

10. Mazen Al Hajjar. *Wear of Hard-on-Hard Hip Prostheses: Influence of Head Size, Surgical Position, Material and Function*: Submitted in accordance with the requirements for the degree of Doctor of Philosophy The University of Leeds School of Mechanical Engineering Leeds. UK; 2012.
11. Bozic K.J., Browne J., Dangles C.J., Manner P.A., Yates A.J.Jr., Weber K.L. Modern metal-on-metal hip implants. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* 2012; 20(6): 402—6.
12. Van Raay J.J.A.M., Rozing P.M., Van Blitterswijk C.A., Van Haaster R.M., Koerten H.K. Biocompatibility of wear-resistant coatings in orthopaedic surgery in vitro testing with human fibroblast cell cultures. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* 1995; 6(2): 80—4.
13. Karel J. Hamelynck, Ron G. Woering. Ceramic Surface Engineered Metal-on-Metal Hips system for Total Hip Arthroplasty and Resurfacing Hip Arthroplasty. *White Paper Published.* 2009; August: 1—8.
14. Harman M.K., Banks S.A., Hodge W.A. Wear analysis of a retrieved hip implant with titanium nitride coating. *J. Arthroplasty.* 1997; 12(8): 938—45.

Поступила 19.01.15

© МАКАРОВ М.С., 2015

УДК 612.112.7:612.117

Макаров М.С.

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ И ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ СТОРОНЫ АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского» ДЗ г. Москвы РФ, 129090, Москва, Россия

Для корреспонденции: Макаров Максим Сергеевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории трансплантации клеток и иммунотипирования. E-mail: mcsimmc@yandex.ru

♦ В статье приводится обзор данных о значении адгезии тромбоцитов человека в норме и при патологии, описаны методы изучения, регуляции и применения адгезивной активности тромбоцитов в области медицины, биологии и бионинженерии.

Ключевые слова: тромбоциты; адгезия; гранулы; дегрануляция.

Для цитирования: Российский медицинский журнал. 2015; 21 (5): 34—40.

Makarov M.S.

THE POSITIVE AND NEGATIVE ASPECTS OF ADHESIVE ACTIVITY OF HUMAN THROMBOCYTES

The N.V. Sklifosofskii research institute of emergency care of the Moscow health department, 129090 Moscow, Russia

♦ The article presents review of data concerning significance of adhesion of human thrombocytes in norm and pathology. The methods of investigation, regulation and application of adhesive activity of human thrombocytes in medicine, biology and bioengineering.

Keywords: thrombocytes; adhesion; granules; degranulation.

Citation: Rossiiskii meditsinskii zhurnal. 2015; 21 (5): 34—40. (In Russ.)

For correspondence: Maksim Makarov, MD, PhD. E-mail: mcsimmc@yandex.ru

Received 22.01.15

Одной из отличительных черт биологически полноценных тромбоцитов человека является наличие у них адгезивной активности. Способность к адгезии характерна практически для всех типов эукариотических клеток, однако в случае тромбоцитов она играет ключевую роль в выполнении этими клетками их биологического предназначения. Показано, что процесс формирования тромба начинается с адгезии тромбоцитов в области повреждения сосуда, их активации и вовлечения в этот процесс других тромбоцитов, которые в результате приводят к формированию тромбоцитарного агрегата [1—3]. Адгезия тромбоцитов неразрывно связана с выбросом за пределы клеток содержимого секреторных везикул (гранул), содержащих, с одной стороны, факторы гемостаза (Ca²⁺, АДФ, тромбоспондин, фактор Виллебранда и т.д.), с другой — вещества, способствующие дальнейшим процессам репарации и регенерации поврежденных тканей [1—4]. Нарушения адгезии тромбоцитов (ее отсутствие или, наоборот, гиперактивность) часто приводят к нарушениям гемостаза (кровоточивость, тромбоз), способствуют развитию других патологий, таких как атеросклеротические осложнения, трофические язвы, злокачественные новообразования и т.д. [2—4]. Поэтому изучение адгезивной активности тромбоцитов человека имеет большое значение в медицине, биологии и биотехнологии.

Методы изучения адгезии тромбоцитов

Для оценки адгезивной активности тромбоцитов существуют различные подходы. Наиболее простым является метод пропускания крови или плазмы через колонку, заполненную стеклянными бусинами диаметром 1—2 мм, с дальнейшим подсчетом числа оставшихся клеток в пробе [5]. Однако такой метод адекватен лишь при очень узком диапазоне концентрации клеток в пробе, не отражает динамических изменений морфологии исследуемых тромбоцитов. Более эффективной является оценка содержания адгезировавших тромбоцитов в пробе с помощью методов спектроскопии, основанных на окрашивании тромбоцитов флюоресцентными [6, 7] или гистохимическими красителями [8], при этом часто используются наборы с адгезивными субстратами (коллаген, фибрин и др.). Вместе с тем спектроскопический анализ фиксированных тромбоцитов или их компонентов не позволяет достоверно оценить исходную структурную и функциональную полноценность исследуемых клеток. Поэтому наиболее адекватной представляется оценка адгезивности тромбоцитов на основе морфометрического и морфофункционального анализа. В настоящее время эта задача может быть решена с помощью флюоресцентной микроскопии (анализ клеток, окрашенных витальными и суправитальными флюорохромными

красителями), интерференционной микроскопии (анализ светооптических параметров адгезирующих тромбоцитов) и атомно-силовой микроскопии (анализ микрорельефа) и контуров тромбоцитов). Необходимо подчеркнуть, что морфологические изменения тромбоцитов, адгезирующих на стекле, можно наблюдать и в фазово-контрастном световом микроскопе [9, 10] без использования сложных методик, однако при этом весьма затруднен анализ целостности структур как на поверхности тромбоцита (рецепторы адгезии, маркеры активации), так и внутри цитоплазмы (гранулы, канальцевая сеть, элементы цитоскелета). В целом основным недостатком микроскопического исследования тромбоцитов в проходящем свете является отсутствие четких критериев, определяющих «морфологическую норму» тромбоцита [10, 11], а также невозможность исследования адгезии на оптически плотных субстратах. В связи с этим оценка адгезивной активности тромбоцитов методами флуоресцентной и атомно-силовой микроскопии имеет несомненное преимущество. Показано, что атомно-силовая микроскопия позволяет зарегистрировать процесс дегрануляции тромбоцитов без применения красителей [12], проще поддается автоматизации, однако не может дифференциально выявить те или иные внутренние структуры тромбоцита, а также отличить клетки, активированные в процессе адгезии на стекле, от клеток, изменивших форму еще до адгезии. Поэтому оценка адгезивной активности тромбоцитов должна обязательно включать параллельный анализ их внутренней морфологии.

