

КОАГУЛОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Халиулин А.В., Гусякова О.А., Козлов А.В., Габрильчак А.И.

ПРОЦЕССЫ МЕТАБОЛИЗМА И МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» ВО Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

Тромбоциты выполняют основополагающие функции в обеспечении гемостаза. Кроме основной функции тромбообразования, кровяные пластинки реализуют ангиотрофическую, иммунную, транспортную функции, участвуют в активации гемостаза в плазме крови, в ретракции кровяного сгустка, фиксируют циркулирующие иммунные комплексы. Авторы представили современные данные о строении, молекулярных перестройках ультраструктур тромбоцитов, которые связаны с функцией открытой канальцевой системы тромбоцитов, плотной тубулярной системы и мембраны клеток. Охарактеризованы основы метаболизма тромбоцитов, и процессы, которые лежат в основе активации кровяных пластинок, связанных с усилением процессов метаболизма углеводов и жирных кислот, а так же описаны некоторые сигнальные системы, которые регулируют процессы индукции агрегации тромбоцитов. Приведены данные о значении липидных компонентов мембран активированных тромбоцитов, которые включают фосфолипиды разных классов, гликолипиды и спирт холестерин. Отражена роль регуляторных процессов нековалентной модификации некоторых белков тромбоцитов жирными кислотами. Основы метаболизма тромбоцитов являются актуальными в настоящее время и требуют комбинированного подхода при их оценке. Таким путем можно решить многие задачи клинической лабораторной диагностики, патобиохимии и фармакологии.

Ключевые слова: тромбоциты; активация; адгезия; агрегация метаболизм; ферменты; сигнальные пути.

Для цитирования: Халиулин А.В., Гусякова О.А., Козлов А.В., Габрильчак А.И. Процессы метаболизма и механизмы регуляции активности тромбоцитов (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (3): 164-169. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-164-169>.

Khaliulin A.V., Gusyakova O.A., Kozlov A.V., Gabrilchak A.I.

METABOLISM PROCESSES AND MECHANISMS OF REGULATION OF PLATELET ACTIVITY (REVIEW OF LITERATURE)

Samara State Medical University, 443099, Samara, Russia

Platelets play fundamental role in ensuring the hemostatic function in blood. In addition to this canonical function, the blood plates play angiostrophic, immunological, transport role, participate in the activation of plasma hemostasis, retraction of a blood clot, and can record circulating immune complexes. The review article presents current data on the structure and conjugation of molecular rearrangements of platelet ultrastructures associated with the functioning of an open canalicular platelet system, a dense tubular system, and a platelet cytoplasmic membrane. The main types of resting platelet metabolism, and the processes underlying the activation of platelets associated with the enhancement of carbohydrate and fatty acid catabolism are characterized, as well as some signaling pathways that regulate processes of induction of platelet aggregation. The data show the value of lipid components of activated platelet membranes, including phospholipids of various classes, glycolipids and cholesterol. The role of regulatory processes associated with the non-covalent modification of certain platelet proteins with fatty acids is reflected. Fundamental questions of platelet metabolism are relevant nowadays and require a combined approach of studying them, which can potentially solve many problems of clinical laboratory diagnostics, pathobiochemistry, and pharmacology. In preparing the review, we used sources from international and russian databases: Scopus, Web of Science, RSCI.

Key words: platelets; activation; adhesion; aggregation; metabolism; enzymes; signaling pathways.

