

Scientific and Research Institute of Emergency Care n.a. N. V. Sklifosovsky, Moscow, Russia

Резюме

В работе представлены данные о биологических особенностях тромбоцитов человека, не содержащих или содержащих очень незначительное число гранул. Тромбоциты без гранул имеют несколько подтипов с разными структурными характеристиками, оценка которых может иметь значение для фундаментальных и практических исследований.

Ключевые слова: тромбоциты, дискоциты, гранулы, мембраны, P-селектин.

Summary

We discussed data about biological properties of human platelets, not containing or containing very small granules' volume. There are few types of granule-devoted platelets with different structural features, which may be relevant for fundamental and applied research.

Key words: platelets, discocytes, granules, membranes, P-selectin.

Общепринято, что дисковидная форма является отличительным признаком неактивированных тромбоцитов, находящихся в «стадии покоя» и потенциально способных к активации [10, 27, 29]. Во многих работах такие тромбоциты описываются как наиболее жизнеспособные, поэтому оценка их процентного содержания в крови или плазме используется для характеристики качества тромбоцитарного пула в целом [2, 3, 11, 15, 19]. С другой стороны, известно, что не все дисковидные тромбоциты насыщены гранулами, и не все они способны проявлять функциональную активность [4, 5]. Для клинической диагностики, производственной трансфузиологии, а также для разных направлений регенеративной медицины всегда важно определить содержание биологически полноценных тромбоцитов — для их обозначения в наших работах используется термин «тромбоциты с гранулами» [5–7]. При этом тромбоциты без гранул в значительной степени остаются вне исследовательского поля. Естественно предположить, что структурно неполноценные тромбоциты являются биологически инертными и играют сугубо пассивную роль в системе гемостаза, а также в жизнедеятельности всего организма в целом. Однако существующие данные говорят

о том, что далеко не все тромбоциты без гранул находятся на терминальной стадии развития. Так, суммарная доля тромбоцитов, экспрессирующих P-селектин (необратимо активированные клетки) и фосфатидилсерин (клетки в стадии апоптоза), в крови здоровых людей варьирует от 9 до 16% [14, 18, 28], а доля тромбоцитов соответствующего морфологического типа (многоотростчатые тромбоциты и дегенеративные тромбоциты) — от 10 до 15% [2, 3, 27], т.е. среди тромбоцитов терминальных стадий практически отсутствуют клетки дисковидной формы. В то же время общее содержание тромбоцитов с гранулами в норме составляет 35–75%, тогда как общая доля тромбоцитов дисковидной и близкой к ней формы составляет 84–90%; таким образом, даже у здоровых людей доля дисковидных тромбоцитов без гранул может варьировать от 9 до 55% в пересчете на всю тромбоцитную популяцию. Действительно, в ходе ретроспективного анализа витально окрашенных препаратов (их цифровых фотографий) нами выявлено, что практически у всех доноров крови уровень дисковидных тромбоцитов без гранул был в пределах от 10 до 50%, составляя в среднем $32,6 \pm 5,4\%$. Это довольно значительная величина, особенно если учесть, что эти

клетки не находятся в стадии явной инактивации или распада. Поэтому чрезвычайно интересно выяснить их физиологическое значение.

Морфологический анализ дисковидных тромбоцитов без гранул

К дискоцитам мы относим все те тромбоциты, форма которых не претерпела значительных изменений по сравнению с интактной (рис. 1). В частности, тромбоцит может иметь выпячивания ламеллы, но при этом его диаметр и общие очертания больше соответствуют стадии покоя, нежели стадии активации [3]; кроме того, наличие мелких выпячиваний практически не влияет на содержание гранул в тромбоцитах. Часть дисковидных тромбоцитов обладает уплощенной блинообразной формой с округлыми очертаниями, что увеличивает их диаметр; в разных источниках такие тромбоциты называют сферическими или распластанными (spread platelets) [15, 21, 24]. Показано, что spread-форму тромбоцит формирует при контакте с адгезивным субстратом, находясь на ранней стадии активации, которая не всегда автоматически запускает процесс необратимой активации [7, 8, 10]. Как и в случае дискоцитов, количество гранул в уплощенных тромбоцитах может заметно варьировать от клетки