Морфофункциональный анализ тромбоцитов с помощью флуоресцентного микроскопа требует подбора соответствующих красителей, позволяющих дифференциально выявить те или иные структуры в тромбоците. Нужно сказать, что окрашивание тромбоцитов человека витальными (прижизненными, не требующими химической фиксации) красителями используется все еще недостаточно широко [13, 14]. Известны способы выявления активированных тромбоцитов с помощью флуоресцентных маркеров Р-селектина [13, 15] и митохондрий [16], однако такое окрашивание не позволяет адекватно оценить сам процесс адгезии. Адгезирующие тромбоциты наглядно выявляются при использовании меченого флуорохромами фаллоидина — гептапептида, избирательно связывающего фибриллярный актин (F-актин). В покоящихся (неактивированных) тромбоцитах основная часть F-актина распределена в виде узкого кольца по периферии тромбоцита, и такие клетки имеют низкую интенсивность свечения при окрашивании фаллоидином. При адгезии на стекле цитоскелет тромбоцитов претерпевает заметные изменения — происходит значительная полимеризация мономеров актина с образованием множества актиновых фибрилл. Эти фибриллы связываются с фаллоидином и дают интенсивное свечение [17, 18]. При этом можно выявлять тромбоциты разных стадий активации — на ранней стадии выявляемый фаллоидином F-актин распределен диффузно по периферии тромбоцита [17], на более поздних стадиях наблюдается формирование многочисленных актиновых пучков, позволяющих тромбоциту формировать многочисленные отростки, которые нередко образуют целую зону выпячивания цитоплазмы (ламеллоподию). Описанные процессы возможны лишь в нормальных тромбоцитах, биологически неполноценные или деградирующие клетки не способны к адгезии и, следовательно, не могут иметь интенсивного свечения при окрашивании фаллоидином. К сожалению, фаллоидин не может быть использован для оценки адгезии клеток в динамике, поскольку необратимо связывается с F-актином, блокируя дальнейшую

перестройку актиновых фибрилл. Для динамического исследования адгезивной активности тромбоцитов очень удобен витальный краситель на основе трипафлавина и акридинового оранжевого, который не вызывает нарушений биологической полноценности тромбоцитов [19]. Окрашенные трипафлавином—акридиновым оранжевым тромбоциты имеют зеленое свечение цитоплазмы и красно-оранжевое свечение гранул — это позволяет регистрировать изменение формы отдельных тромбоцитов, процесс их дегрануляции, локомоторную активность, а также оценивать содержание адгезивно-активных клеток во всей популяции тромбоцитов исследуемой пробы. В настоящее время ведется работа по усовершенствованию данного метода исследования тромбоцитов с целью его автоматизации и достижения возможности оценки количества биологически полноценных тромбоцитов на адгезивной поверхности.

Отсутствие адгезии тромбоцитов как проявление тромбоцитопатии

Нарушение адгезивной активности тромбоцитов ведет к прямому сбою в работе клеточного звена гемостаза, развитию геморрагических осложнений, нарушению репарации сосудов и близлежащих тканей. Поэтому своевременная оценка адгезивной активности тромбоцитов играет важную роль как в клинической практике, так и при заготовке тромбоцитов доноров. В клеточной биологии отсутствие адгезии часто связывают с нарушениями структуры интегринов — трансмембранных белков, играющих ключевую роль в распознавании клетками друг друга, а также при их контакте с субстратом [20]. Для адгезии необходимо, чтобы интегриновые комплексы на плазматической мембране клетки переходили из неактивной конформации в активную, поскольку только в этом случае становится возможной активация системы внутриклеточного сигналинга, запускающей в свою очередь перестройку цитоскелета клетки и ее распластывание на субстрате [20—23]. Дефекты интегриновых молекул тромбоцитов характерны для ряда генетически обусловленных патологий, таких как синдром Бернара—Сулье (нарушение прямого связывания с коллагеном), болезнь Виллебранда, тромбоастения Гланцмана (нарушение связывания с фибрином и фибриногеном) [24—27]. Стоит отметить, что отсутствие адгезии тромбоцитов на одном из субстратов может не препятствовать их адгезии на других адгезивных поверхностях. Так, при тромбоастении Гланцмана тромбоциты не способны к образованию агрегатов и связыванию фибрина и фибриногена, однако при этом они сохраняют способность к адгезии на стекле и коллагене [27]. Вместе с тем резко снижение адгезивной активности тромбоцитов (независимо от субстрата) наблюдается при многих гематологических заболеваниях [25—27], связанных с угнетением мегакариопоэза и созреванием тромбоцитов (миелодиспластический синдром, миелоидный и миелобластный лейкозы, апластическая анемия и т.д.). Во всех этих случаях тромбоциты имеют выраженные нарушения внутренней структуры, такие как отсутствие и/или дефекты гранул, повреждение механизмов дегрануляции, дефекты цитоскелета и мембран [25, 26].

Помимо гематологических заболеваний, адгезивная активность тромбоцитов бывает нарушена при целом ряде патологий. Суммируя данные других исследователей и собственный опыт, можно заключить, что достоверное снижение адгезии тромбоцитов наблюдается при острых экзогенных отравлениях, гинекологических заболеваниях, сепсисе, ДВС-синдроме, массивной кровопотере [2, 4, 9, 14, 28]; кроме того, нарушение адгезив-

ной активности тромбоцитов может быть обусловлено действием применяемых в процессе лечения физических факторов, таких как искусственное кровообращение [29], воздействие КВЧ-излучения [30], гемодиализ [31]. В лабораторных условиях адгезивная активность тромбоцитов пропадает при повреждении клеточных мембран (с помощью детергентов или спиртов), при искусственном ацидозе ($\text{pH} \leq 6,7$), в условиях гипотонии и гипертонии, а также в результате фиксации клеток. Установлено, что широко используемый в криобиологии диметилсульфоксид (ДМСО) при контакте с тромбоцитами повышает проницаемость мембран этих клеток, что может вызывать деформацию вакуолярных компонентов (гранул и системы канальцев), разрушение гранул или выброс их содержимого в отсутствие стимулов к активации клетки, а также нарушение нормальной ориентации цитоскелета тромбоцитов [32]. В результате наличие ДМСО в среде с тромбоцитами при комнатной температуре постепенно снижает их адгезивную активность. Наши исследования показали, что при 5—6% ДМСО (концентрация, используемая при криоконсервировании тромбоцитов) адгезивная активность у ДМСО-устойчивых клеток начинает снижаться через 1,5 ч экспозиции, а у ДМСО-неустойчивых — уже через 10—15 мин. Это указывает на необходимость минимизации сроков контакта ДМСО с тромбоцитами в ходе их подготовки к криоконсервированию.