For citation: Khaliulin A.V., Gusyakova O.A., Kozlov A.V., Gabrilchak A.I. Metabolism processes and mechanisms of regulation of platelet activity (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (3): 164-169 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-164-169>

For correspondence: Khaliulin A.V., Senior Lecturer of the chair of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: bio-sam@yandex.ru

Information about authors:

Khaliulin A.V., <http://orcid.org/0000-0003-4689-8904>
Gusyakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>
Kozlov A.V. <https://orcid.org/0000-0001-9384-6854>
Gabrilchak A.I. <https://orcid.org/0000-0003-2474-3127>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 16.03.2019
Accepted 20.03.2019

Тромбоциты – бесцветные форменные элементы крови разной формы, включая округлую, овальную, дисковидную; они исполняют, главным образом, основную роль в защите организма от кровопотери путем обеспечения тромбоцитарного звена гемостаза [1]. Понятие «тромбоцит» ограничено используют в медицинской практике, более широкое применение нашел термин «пластинка», которое наиболее активно используют в англоязычной литературе [2]. При этом термин «тромбоцит» используют для обозначения ядросодержащих клеток, которые участвуют в процессах гемостаза у млекопитающих [3]. С исторической точки зрения, тромбоциты детально описаны, изучены в 1882 г. итальянским гистологом Джулио Биццоцери; впервые же их обнаружил А. Донне в 1842 г.; подсчитал их француз Ж. Гайем [4].

Сегодня известно, что тромбоцит – безъядерная клетка размером 2-4 мкм и средним объемом 7,5 фл. [1, 5, 6]. Формирование тромбоцитов происходит в костном мозге в ходе тромбоцитопоэза в мегакариоцитарном ростке. В среднем из одного мегакариоцита образуются 4000 кровяных пластинок, при этом размер тромбоцита зависит от степени зрелости мегакариоцита, от плоидности клеток мегакариоцитарного ростка. Предложено несколько сценариев образования тромбоцитов: согласно одному из них, тромбоциты отщуриваются, по отдельности или одновременно от материнской клетки, цитоплазму которой разделяют демаркационные мембраны. Согласно другой версии, в тромбоцитопоэзе главенствует тубулярная система мегакариоцитов; в итоге это приводит к отделению тромбоцитов в виде «бус»; возможно и образование псевдоподий, которые через миграционные поры попадают в синусоидные капилляры и тромбоциты выходят в кровеносное русло [1].

Ультраструктура тромбоцита во многом напоминает общеизвестную модель строения эукариотической клетки, однако имеются и ряд особенностей субклеточной организации кровяных пластинок. Как уже отмечено выше, тромбоциты не имеют ядра, возможности синтеза белков в тромбоцитах так же ограничены [7]. Одновременно кровяные пластинки характеризует богатый набор гранул, наличие митохондрий, широко представленная сеть микротрубочек, миофиламентов, канальцев и пузырьков. При световой микроскопии в тромбоцитах можно выявить бесструктурный гиаломер и грануломер, которые формируют жидкую часть цитоплазмы – совокупность органелл тромбоцита. Что касается гранул и их состава, то оценены они давно и выделяют 3 вида гранул: α -гранулы, плотные гранулы и лизосомы. Состав гранул тромбоцитов представлен в таблице [8-12].

Особое значение в тромбоцитах исполняет открытая канальцевая система (ОКС); это система канальцев, посредством которых внутреннее содержимое пластинки может сообщаться с окружающей тромбоцит плазмой. Каналы ОКС характеризует разный калибр трубочек; с вакуолями они соединены более тонкими трубочками [13]. В объемном отношении ОКС занимает около 4% от объема пластинки [14]. С функциональной точки зрения ОКС соединяет тром-

боцит с окружающей плазмой, реализует поглощение компонентов плазмы и перенос их внутрь пластинки: внутри тромбоцитов можно обнаружить вещества, которые добавляют в богатую тромбоцитами плазму [15]. Кроме насыщения тромбоцитов функционально необходимыми веществами, ОКС необходима и для процесса секреции содержимого гранул при активации тромбоцитов. Так мембраны α - и плотных гранул сливаются с ОКС или с цитоплазматической мембраной в ходе секреции, однако данный процесс реализуется и регулируется группой белков семейства SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) и VAMP (vesicle-associated membrane protein) [16–18]. В дополнении к биологической роли ОКС необходимо отметить и роль канальцев как резерва рецепторного аппарата тромбоцитов, связанного с реализацией гемостатической функции тромбоцитов. ОКС может быть и депо, местом хранения рецепторов адгезии, таких как интегрин α IIb β 3, GPIb/XI/V комплекс и GPVI; присутствуют они на поверхности цитоплазматической мембраны и внутри ОКС [15, 19]. Этим регуляторная роль ОКС в гемостатической функции тромбоцитов не исчерпана, это только индуцирующая направленность действия. Однако она может приводить и к подавлению агрегации, например, путем изменения количества рецепторов GPIb/XI/V, связанных с перемещением их во внутриклеточный пул ОКС [15].