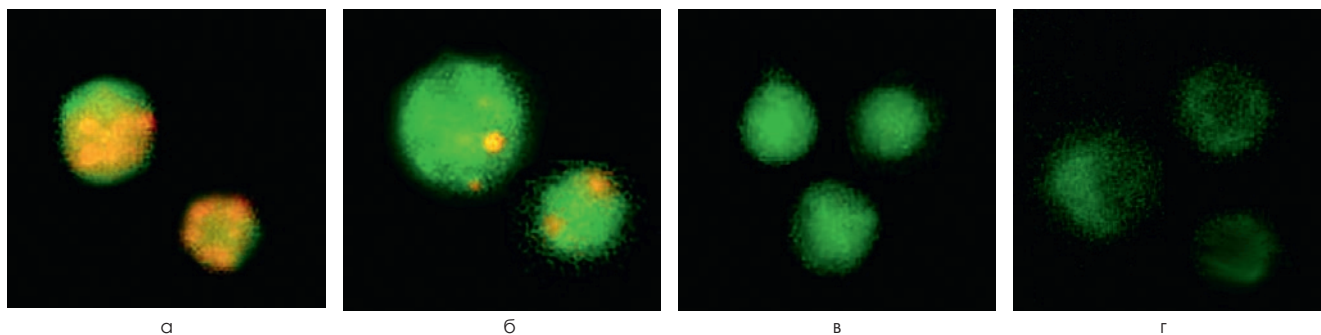


Рисунок 1. Морфологические типы дисковидных тромбоцитов человека. Витальное окрашивание трипафлавином — акридиновым оранжевым. Ув. 2000×; а — тромбоциты, насыщенные гранулами; б — тромбоциты с 1–2 гранулами; в — тромбоциты без гранул; г — тромбоциты без гранул с низкой яркостью цитоплазмы.

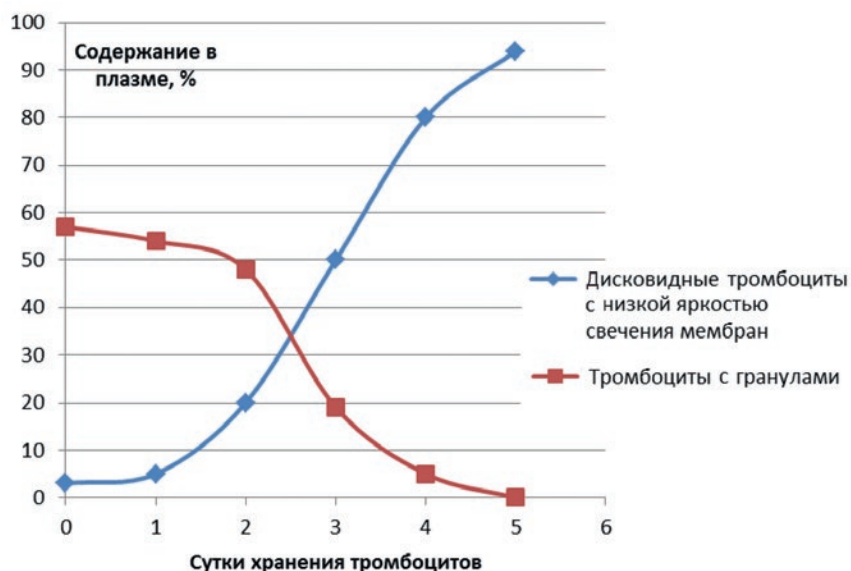
к клетке, при этом линейные размеры никак не влияют на их функциональные свойства. Таким образом, морфологически все наиболее значимые различия между дискоцитами должны определяться их внутренним составом.