Таким образом, нарушение адгезии тромбоцитов может быть вызвано огромным количеством факторов, что делает тромбоциты весьма уязвимыми к внешним воздействиям. Тромбоциты человека представляют собой высокодифференцированные клетки, лишенные ядра, с очень низким уровнем развития систем репарации внутриклеточных дефектов [4, 28]. По всей вероятности, неспособность тромбоцитов к восстановлению собственных структур во многом определяет малый срок жизни этих клеток — не более 8 сут в циркулирующей крови. В производственной трансфузиологии тромбоциты доноров считаются пригодными лишь в том случае, если срок их хранения не превышает 5 сут [33]. Действительно, через 5 сут хранения при комнатной температуре концентраты тромбоцитов уже не содержат адгезивно активных клеток [34]. По нашим данным, резкое снижение биологической полноценности тромбоцитов (в том числе их адгезивной активности) наступает уже на 3-и сутки хранения, поэтому для исследований предпочтительны свежевыделенные тромбоциты.

Подавление адгезии тромбоцитов: вынужденная необходимость

В клинической практике найдется большое количество примеров, когда адгезивная активность тромбоцитов дает не положительный эффект, а отрицательный. Чаще всего «ненужная» адгезия тромбоцитов происходит при контакте клеток циркулирующей крови с атеросклеротическими бляшками (в артериях), с измененными венозными сосудами; в головном мозге — с бляшками Альцгеймера [35]. Показано, что во всех этих случаях отмечены повышенное сродство тромбоцитов к субстрату в зоне поражения (коллаген, фибрин, бета-амилоид) и массовая адгезия тромбоцитов на его поверхности с образованием новых тромбоцитарных агрегатов, которые приводят к еще большему перекрытию просвета сосудов. Этот процесс нередко сопровождается повышением в крови количества тромбоцитов увеличенного диаметра, округлой или овальной формы [36]. В литературе такие тромбоциты называют сфероидными и рассматривают как клетки ранней стадии активации

[9, 11]. Действительно, на ранних стадиях адгезии на стекле форма тромбоцита из дисковидной становится округлой и сильно уплощенной, при этом гранулы начинают перемещаться к периферии клетки, но все еще остаются в цитоплазме. Наши исследования показывают, что в крови пациентов с тромбозами увеличено не только общее содержание больших округлых тромбоцитов, но и количество гранул в их составе [28]; судя по всему, накопление таких тромбоцитов в циркулирующей крови является результатом передачи активирующих сигналов, исходящих из области тромботического поражения. В результате в сосудах с тромбами адгезия тромбоцитов является наиболее интенсивной. Так, у пациентов с тромбозами артерий скорость адгезии и деградации тромбоцитов в артериальном русле повышается в 1,5 раза по сравнению с нормой (здоровые доноры), в капиллярах соответствует норме, а в венах, наоборот, снижается [37]. Однако сигнал запуска адгезии тромбоцитов может передаваться и в обход систем гемостаза. Установлена возможность тесного контакта тромбоцитов с клетками некоторых злокачественных неоплазий, например опухолей яичника [38, 39]. В результате происходит активная адгезия и деградация тромбоцитов, стимулирующие процесс пролиферации клеток и ангиогенеза внутри опухолевой ткани. Также тромбоциты обладают способностью адгезировать на различных углеродных полимерах (поливинил, полиэстер, полипропилен, полиуретан и т.д.) [40—42], металлических конструкциях [43], что создает большую проблему при стентировании и замене клапанов сердца. Для снижения адгезивной активности тромбоцитов в клинической практике существуют два подхода: 1-й — подавление адгезии тромбоцитов с помощью лекарственных препаратов, 2-й (используется при изготовлении стентов) — разработка новых материалов и покрытий, не позволяющих тромбоцитам адгезировать. К настоящему времени существует широчайший набор препаратов-антиагрегантов для подавления активности тромбоцитов; принцип их действия чаще всего основан на подавлении / необратимом связывании со структурами тромбоцитов, передающими сигнал об активации внутрь клетки [44—46]. К ним относят блокаторы рецепторов к АДФ (клопидогрель, прасугрель, тикагрелор), блокаторы рецепторов к фибрину и фибриногену (эптифибатид, тирофибан), блокаторы синтеза тромбоксана (аспирин). При этом клиницисты вынуждены признать, что не всегда использование препаратов-антиагрегантов реально снижает активность тромбоцитов, в том числе адгезивную. Этот эффект связывают с наличием у тромбоцитов некоторых пациентов так называемой резистентности к антиагрегантам [47, 48]. Доля людей, у которых тромбоциты обладают резистентностью к препарату клопидогрелю (золотой стандарт антиагреганта), по разным данным, варьирует от 4 до 40% [48]; во многом это связано с отсутствием стандартизированного подхода к оценке резистентности тромбоцитов, что не позволяет достоверно определить пороговое значение их активности (адгезивной или агрегационной), превышение которого означает резистентность этих клеток к антиагреганту. Наши исследования показывают, что под действием препарата клопидогреля через 1 сут после приема лекарственной дозы (время максимальной эффективности препарата) адгезивная активность тромбоцитов у пациентов с острым коронарным синдромом снижалась в среднем в 2,5 раза, варьируя при этом в интервале от 1,5 до 9 раз. Исследование антиагреганта прямого действия (тикагрелор) *in vitro* показало, что у 75—80% доноров крови и кардиохирургических пациентов адгезивная активность

тромбоцитов в присутствии тикагрелора снижалась на 90—100% (высокая чувствительность), у 15—20% — на 10—50% (средняя/сниженная чувствительность), у 3—5% — на 5—40% (низкая чувствительность) [49]. Таким образом, действие антиагрегантов нередко носит индивидуальный характер и не всегда может эффективно снизить адгезивную активность тромбоцитов. Кроме того, необходимо учитывать, что чрезмерное подавление адгезии тромбоцитов может вызвать развитие геморрагических осложнений. Поэтому весьма актуальной задачей является разработка стентов и других имплантатов с покрытием, препятствующим адгезии тромбоцитов. При этом возможны различные подходы. Так, в работах с имплантатами на основе органических полимеров показано, что наличие у них отрицательно заряженного поверхностного слоя предотвращает массовую адгезию тромбоцитов благодаря электростатическому отталкиванию. Для создания поверхностного заряда в составе биоорганических имплантатов используют полиэтиленгликоль, перфтордекалин, гексаноил, сульфатированные полисахариды [50—52]. Эти компоненты рекомендуют использовать в комбинации с олигомерами декстрана, которые имитируют гликоликс неповрежденных клеток, что создает дополнительное препятствие к адгезии тромбоцитов на биополимерах [15, 51]. Напротив, в имплантатах с неорганической структурой (на основе карбона или металлов) рекомендуется максимально повысить уровень гладкости покрытия, поскольку наличие микрорельефа является аттрактивным фактором для тромбоцитов и запуска их адгезии [53—55]. Следовательно, проявление адгезивной активности тромбоцитов на поверхности имплантатов сильно зависит от структурных характеристик данного изделия.

Использование адгезивных свойств тромбоцитов в разработке биотрансплантатов

Способность тромбоцитов к адгезии на различных биополимерах может быть использована при разработке трансплантатов, насыщенных факторами роста. На сегодняшний день описано применение в качестве ранозаживляющего средства богатой тромбоцитами плазмы и тромбоцитарного лизата (материал из разрушенных тромбоцитов) [56, 57], однако не всегда такой подход приводит к явному клиническому эффекту. Использование компонентов тромбоцитов, не закрепленных на субстрате, связано с риском потери, вымывания или разрушения выделенных тромбоцитами ростостимулирующих факторов и других биологически активных веществ. Поэтому выгоднее использовать компоненты тромбоцитов, закрепленные на носителе или в составе твердой фракции.

Справедливо предположить, что для насыщения тромбоцитами пригодны матриксы на основе коллагена человека. Наши исследования показывают, что биологически полноценные тромбоциты (клетки с гранулами) активно адгезируют на коллагеновых пленках и повязках, дермальном матриксе (полученном путем удаления из кожи человека клеточных компонентов), коллагеновом геле, в меньшей степени — на трансплантатах на основе перикарда и практически не адгезируют на поверхности твердой мозговой оболочки и губчатой деминерализованной кости. Среди биополимерных конструкций, полученных искусственным путем, высокую адгезивную активность тромбоцитов стимулируют пленки на основе гиалуроновой кислоты и хитозана [58]. Напротив, соединения альгината, широко используемые в биологии, не вызывают адгезии тромбоцитов; нами установлено, что оседание тромбоцитов наблюда-

ется лишь при наличии в составе альгинатных трансплантатов ионов Ca^{2+} , вызывающего формирование тромбофибринового сгустка. В отсутствие Ca^{2+} , а также в бесплазменной среде адгезивная активность тромбоцитов на поверхности альгинатных изделий полностью отсутствует, т.е. альгинатные трансплантаты нельзя обогатить компонентами тромбоцитов путем адгезии самих клеток. Среди неорганических материалов стоит особо выделить изделия из биоактивного стекла, которые в настоящее время рассматривают как один из аналогов костного матрикса в остеопластике [59]; такие трансплантаты имеют вид трехмерных пористых структур, на которых активно адгезируют тромбоциты. При этом независимо от типа адгезивного субстрата необходимо помнить, что адгезия тромбоцитов запускает процесс внутренней активации, который в конечном счете приводит к дегрануляции клеток. Следовательно, тактика дальнейшей обработки трансплантата с тромбоцитами может быть различной. Если насыщение тромбоцитами используется для стимуляции пролиферации культивируемых клеток в составе трансплантата, то подавления дегрануляции тромбоцитов не требуется; если же трансплантат предназначен для непосредственного использования в клинической практике, тогда обоснованным будет затормозить процесс выброса гранул тромбоцитов с целью более долгого сохранения их биологически активных веществ в составе трансплантата. Насыщение тромбоцитами коллагеновых и других матриксов может существенно повысить репаративный эффект этих изделий, значительно ускорить процесс ранозаживления. Кроме того, адгезивная активность тромбоцитов на органических полимерах может быть полезной при разработке новых биоинженерных конструкций вплоть до создания искусственных полноценных тканей и органов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Быков В.Л. *Частная гистология человека*. СПб.: Сотис; 1999.
2. Мазуров А.В. *Физиология и патология тромбоцитов*. М.: Литтерра; 2011.
3. Васильев С.А., Виноградов В.Л., Карабудагова З.К. Структура и функции тромбоцитов. *Гематология и трансфузиология*. 2010; 55 (5): 4—9.
4. Blair P., Flaumenhaft R. Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Rev.* 2009; 23 (4): 177—89.
5. Yardumian D.A., Mackie I.J., Machin S.J. Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. *J. Clin. Pathol.* 1986; 39: 701—12.
6. Lee D., Fong K.P., King M.R., Brass L.F., Hammer D.A. Differential dynamics of platelet contact and spreading. *Biophys. J.* 2012; 102 (3): 472—82.
7. Limozin L., Sengupta K. Quantitative reflection interference contrast microscopy (RICM) in soft matter and cell adhesion. *Chemphyschem.* 2009; 10(16): 2752—68.
8. Stevens J.M. Platelet adhesion assays performed under static conditions. *Methods Mol. Biol.* 2004; 272: 145—51.
9. Василенко И.А., Кардашова Д.З., Тычинский В.П., Вишневская Т.В., Лифенко Р.А., Валов А.Л. и др. Клеточная диагностика: возможности витальной компьютерной микроскопии. *Вестник последипломного медицинского образования*. 2009; 3-4: 64—8.
10. Tamada Y., Kulik E.A., Ikada Y. Simple method for platelet counting. *Biomaterials.* 1995; 16 (3): 259—61.
11. Колосова Е.И., Василенко И.А., Ковалева Л.Г. Оценка морфофункционального состояния тромбоцитов у больных идиопатической тромбоцитопенической пурпурой методом витальной компьютерной морфометрии. *Бюллетень Сибирского отделения РАМН*. 2011; 31(2): 58—63.
12. Донников М.Ю., Орлов С.А., Зиновьева А.В., Кутефа Е.И. Качественная оценка морфофункциональной активности тромбоцитов по данным атомно-силовой микроскопии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009; 8: 30—2.
13. Haugland R.P. *Handbook of fluorescent probes and research chemicals*. 6ed. N.Y.: Molecular Probes; 1996.
14. Льюис С.М., Бэйн Б., Бэйтс И. *Практическая и лабораторная гематология*. Перевод с английского. Румянцев А.Г., ред. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009.