Ранее, говоря о тромбоцитах без гранул, мы подразумевали в том числе и те клетки, которые при витальном окрашивании содержат 1–2 визуально различимые гранулы, причем в некоторых случаях диаметр таких гранул может достигать 700–800 нм, т.е. по всей видимости, они являются результатом оптического слияния нескольких гранул. Отличительным моментом здесь является то, что в интактном, структурно полноценном тромбоците гранулы распределены по значительному объему цитоплазмы (рис. 1 а), тогда как в клетках с 1–2 гранулами эти гранулы тесно ассоциированы с клеточной границей, с плазматической мембраной (рис. 1 б), и нередко можно видеть частичное выпячивание гранулы за пределы тромбоцита. Подобное «выпираание» гранул наблюдается в процессе активации тромбоцитов, их адгезии или агрегации, когда происходит массовый выброс гранул (дегрануляция) [5]. В связи с этим можно предположить, что дискоциты с 1–2 гранулами представляют собой клетки, где дегрануляция уже почти завершена, и большая часть секреторного материала уже вышла. Примечательно, что такие клетки совершенно не экспрессируют Р-селектин — стандартный маркер активации тромбоцитов [24]; с другой стороны, известно, что тромбоциты человека могут быть активированы большим количеством разных неканонических факторов, способных влиять на разные сигнальные пути,

в том числе в обход Р-селектина [6]. Более того, не всегда дегрануляция тромбоцитов сопровождается резким изменением их формы [6, 7]. В циркулирующей крови доноров наблюдается устойчивая корреляция между содержанием тромбоцитов с гранулами и содержанием тромбоцитов с 1–2 гранулами ($r = 0,702$). Весьма вероятно, что дисковидные тромбоциты с 1–2 гранулами относятся к особому типу / пулу тромбоцитов, который осуществляет конститутивный экзоцитоз (выброс секреторных везикул). В результате в циркулирующей крови выявляются тромбоциты, содержащие лишь остаточный объем гранул. Можно предположить, что определенная часть тромбоцитов с гранулами постоянно переходит к конститутивному экзоцитозу без необратимой активации. С другой стороны, сокращение гранул в тромбоцитах также может быть вызвано их старением [22]. Безусловно, изучение жизненного цикла тромбоцитов представляет важную фундаментальную и практическую задачу и требует детальных исследований.

Для жизнедеятельности любых клеток большое значение имеет структурная целостность их мембранных компонентов. Благодаря витальному окрашиванию появляется возможность оценить качество тромбоцитарных мембран на основе интенсивности их свечения. Наш метод показывает, что у биологически полноценных тромбоцитов с гранулами уровень свечения цитоплазмы (отдельно от гранул) составляет в среднем 25 фут-кандел [5]; это значение отмечается также у подавляющего большинства тромбоцитов с 1–2 гранулами и тромбоцитов без

гранул (рис. 1 б, в). Однако среди дисковидных тромбоцитов без гранул встречается группа клеток, где уровень свечения цитоплазмы заметно снижен и в среднем не превышает 12–13 фут-кандел (рис. 1 г); стоит особо подчеркнуть, что заметное снижение яркости цитоплазмы при витальном окрашивании всегда наблюдается у дегенеративных форм тромбоцитов, т.е. у разрушенных или разрушающихся клеток. В цельной крови доноров дискоциты с низким уровнем свечения цитоплазмы обычно составляют не более 10–11 % от всего пула тромбоцитов без гранул, а в пересчете на всю популяцию тромбоцитов — не более 2–3 %. Вместе с тем в процессе короткого хранения тромбоцитарных концентратов число дискоцитов с дефектами мембран начинает возрастать, особенно заметно через 2–3 суток хранения, а через пять суток почти все дисковидные тромбоциты имеют очень низкую яркость цитоплазмы при витальном окрашивании (рис. 2). Очевидно, это является результатом массового повреждения тромбоцитов при хранении. В циркулирующей крови доля дискоцитов с выраженными повреждениями мембран резко возрастает у пациентов с острыми экзогенными отравлениями [5], хронической почечной недостаточностью [2], сепсисом [11, 28], у пациентов с гематологическими заболеваниями [12]; помимо этого, разрушение мембран дискоцитов может быть вызвано *in vitro* такими факторами, как ультразвукие температуры, высокие концентрации диметилсульфоксида (ДМСО) и перекиси водорода, токсические наночастицы [5–9, 29]. Стоит особо подчеркнуть, что у дискоцитов, насыщенных грану-



Сутки хранения	Дисковидные тромбоциты с низкой яркостью свечения мембран	Тромбоциты с гранулами
0	3	57
1	5	54
2	20	48
3	50	19
4	80	5
5	94	0

Рисунок 2. Изменение уровня тромбоцитов с гранулами и тромбоцитов с повреждениями мембран в процессе хранения при комнатной температуре.