15. Wang S., Gupta A.S., Sagnella S., Barendt P.M., Kottke-Marchant K., Marchant R.E. Biomimetic fluorocarbon surfactant polymers reduce platelet adhesion on PTFE/ePTFE surfaces. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2009; 20 (5–6): 619–35.
16. Verhoeven A.J., Verhaar R., Gouwerok E.G., de Korte D. The mitochondrial membrane potential in human platelets: a sensitive parameter for platelet quality. *Transfusion.* 2005; 45: 82–9.
17. Morales J., Villa K., Gattis J., Castro W., Colon K., Lubkowski J. et al. Soluble TLT-1 modulates platelet-endothelial cell interactions and actin polymerization. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2010; 21 (3): 229–36.
18. Zidovska A., Sackmann E. On the mechanical stabilization of filopodia. *Biophys. J.* 2011; 100: 1428–37.
19. Макаров М.С., Кобзева Е.Н., Высочин И.В., Боровкова Н.В., Хватов В.Б. Морфофункциональный анализ тромбоцитов человека с помощью витального окрашивания. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2013; 9: 388–91.
20. Lowell C.A., Mayadas T.N. Overview-studying integrins in vivo. *Methods Mol. Biol.* 2012; 757: 369–97.
21. Podolnikova N.P., Yakovlev S., Yakubenko V.P., Wang X., Gorkun O.V., Ugarova T.P. The interaction of integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ with fibrin occurs through multiple binding sites in the αIIb β -propeller domain. *J. Biol. Chem.* 2014; 289 (4): 2371–83.
22. Savage B., Almus-Jacobs F., Ruggeri Z.M. Specific synergy of multiple substrate-receptor interactions in platelet thrombus formation under flow. *Cell.* 1998; 94: 657–66.
23. Bergmeier W., Piffath C.L., Goerge T., Cifuni S.M., Ruggeri Z.M., Ware J. et al. The role of platelet adhesion receptor GPIIb/IIIa far exceeds that of its main ligand, von Willebrand factor, in arterial thrombosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006; 103: 16900–5.
24. Cranmer S.L., Ashworth K.J., Yao Y., Berndt M.C., Ruggeri Z.M., Andrews R.K. et al. High shear-dependent loss of membrane integrity and defective platelet adhesion following disruption of the GPIIb/IIIa-fibrinogen interaction. *Blood.* 2011; 117: 2718–27.
25. Васильев С.А., Мазуров А.В. Классификация и основы диагностики и терапии наследственных тромбоцитопатий. *Проблемы гематологии.* 1997; 3: 29–38.
26. Shapiro A.D. *Platelet Function Disorders. Treatment of Hemophilia Monograph Series Number 19.* Indianapolis, United States: World Federation of Hemophilia; 1999.
27. Cox K., Price V., Kahr W.H. Inherited platelet disorders: a clinical approach to diagnosis and management. *Expert Rev. Hematol.* 2011; 4 (4): 455–72.
28. Хватов В.Б., Макаров М.С., Боровкова Н.В. Морфологическая оценка адгезивной активности тромбоцитов с помощью витального окрашивания. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2013; 7: 58–61.
29. Despotis G.J., Avidan M.S., Hogue C.W.Jr. Mechanisms and attenuation of haemostatic activation during extracorporeal circulation. *Ann. Thorac. Surg.* 2001; 72 (5): 1821–31.
30. Киричук В.Ф., Волин М.В., Креницкий А.П., Майбородин А.В., Тупикин В.Д. Информационное КВЧ-взаимодействие в системе живых объектов (тромбоцитов человека). *Цитология.* 2001; 12: 1115–22.
31. Schoorl M., Schoorl M., Nubé M.J. Platelet depletion, platelet activation and coagulation during treatment with hemodialysis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2011; 71 (3): 240–7.
32. Tablin F., Wolkers W.F., Walker N.J. Membrane reorganization during chilling: implications for long-term stabilization of platelets. *Cryobiology.* 2001; 43: 114–23.
33. Egidi M.G., D'Alessandro A., Mandarello G., Zolla L. Troubleshooting in platelet storage temperature and new perspectives through proteomics. *Blood Transfus.* 2010; 8(Suppl.3): s73–81.
34. Макаров М.С., Кобзева Е.Н., Высочин И.В., Боровкова Н.В., Хватов В.Б. Применение витального окрашивания для морфофункционального анализа тромбоцитов человека короткого хранения. *Альманах клинической медицины.* 2014; 30: 83–7.
35. Sanobbio I., Catricalà S., Di Pasqua L.G., Guidetti G., Consonni A., Manganaro D. et al. Immobilized amyloid $\text{A}\beta$ peptides support platelet adhesion and activation. *FEBS Lett.* 2013; 587 (16): 2606–11.
36. Tschöpe D., Esser J., Schwippert B., Rosen P., Kehrel B., Niewuenhuis H. et al. Large platelets circulate in an activated state in diabetes mellitus. *Semin. Thromb. Hemost.* 1991; 17: 433–9.
37. Макаров М.С., Боровкова Н.В., Хватов В.Б., Ларин А.Г. Адгезивная активность тромбоцитов в разных отделах сосудистого русла пациентов с тромбозами бедренных артерий. *Вестник гематологии.* 2013; 9 (4): 58–9.
38. Menter D.G., Tucker S.C., Kopetz S., Sood A.K., Crissman J.D., Honn K.V. Platelets and cancer: a casual or causal relationship: revisited. *Cancer Metastasis Rev.* 2014; 33 (1): 231–69.
39. Egan K., Crowley D., Smyth P., O'Toole S., Spillane C., Martin C. et al. Platelet adhesion and degranulation induce pro-survival and pro-angiogenic signalling in ovarian cancer cells. *PLoS One.* 2011; 6 (10): e26125.
40. Suggs L.J., West J.L., Mikos A.G. Platelet adhesion on a bioresorbable poly(propylene fumarate-co-ethylene glycol) copolymer. *Biomaterials.* 1999; 20 (7): 683–90.
41. van Gils J.M., Zwaginga J.J., Hordijk P.L. Molecular and functional interactions among monocytes, platelets and endothelial cells and their relevance for cardiovascular diseases. *J. Leukoc. Biol.* 2009; 85: 195–204.
42. Tsai W.B., Grunkemeier J.M., Horbett T.A. Variations in the ability of adsorbed fibrinogen to mediate platelet adhesion to polystyrene-based materials: a multivariate statistical analysis of antibody binding to the platelet binding sites of fibrinogen. *J. Biomed. Mater. Res. A.* 2003; 67 (4): 1255–68.
43. Gemmell C.H., Davies J.E. Platelet interactions with titanium: modulation of platelet activity by surface topography. *Biomaterials.* 2001; 22 (19): 2671–82.
44. Clemetson K.J., Clemetson J.M. Platelet GPIb complex as a target for anti-thrombotic drug development. *Thromb. Haemost.* 2008; 99: 473–9.
45. Hsiao G., Lee J.J., Lin K.H., Shen C.H., Fong T.H., Chou D.S. et al. Characterization of a novel and potent collagen antagonist, caffeic acid phenethyl ester, in human platelets: in vitro and in vivo studies. *Cardiovasc. Res.* 2007; 75 (4): 782–92.
46. Navarese E.P., Buffon A., Kozinski M., Obonska K., Rychter M., Kunadian V. et al. A critical overview on ticagrelor in acute coronary syndromes. *QJM.* 2013; 106 (2): 105–15.
47. Snoep J.D., Hovens M.M., Eikenboom J.C., van der Bom J.G., Jukema J.W., Huisman M.V. Clopidogrel nonresponsiveness in patient undergoing percutaneous intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis. *Am. Heart J.* 2007; 154 (2): 221–31.
48. Сулимов В.А., Мороз Е.В. Резистентность к антиагрегационным препаратам (аспирину, клопидогрелу) у пациентов, подвергающихся селективному стентированию коронарных артерий. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* 2012; 8 (1): 23–30.
49. Макаров М.С., Боровкова Н.В., Хватов В.Б., Ларин А.Г., Коков Л.С. Способ оценки чувствительности тромбоцитов к тикагрелору in vitro. *Медицинский Алфавит. Современная лаборатория.* 2013; 2: 34–7.
50. Gupta A.S., Wang S., Link E., Anderson E.H., Hofmann C., Lewandowski J. et al. Glycocalyx-mimetic dextran-modified poly(vinyl amine) surfactant coating reduces platelet adhesion on medical-grade polycarbonate surface. *Biomaterials.* 2006; 27 (16): 3084–95.
51. Yoshimoto Y., Hasebe T., Takahashi K., Amari M., Nagashima S., Kamijo A. et al. Ultrastructural characterization of surface-induced platelet activation on artificial materials by transmission electron microscopy. *Microsc. Res. Tech.* 2013; 76 (4): 342–9.
52. Finley M.J., Rauova L., Alferiev I.S., Weisel J.W., Levy R.J., Stachelek S.J. Diminished adhesion and activation of platelets and neutrophils with CD47 functionalized blood contacting surfaces. *Biomaterials.* 2012; 33 (24): 5803–11.
53. Eriksson C., Nygren H. The initial reactions of graphite and gold with blood. *J. Biomed. Mater. Res.* 1997; 37: 130–6.
54. Goodman S.L., Tweden K.S., Albrecht R.M. Platelet interaction with pyrolytic carbon heart-valve leaflets. *Biomed. Mater. Res.* 1996; 32 (2): 249–58.
55. Kikuchi L., Park J.Y., Victor C., Davies J.E. Platelet interactions with calcium-phosphate-coated surfaces. *Biomaterials.* 2005; 26 (26): 5285–95.
56. Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radial. Endod.* 1998; 85 (6): 638–46.
57. Оболенский В.Н., Ермолова Д.А. Применение тромбоцитарных факторов роста и коллагеновых биопрепаратов в лечении больных с хроническими трофическими язвами различной этиологии. *Хирургия.* 2012; 42 (5): 42–7.
58. Дрозд Н.Н., Макаров В.А., Варламов В.П., Толстенков А.С., Лапикова Е.С., Ильина А.В. и др. Антикоагулянтная активность ионных комплексов полисахаридов, содержащих хитозан, сукцинилхитозан и сульфатированный галактоманнан. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2008; 5: 52–6.
59. Dutra C.E. A., Pereira M.M., Serakides R., Rezende C. M. F. In vivo evaluation of bioactive glass foams associated with platelet-rich plasma in bone defects. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2008; 2 (4): 221–7.

REFERENCES

- Bykov V.L. *Private Histology Rights [Chastnaya gistologiya cheloveka]*. St. Petersburg: Sotis; 1999. (in Russian)
- Mazurov A.V. *Physiology and Pathology of Platelets [Fiziologiya i patologiya trombocitov]*. Moscow: Litterra; 2011. (in Russian)

3. Vasil'ev S.A., Vinogradov V.L., Karabudagova Z.K. Structure and function of platelet. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2010; 55(5): 4—9. (in Russian)
4. Blair P., Flaumenhaft R. Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Rev.* 2009; 23 (4): 177—89.
5. Yardumian D.A., Mackie I.J., Machin S.J. Laboratory investigation of platelet function: a review of methodology. *J. Clin. Pathol.* 1986; 39: 701—12.
6. Lee D., Fong K.P., King M.R., Brass L.F., Hammer D.A. Differential dynamics of platelet contact and spreading. *Biophys. J.* 2012; 102 (3): 472—82.
7. Limozin L., Sengupta K. Quantitative reflection interference contrast microscopy (RICM) in soft matter and cell adhesion. *Chemphyschem.* 2009; 10(16): 2752—68.
8. Stevens J.M. Platelet adhesion assays performed under static conditions. *Methods Mol. Biol.* 2004; 272: 145—51.
9. Vasilenko I.A., Kardashova D.Z., Tychinskiy V.P., Vishenskaya T.V., Lifenko R.A., Valov A.L. et al. Cell diagnostic: possibilities of vital computer microscopy. *Vestnik posle diplomnogo meditsinskogo obrazovaniya*. 2009; 3—4: 64—8. (in Russian)
10. Tamada Y., Kulik E.A., Ikada Y. Simple method for platelet counting. *Biomaterials*. 1995; 16 (3): 259—61.
11. Kolosova E.I., Vasilenko I.A., Kovaleva L.G. Assessment of a morphofunctional condition of platelets from idiopathic thrombocytopenic purpura patients using method of a vital computer morphometry. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya RAMN*. 2011; 31(2): 58—63. (in Russian)
12. Donnikov M.Yu., Orlov S.A., Zinov'eva A.V., Kutefa E.I. Qualitative value of morpho-functional platelet activity with atom-force microscopy. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2009; 8: 30—2. (in Russian)
13. Haugland R.P. *Handbook of fluorescent probes and research chemicals*. 6ed. N.Y.: Molecular Probes; 1996.
14. L'yuis S.M., Beyn B., Beyts I. *Practical Haematology [Prakticheskaya i laboratornaya gematologiya]*. Transl. from Engl. Rumyantsev A.G., ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. (in Russian)
15. Wang S., Gupta A.S., Sagnella S., Barendt P.M., Kottke-Marchant K., Marchant R.E. Biomimetic fluorocarbon surfactant polymers reduce platelet adhesion on PTFE/ePTFE surfaces. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2009; 20 (5—6): 619—35.
16. Verhoeven A.J., Verhaar R., Gouwerok E.G., de Korte D. The mitochondrial membrane potential in human platelets: a sensitive parameter for platelet quality. *Transfusion*. 2005; 45: 82—9.
17. Morales J., Villa K., Gattis J., Castro W., Colon K., Lubkowski J. et al. Soluble TLT-1 modulates platelet-endothelial cell interactions and actin polymerization. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 2010; 21 (3): 229—36.
18. Zidovska A., Sackmann E. On the mechanical stabilization of filopodia. *Biophys. J.* 2011; 100: 1428—37.
19. Makarov M.S., Kobzeva E.N., Vysochin I.V., Borovkova N.V., Khvatov V.B. Morphofunctional human platelet analysis with vital staining. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2013; 9: 388—91. (in Russian)
20. Lowell C.A., Mayadas T.N. Overview—studying integrins in vivo. *Methods Mol. Biol.* 2012; 757: 369—97.
21. Podolnikova N.P., Yakovlev S., Yakubenko V.P., Wang X., Gorkun O.V., Ugarova T.P. The interaction of integrin α IIb β 3 with fibrin occurs through multiple binding sites in the α IIb β -propeller domain. *J. Biol. Chem.* 2014; 289 (4): 2371—83.
22. Savage B., Almus-Jacobs F., Ruggeri Z.M. Specific synergy of multiple substrate-receptor interactions in platelet thrombus formation under flow. *Cell*. 1998; 94: 657—66.
23. Bergmeier W., Piffath C.L., Goerge T., Cifuni S.M., Ruggeri Z.M., Ware J. et al. The role of platelet adhesion receptor GPIIb/IIIa far exceeds that of its main ligand, von Willebrand factor, in arterial thrombosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006; 103: 16900—5.
24. Cranmer S.L., Ashworth K.J., Yao Y., Berndt M.C., Ruggeri Z.M., Andrews R.K. et al. High shear-dependent loss of membrane integrity and defective platelet adhesion following disruption of the GPIIb/IIIa-fibrinogen interaction. *Blood*. 2011; 117: 2718—27.
25. Vasil'ev S.A., Mazurov A.V. Classification and fundamental diagnostic and therapy of inherited platelet deficiencies. *Problemy Gematologii*. 1997; 3: 29—38. (in Russian)
26. Shapiro A.D. *Platelet Function Disorders. Treatment of Hemophilia Monograph Series Number 19*. Indianapolis, United States: World Federation of Hemophilia; 1999.
27. Cox K., Price V., Kahr W.H. Inherited platelet disorders: a clinical approach to diagnosis and management. *Expert Rev. Hematol.* 2011; 4 (4): 455—72.