лами, яркость мембран не снижается в течение нескольких часов контакта с ДМСО или перекисью водорода, тогда как у дискоцитов без гранул в этих же условиях свечение цитоплазмы начинает падать уже через 10 минут [5]. Это подтверждает предположение о том, что дискоциты без гранул являются клетками с низкой жизнеспособностью.

Среди дисковидных тромбоцитов с низкой яркостью свечения следует выделить особую группу клеток, которая практически не встречается в циркулирующей крови доноров, но может быть выявлена *in vitro*. Отличительной чертой таких тромбоцитов является наличие плотного участка цитоплазмы в виде узкого серпа или округлой «шляпки» (сар), а также выраженная экспрессия Р-селектина и фосфатидилсерина на наружной мембране [1, 13, 24]. В литературе эти клетки называют прокоагулянтными, поскольку они способны связывать на своей поверхности большое количество факторов гемостаза,

включая фибриноген, X, XI факторы и др. [20, 22, 30]. Внутренняя морфология прокоагулянтных тромбоцитов является характерной для апоптотических клеток [24], но одновременно с этим прокоагулянтные тромбоциты представляют собой высокоактивированные клетки, чем принципиально отличаются от остальных дискоцитов без гранул [13]. Поэтому выявление прокоагулянтных тромбоцитов в ряде случаев может иметь особое значение.

Участие тромбоцитов без гранул в функциональном ответе

Во всех предыдущих работах мы подчеркивали, что активно функционировать могут лишь тромбоциты с гранулами. В частности, при контакте с адгезивным субстратом только у таких тромбоцитов происходит формирование ламеллоподий и псевдоподий, что увеличивает возможность взаимодействия с другими тромбоцитами [4–7]. При нанесении на коллагеновый матрикс тромбоциты с гранулами уже через 10–15 минут образуют тесные

скопления, аналогичные уплотненным агрегатам, на поверхности которых очень хорошо видны секретируемые гранулы [8]. С другой стороны, на периферии таких агрегатов нередко можно выявить дискоциты с 1–2 гранулами, и даже без гранул, при том что полная дегрануляция не наступает в течение 10–15 минут [5, 6, 8]. Более того, морфофункциональный анализ тромбоцитов в плазме до и после агрегации *in vitro* указывает на способность дискоцитов без гранул участвовать в образовании агрегатов. Так, например, в богатой тромбоцитами плазме до начала агрегации общая концентрация клеток составляла 356 тысяч на 1 мкл клеток, из них 60% содержали гранулы. После активации коллагеном и инкубации пробы в течение 30 минут при 37 °С общая концентрация тромбоцитов в плазме составила всего 40 тысяч на 1 мкл, при этом почти все тромбоциты в суспензии были представлены многоотростчатыми или деформированными клетками, т.е. в плазме остались преимущественно те тромбоциты, которые изначально были функционально непригодными. В то же время исходное содержание тромбоцитов без гранул составляло 142 тысяч на 1 мкл, из них около 100 тысяч на 1 мкл — клетки дисковидной формы [5]. Следовательно, дискоциты без гранул также вошли в состав агрегатов. Стоит особо подчеркнуть, что этот эффект наблюдается лишь в пробах с нормальным содержанием тромбоцитов с гранулами или близким к нормальному (не менее 30%). В пробах с исходно низким качеством тромбоцитов дискоциты без гранул не участвуют в формировании агрегатов [4]. По всей вероятности, многие дискоциты без гранул сохраняют небольшой функциональный потенциал, но он может быть реализован лишь кумулятивно, когда общий морфофункциональный статус тромбоцитов находится на нормальном уровне.