28. Khvatov V.B., Makarov M.S., Borovkova N.V. Morphological analysis of platelet adhesive activity with vital staining. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 7: 58—61. (in Russian)
29. Despotis G.J., Avidan M.S., Hogue C.W.Jr. Mechanisms and attenuation of haemostatic activation during extracorporeal circulation. *Ann. Thorac. Surg.* 2001; 72 (5): 1821—31.
30. Kirichuk V.F., Volin M.V., Krenitskiy A.P., Mayborodin A.V., Tupikin V.D. Informative HF-interaction in living objects system (human platelets). *Tsitologiya*. 2001; 12: 1115—22. (in Russian)
31. Schoorl M., Schoorl M., Nubé M.J. Platelet depletion, platelet activation and coagulation during treatment with hemodialysis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2011; 71 (3): 240—7.
32. Tablin F., Wolkers W.F., Walker N.J. Membrane reorganization during chilling: implications for long-term stabilization of platelets. *Cryobiology*. 2001; 43: 114—23.
33. Egidi M.G., D'Alessandro A., Mandarello G., Zolla L. Troubleshooting in platelet storage temperature and new perspectives through proteomics. *Blood Transfus.* 2010; 8(Suppl.3): s73—81.
34. Makarov M.S., Kobzeva E.N., Vysochin I.V., Borovkova N.V., Khvatov V.B. Use of vital staining due to morphofunctional analysis of short-term stored human platelets. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2014; 30: 83—7. (in Russian)
35. Canobbio I., Catricalà S., Di Pasqua L.G., Guidetti G., Consonni A., Manganaro D. et al. Immobilized amyloid A β peptides support platelet adhesion and activation. *FEBS Lett.* 2013; 587 (16): 2606—11.
36. Tschoepe D., Esser J., Schwippert B., Rosen P., Kehrel B., Niewuenhuis H. et al. Large platelets circulate in an activated state in diabetes mellitus. *Semin. Thromb. Hemost.* 1991; 17: 433—9.
37. Makarov M.S., Borovkova N.V., Khvatov V.B., Larin A.G. Platelet adhesive activity in different departments of the vascular bed in patients with femoral artery thrombosis. *Vestnik Gematologii*. 2013; 9 (4): 58—9. (in Russian)
38. Menter D.G., Tucker S.C., Kopetz S., Sood A.K., Crissman J.D., Honn K.V. Platelets and cancer: a casual or causal relationship: revisited. *Cancer Metastasis Rev.* 2014; 33 (1): 231—69.
39. Egan K., Crowley D., Smyth P., O'Toole S., Spillane C., Martin C. et al. Platelet adhesion and degranulation induce pro-survival and pro-angiogenic signalling in ovarian cancer cells. *PLoS One*. 2011; 6 (10): e26125.
40. Suggs L.J., West J.L., Mikos A.G. Platelet adhesion on a bioresorbable poly(propylene fumarate-co-ethylene glycol) copolymer. *Biomaterials*. 1999; 20 (7): 683—90.
41. van Gils J.M., Zwaginga J.J., Hordijk P.L. Molecular and functional interactions among monocytes, platelets and endothelial cells and their relevance for cardiovascular diseases. *J. Leukoc. Biol.* 2009; 85: 195—204.
42. Tsai W.B., Grunkemeier J.M., Horbett T.A. Variations in the ability of adsorbed fibrinogen to mediate platelet adhesion to polystyrene-based materials: a multivariate statistical analysis of antibody binding to the platelet binding sites of fibrinogen. *J. Biomed. Mater. Res. A*. 2003; 67 (4): 1255—68.
43. Gemmell C.H., Davies J.E. Platelet interactions with titanium: modulation of platelet activity by surface topography. *Biomaterials*. 2001; 22 (19): 2671—82.
44. Clemetson K.J., Clemetson J.M. Platelet GPIb complex as a target for anti-thrombotic drug development. *Thromb. Haemost.* 2008; 99: 473—9.
45. Hsiao G., Lee J.J., Lin K.H., Shen C.H., Fong T.H., Chou D.S. et al. Characterization of a novel and potent collagen antagonist, caffeic acid phenethyl ester, in human platelets: in vitro and in vivo studies. *Cardiovasc. Res.* 2007; 75 (4): 782—92.
46. Navarese E.P., Buffon A., Kozinski M., Obonska K., Rychter M., Kunadian V. et al. A critical overview on ticagrelor in acute coronary syndromes. *QJM*. 2013; 106 (2): 105—15.
47. Snoep J.D., Hovens M.M., Eikenboom J.C., van der Bom J.G., Jukema J.W., Huisman M.V. Clopidogrel nonresponsiveness in patient undergoing percutaneous intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis. *Am. Heart J.* 2007; 154 (2): 221—31.
48. Sulimov V.A., Moroz E.V. Antiplatelet drug (aspirin, clopidogrel) nonresponsiveness of patients with elective coronary artery stenting. *Rationalnaya Farmacoterapiya v Cardiologii*. 2012; 8 (1): 23—30. (in Russian)
49. Makarov M.S., Borovkova N.V., Khvatov V.B., Larin A.G., Kokov L.S. Assessment of platelets sensitivity to ticagrelor in vitro. *Meditsinskiy Al'favit. Sovremennaya laboratoriya*. 2013; 2: 34—7. (in Russian)
50. Gupta A.S., Wang S., Link E., Anderson E.H., Hofmann C., Lewandowski J. et al. Glycocalyx-mimetic dextran-modified poly(vinyl amine) surfactant coating reduces platelet adhesion on medical-grade polycarbonate surface. *Biomaterials*. 2006; 27 (16): 3084—95.
51. Yoshimoto Y., Hasebe T., Takahashi K., Amari M., Nagashima S., Kamijo A. et al. Ultrastructural characterization of surface-induced platelet activation on artificial materials by transmission electron microscopy. *Microsc. Res. Tech.* 2013; 76 (4): 342—9.