По данным литературы, прокоагулянтные тромбоциты способны значительно усиливать агрегацию и тромбообразование [1, 13, 25, 26]. На препаратах, окрашенных методом иммунофлуоресценции, вся периферия прокоагулянтных тромбоцитов покрыта сплошным ободком фибрина, поэтому для их обозначения также исполь-

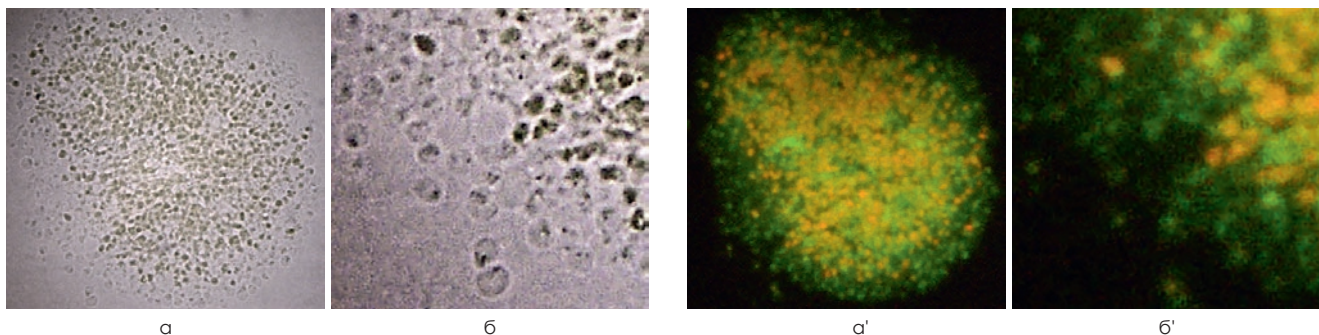


Рисунок 3. Выявление тромбоцитов без гранул в составе тромбоцитарного агрегата при активации 0,1 М хлорида натрия. Слева — фазовый контраст, справа — витальное окрашивание трипропфлавином — акридиновым оранжевым. а, а' — ув. 400×; б, б' — ув. 1 000×.

зуется термин «фибрин-укутанные», fibrin-coated [20]. В работе Н. А. Подоплеловой и соавт. замечательно показан рисунок распределения фибрина и других плазменных факторов на прокоагулянтных тромбоцитах [24]; на интактных или адгезирующих тромбоцитах эти факторы полностью отсутствуют. При активации тромбином *in vitro* до половины всех тромбоцитов в агрегате представлены именно прокоагулянтными формами преимущественно по периферии агрегата [24]. По нашим данным, тромбоциты, морфологически идентичные прокоагулянтным, можно выявить в составе агрегатов после воздействия коллагена или высоких доз АДФ, однако их доля очень незначительная (менее 5%). Гораздо чаще клетки с такой морфологией выявляются в условиях умеренной гипотонии (плазма с концентрацией хлорида натрия 0,1 М). Ранее мы видели, что концентрации 0,075–0,100 М хлорида натрия способны активировать тромбоциты даже при комнатной температуре [6], что нередко приводит к образованию очень крупных агрегатов (рис. 3). Примечательно, что в составе таких агрегатов в большом количестве выявляются клетки с характерными сар-структурами и очень низкой яркостью цитоплазмы, которые располагаются по периферии агрегата (рис. 3 а', б'). Подобные клетки массово образуются и при воздействии ДМСО, когда проницаемость тромбоцитарных мембран резко увеличивается. Этот эффект наблюдается как при высоких (20–40%), так и при более низких (5–10%) дозах ДМСО [7]. Поэтому в процессе криоконсервирования тромбоцитов с использованием ДМСО необходимо минимизировать время между внесением ДМСО в тромбокон-

центрат и непосредственной заморозкой. *In vivo* повреждение тромбоцитов за счет веществ, аналогичных ДМСО, маловероятно; вместе с тем анализ мембранных компонентов тромбоцитов может дать значительную информацию о состоянии клеточного звена гемостаза, в том числе при различных патологиях.

Тромбоциты без гранул как маркер патофизиологических реакций

Неоднократно показано, что тромбоциты человека очень чувствительны к огромному числу факторов [8, 9, 25]. Поэтому при многих патологиях происходит заметное изменение морфофункционального статуса тромбоцитов, мониторинг их биологической полноценности имеет значение в первую очередь с точки зрения прогнозирования кровотечений и тромбозов. При выраженном геморрагическом синдроме (2–3 балла по шкале ВОЗ) доля тромбоцитов с гранулами не превышает 9–10% [4, 5, 12], соответственно доля тромбоцитов без гранул составляет 90% и более. Однако соотношение основных морфологических типов среди тромбоцитов без гранул может сильно варьировать как у разных пациентов, так и у одного и того же пациента на разных сроках лечения. Так, у пациентов с тяжелой ожоговой травмой (ожоги 30–50% всей поверхности тела) на 1–3-и сутки лечения во всех случаях доля поврежденных дискоцитов была очень высокой, составляя в среднем 32,4%, на фоне очень низкой морфофункциональной активности тромбоцитов. При последующем лечении у ожоговых пациентов с благоприятным исходом происходило постепенное

восстановление биологической полноценности тромбоцитов, к 30-м суткам лечения уровень поврежденных дискоцитов снижался до нормальных или почти нормальных значений. Напротив, у ожоговых пациентов с летальными исходами на 10–30-е сутки уровень поврежденных дискоцитов был таким же высоким, как и на 1–3-и сутки лечения, заметного улучшения качества тромбоцитов не наблюдалось [16]. По нашим данным, у пациентов с обширными ожогами на 1–3-и сутки после ожога доля дискоцитов со сниженной интенсивностью свечения мембран во всех случаях составляет не менее 30% от всей популяции тромбоцитов, но при дальнейшем лечении их содержание в крови у одних пациентов падает, а у других практически не меняется, вследствие чего доля поврежденных дискоцитов остается очень высокой даже через 20–30 суток лечения [16]. У пациентов с острыми экзогенными отравлениями в 60% случаев доля поврежденных дискоцитов была такой же, как у доноров, в 25% составляла 5–10%, и лишь в 15% случаев была выше 10%, хотя общий уровень тромбоцитов с гранулами и морфофункциональной активности были достоверно ниже нормы [5, 11]. С другой стороны, у пациентов с хроническими заболеваниями (ишемическая болезнь сердца, хроническая почечная недостаточность) на фоне нормального содержания тромбоцитов с гранулами более чем в 30% случаев доля дискоцитов с низкой яркостью цитоплазмы была в 3–5 раз выше нормы [5]; увеличение доли таких тромбоцитов нередко наблюдается после искусственного кровообращения. По всей видимости,

безгранульные дискоциты с низкой яркостью цитоплазмы представляют собой некротические клетки, поэтому их мониторинг может иметь особое значение у пациентов с тяжелыми патологиями. Скорее всего, это справедливо и для прокагулянтных тромбоцитов, хотя данные относительно их содержания в норме и патологии весьма противоречивы [13, 25, 26]. Безусловно, проблема исследования таких форм тромбоцитов очень интересна.

Известно, что в крови человека постоянно присутствуют секреторные микрочастицы, из которых подавляющее большинство имеет мегакариоцитарное и тромбоцитарное происхождение [21]. Тромбоцитарные микрочастицы (ТМч) фактически представляют собой цельные гранулы, вышедшие из тромбоцитов и содержащие большое количество сигнальных молекул [17]. Неоднократно показана роль тромбоцитарных микрочастиц во многих физиологических и патофизиологических процессах [21, 23], при этом их мониторинг методами проточной флуориметрии является весьма затратным, особенно при большом количестве пациентов. Если удастся выявить взаимосвязь между уровнем ТМч в крови и содержанием тромбоцитов с 1–2 гранулами, то появится возможность оценить уровень ТМч путем морфофункционального исследования тромбоцитов с помощью витального окрашивания [4], который является малозатратным и весьма оперативным методом анализа тромбоцитов.