52. Finley M.J., Rauova L., Alferiev I.S., Weisel J.W., Levy R.J., Stachel S.J. Diminished adhesion and activation of platelets and neutrophils with CD47 functionalized blood contacting surfaces. *Biomaterials*. 2012; 33 (24): 5803—11.
53. Eriksson C., Nygren H. The initial reactions of graphite and gold with blood. *J. Biomed. Mater. Res.* 1997; 37: 130—6.
54. Goodman S.L., Tweden K.S., Albrecht R.M. Platelet interaction with pyrolytic carbon heart-valve leaflets. *J. Biomed. Mater. Res.* 1996; 32 (2): 249—58.
55. Kikuchi L., Park J.Y., Victor C., Davies J.E. Platelet interactions with calcium-phosphate-coated surfaces. *Biomaterials*. 2005; 26 (26): 5285—95.
56. Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 1998; 85 (6): 638—46.
57. Obolenskiy V.N., Ermolova D.A. Application of platelet growth factor and collagen biological products in the treatment of patients with chronic trophic ulcers of various etiology. *Hirurgiya*. 2012; 42(5): 42—7. (in Russian)
58. Drozd N.N., Makarov V.A., Varlamov V.P., Tolstenkov A.S., Lapikova E.S., Il'ina A.V. et al. Anticoagulative activity of polysugar complexes with chitozan, sukcinylchitozan and sukcinylated galactomannan. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2008; 5: 52—6. (in Russian)
59. Dutra C.E. A., Pereira M.M., Serakides R., Rezende C. M. F. *In vivo* evaluation of bioactive glass foams associated with platelet-rich plasma in bone defects. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2008; 2 (4): 221—7.

Поступила 22.01.15

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015
УДК 616.438-007.61-078.33-053.2

Донецкова А.Д.¹, Ваганов П.Д.², Никонова М.Ф.¹, Яновская Э.Ю.², Манджиева Э.Т.²,
Родионова Е.М.², Донин И.М.³, Пушкарев М.А.², Ярилин А.А.¹

ИССЛЕДОВАНИЕ ТИМОПОЭЗА У ДЕТЕЙ С ТИМОМЕГАЛИЕЙ С ПОМОЩЬЮ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИМУСНЫХ ЭКСЦИЗИОННЫХ КОЛЕЦ

¹ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, 115478, Москва, Россия; ²ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, Россия; ³ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ», 119049, Москва, Россия

Для корреспонденции: Донецкова Альмира Дмитриевна, доктор мед.наук, старший научный сотрудник лаборатории дифференцировки лимфоцитов. E-mail: almira_donetskova@yahoo.com

♦ В статье показано, что у детей с тимомегалией ослаблен процесс Т-лимфопоэза в тимусе. Функциональное состояние тимуса оценивалось путем определения Т-рецепторных эксцизионных колец (ТРЭК) методом ПЦР в реальном времени. ТРЭК представляют собой кольцевые молекулярные структуры, образующиеся в процессе перестройки V-генов Т-клеточного рецептора. Наиболее интенсивное статистически значимое снижение содержания ТРЭК в лимфоцитах крови определяется в первые 2 года жизни: 29,6 (18,1—41,0) копии на 1000 лимфоцитов против 73,3 (54,0—83,8) копий в контроле. В дальнейшем (после 2 лет) разница в уровне ТРЭК у детей с тимомегалией в сравнении с детьми без увеличения тимуса менее выражена: в возрасте до 10 лет она составляет 1,8 раза. Тимомегалия у лиц старшего возраста — довольно редкая патология; обследуя единственного пациента 40 лет с тимомегалией, выявили практически полное отсутствие в клетках его крови ТРЭК.

Ключевые слова: тимопоэз; Т-рецепторные эксцизионные кольца; тимомегалия; дети.

Для цитирования: Российский медицинский журнал. 2015; 21 (5): 40—43.

Donetskova A.D.¹, Vaganov P.D.², Nikonova M.F.¹, Yanovskaya E.Yu.², Mandzhieva E.T.²,
Rodionova E.M.², Donin I.M.³, Pushkarev M.A.², Yarin A.A.¹

THE STUDY OF THYMOPOESIS IN CHILDREN WITH THYMOGEGALIA USING IDENTIFICATION OF THYMUS EXCISIONAL RINGS

¹The state research center institute of immunology of the Federal medical biological agency of Russia, 115478 Moscow, Russia; ²The N.I. Pirogov Russian national research medical university Minzdrav of Russia, 117997 Moscow, Russia; ³The Morosovskaia children municipal clinical hospital of the Moscow health department, 119049 Moscow, Russia

♦ The article demonstrates that in children with thymomegalia the process of T-lymphopoiesis in thymus is depressed. The functional condition of thymus was evaluated by detection of T-receptor excisional rings using polymerase chain reaction technique in real time. The T-receptor excisional rings are circular molecular structures developing in the process of rearrangement of V-genes of T-cell receptor. The most intensive and statistically reliable decreasing of content of T-receptor excisional rings in lymphocytes of blood is detected during first two years of life: 29.6 (18.1—41.0) copies per 1000 lymphocytes against 73.3 (54.0—83.8) copies in control. Hereinafter, (after two years) difference in level of T-receptor excisional rings in children with thymomegalia in comparison with children without enlargement of thymus is less expressed i.e. it amounts to 1.8 times at the age before 10 years. In individuals of older age thymomegalia is a rather rare pathology. The examination of single patient aged of 40 years and with thymomegalia factually total absence of T-receptor excisional rings in cells of his blood was established.

Keywords: thymopoiesis; T-receptor excisional rings; thymomegalia; children.

Citation: Rossiiskii meditsinskii zhurnal. 2015; 21 (5): 40—43. (In Russ.)

For correspondence: Almira Donetskova, MD, PhD, DSc. E-mail: almira_donetskova@yahoo.com

Received 16.04.15

У детей (особенно в возрасте до 3—5 лет) нередко наблюдается увеличение размеров вилочковой железы (тимуса). В отечественной литературе подобное состояние определяется как тимомегалия. Некоторые исследователи рассматривают увеличение размеров тимуса у детей как возможный вариант нормы. Однако в большей части работ у детей с тимомегалией, кроме отягощенного анамнеза, выявлены различные иммунологические и

гормональные нарушения [1—4]. Значительная распространенность увеличения вилочковой железы у детей вызывает повышенный интерес к данной проблеме не только педиатров, но и других специалистов.

Тимус является основным органом лимфопоэза у человека. В нем созревают, проходят селекцию и дифференцировку Т-лимфоциты. Т-клетки, недавние мигранты из тимуса, несут так называемые Т-рецепторные