Нужно признать, что тромбоциты без гранул представляют интерес ничуть не меньший, чем биологически полноценные тромбоциты, поскольку их присутствие в крови напрямую связано с жизненным циклом тромбоцитарной популяции. Изучение тромбоцитов без гранул позволит точнее понять физиологию кровеносной системы и всего гомеостаза в целом.

Список литературы

1. Артеменко Е. О., Свешникова А. Н., Пантелеев М. А. Программируемая клеточная смерть тромбоцитов при их сверхактивации // Онкогематология.—2014.—№ 3.—С.63–66.
2. Василенко И. А., Валов А. Л., Ватазин А. В., Нестеренко И. В., Круглов Е. Е. Некоторые особенности морфофункционального

- состояния тромбоцитов периферической крови доноров и реципиентов почечного аллотрансплантата // Вестник трансплантологии и искусственных органов.—2009.—Т.11, № 4.—С.69–74.
3. Василенко И. А., Тычинский В. П., Валов А. Л., Кардашова З. З., Иванюта И. В., Агаджанян Б. Я., Вишенская Т. В., Лифенко Р. А. Клеточная диагностика: возможности витальной компьютерной микроскопии // Вестник последипломного медицинского образования.—2009.—№ 3–4.—С. 64–68.
4. Макаров М. С., Боровкова Н. В., Кобзева Е. Н., Высочин И. В., Хватов В. Б. Способ оценки морфофункционального статуса тромбоцитов человека и его применение в клинической практике // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.—2012.—Т.3, № 14.—С. 32–34.
5. Макаров М. С. Особенности морфофункционального статуса тромбоцитов человека в норме и патологии. // Дис. ... канд. биол. наук: 14.01.21 — Гематология и переливание крови / НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.—М.2014.—124с.
6. Макаров М. С. Неканонические способы активации тромбоцитов человека // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.—2015.—Т. 3, № 11.—С. 30–35.
7. Макаров М. С. Влияние высоких концентраций диметилсульфоксида на биологическую активность тромбоцитов человека в плазме // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.—2016.—№ 2.—С. 48–52.
8. Макаров М. С. Актуальные аспекты подготовки тромбоцитов человека к использованию в регенеративной медицине // Медицинский алфавит. Современная лаборатория.—2017.—Т. 4, № 28.—С. 46–51.
9. Макаров М. С. Влияние наночастиц на биологическую полноценность тромбоцитов человека // Молекулярная медицина.—2017.—Т. 15, № 6.—С. 9–14.
10. Мазуров А. В. Физиология и патология тромбоцитов.—М.: Литерра, 2011.—248с.
11. Фолмин А. М., Кошелев Р. В., Ватазин А. В., Василенко И. А., Волгина Ю. Д., Метелин В. Б. Морфометрические критерии эффективности гемофильтрации при полиорганной недостаточности у больных хирургическим сепсисом // Альманах клинической медицины.—2009.—№ 21.—С. 52–57.
12. Хватов В. Б., Макаров М. С., Костин А. И., Кобзева Е. Н., Боровкова Н. В. Прогнозирование геморрагического синдрома у гематологических больных на основе морфофункционального флуоресцентного анализа тромбоцитов // Молекулярная медицина.—2013.—№ 5.—С.28–31.
13. Шабалина А. А., Костырева М. В., Танащян М. М. («Кутанные») тромбоциты — новые возможности лабораторной диагностики нарушений тромбообразования // Анналы клинической и экспериментальной неврологии.—2015.—Т.9, № 3.—С. 56–60.
14. Akay O. M., Gündüz E., Başyigit H., Gulbas Z. Platelet function testing during 5-day storage of single and random donor platelet apheresis // Transfus Apher Sci.—2007.—Vol.36, № 3.—P. 285–289.
15. Bandyopadhyay D., Baruah H., Gupta B., Sharma S. Silver nano particles prevent platelet adhesion on immobilized fibrinogen // Indian J Clin Biochem.—2012.—Vol.27, № 2.—P. 164–170.
16. Borisov V. S., Makarov M. S., Kaplunova M. Yu. Morfofunctional status of platelets in

- burn patients with severe injury // 25th Biennial international Congress on Thrombosis, Venice, 23–26 may 2018, P. 148.
17. Dean W. L., Lee M. J., Cummins T. D., Schultz D. J., Powell D. W. Proteomic and functional characterisation of platelet microparticle size classes // Thromb Haemost.—2009.—Vol.102, № 4.—P. 711–718.
18. Delobel J., Rubin O., Prudent M. Biomarker analysis of stored blood products: emphasis on pre-analytical issues // Int J Mol Sci.—2010.—№ 11.—P. 4601–4617.
19. Egidi M. G., D'Alessandro A., Mandarello G., Zolla L. Troubleshooting in platelet storage temperature and new perspectives through proteomics // Blood Transfus.—2010.—№ 8.—P. 73–81.
20. Kotova Y. N., Ataullakhanov F. I., Panтелеev M. A. Formation of coated platelets is regulated by the dense granule secretion of adenosine 5'diphosphate acting via the P2Y12 receptor // J Thromb Haemost.—2008.—Vol.6, № 9.—P.1603–1605.
21. Lannan K. L., Richard P. P., White R. J. Thrombosis, platelets, microparticles, and PAH: More than clot // Drug Discov Today.—2014.—Vol.19, № 8.—P. 1230–1235.
22. Mason K. D., Carpinelli M. R., Fletcher J. I., Collinge J. E., Hilton A. A., Ellis S., Kelly P. N., Ekert P. G., Metcalf D., Roberts A. W., Huang D. C., Kile B. T. Programmed anuclear cell death delimits platelet life span // Cell.—2007.—Vol.128, № 6.—P. 1173–1186.
23. Nomura S., Ozaki Y., Ikeda Y. Function and role of microparticles in various clinical settings // Thromb Res.—2008.—Vol. 123, № 1.—P. 8–23.
24. Podoplelova N. A., Sveshnikova A. N., Kotova Y. N., Eckly A., Receveur N., Nechipurenko D. Y., Obyednyy S. I., Kireev I. I., Gachet C., Ataullakhanov F. I., Mangin P. H., Panтелеev M. A. Coagulation factors bound to procoagulant platelets concentrate in cap structures to promote clotting // Blood.—2016.—Vol.128, № 13.—P. 1745–1755.
25. Prodan C. I., Joseph P. M., Vincent A. S., Dale G. L. Coated-platelets in ischemic stroke: differences between lacunar and cortical stroke // J Thromb Haemost.—2008.—Vol.6, № 4.—P. 609–614.
26. Prodan C. I., Stoner J. A., Cowan L. D., Dale G. L. Lower coated platelet levels are associated with early hemorrhagic transformation in patients with non-lacunar brain infarction // Journ. of Thrombosis and Haemostasis.—2010.—Vol. 8, № 6.—P. 1185–1190.
27. Rebull P. In vitro and in vivo properties of various types of platelets // Vox Sang.—1998.—Vol. 74(suppl 2).—P. 217–222.
28. Sharron M., Hoptay C. E., Wiles A. A., Garvin L. M., Geha M., Benton A. S., Nagaraju K., Freishtat R. J. Platelets induce apoptosis during sepsis in a contact-dependent manner that is inhibited by GPIIb/IIIa blockade // PLoS One.—2012.—Vol.7, № 7.—P. e41549.
29. Valeri C. R., Macgregor H., Ragno G. Correlation between in vitro aggregation and thromboxane A2 production in fresh, liquid-preserved, and cryopreserved human platelets: effect of agonists, pH, and plasma and saline resuspension // Transfusion.—2005.—Vol. 45.—P. 596–603.
30. Zakharova N. V., Artemenko A. N., Podoplelova N. A., Sveshnikova A. N., Demina I. A., Ataullakhanov F. I., Panтелеev M. A. Platelet surface-associated activation and secretion-mediated inhibition of coagulation factor XII // PLoS One.—2015.—Vol.10, № 2.—P. e0116665.