Кроме вышесказанного, ОКС тромбоцитов исполняет роль депо субстратов для построения мембран при активации тромбоцитов. Общеизвестен факт, что при активации тромбоциты увеличиваются в размерах, перестают быть сферическими и морфологически претерпевают ряд изменений [20]. Данные морфологические перестройки и обеспечиваются, в основном, поглощением компонентов ОКС при активации пластинки. Так же важной структурой в тромбоците является плотная трубчатая система, которая является аналогом эндоплазматической сети мегакариоцита. С функциональной точки зрения, плотная тубулярная система является резервуаром для ионов Ca , а также задействована в обмене липидов, в синтезе эйкозаноидов – тромбоксанов [19, 22].

Исполнение столь жизненно важных функций требует от кровяных пластинок соответствующего метаболического обеспечения. Все процессы активации, внутриклеточных перестроек, секреции, требуют высоких затрат энергии, пластического и регуляторного материала. Так, основными процессами, которые обеспечивают тромбоциты необходимой энергией, являются анаэробное окисление глюкозы и окислительное фосфорилирование. При этом базальный метаболизм субстратов для наработки энергии осуществим за счет анаэробного гликолиза [23]. Важно, что в тромбоцитах эффект Пастера, связанный с переключением метаболизма пирувата по аэробному пути в аэробных условиях, не является совершенным [24]. Иными словами, образование лактата из пирувата происходит даже в аэробных условиях. На первый взгляд, это может показаться необоснованным, энергетически невыгодным, однако по результатам работ авторов, при стимуляции тромбоцитов агонистами агрегации,

Виды гранул и состав кровяных пластинок

α-гранулы
<p><i>Протеогликаны:</i> бета-TG (тромбоглобулин), PF4 (антигепариновый фактор тромбоцитов, фактор 4 тромбоцитов), серглицин, HRGP (богатый гиститином гликопротеин). <i>Хемокины:</i> RBP (тромбоцитарный основной белок), CTAP-III (пептид активации соединительной ткани), NAP-2 (пептид активации нейтрофилов), RANTES (CCL5) - Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted. <i>Адгезивные молекулы:</i> фибронектин, витронектин, фактор Виллебранда, тромбоспондин. <i>Факторы свертывания и кофакторы</i> – фибриноген, факторы V, VII, XI, XIII, кининогены, протеин S, плазминоген. <i>Клеточные митогены:</i> PDGF (Platelet-derived growth factor, фактор роста тромбоцитов), TGFβ (трансформирующий фактор роста), ECGF (фактор роста эндотелиальных клеток), EGF (фактор роста эпителия), VEGF/ VPF (фактор проницаемости сосудов), IGF (инсулиноподобный фактор роста), интерлейкин-β. <i>Ингибиторы протеиназ:</i> α-2-макроглобулин, α-2-антитрипсин, PDC1 (тромбоцитарный ингибитор коллагеназы), α-2-антиплазмин, PAI1 (ингибитор активатора плазминогена 1), TFPI (ингибитор пути тканевого фактора), α1-PI (α-1-протеиназный ингибитор), PIX1 (тромбоцитарный ингибитор фактора XIa), PN-2/APP Protease nexin-2), C1-inhibitor (ингибитор C1-эстеразы). <i>Разное:</i> иммуноглобулины G, A, M, альбумин, GPIa/Multimerin.</p>
Плотные гранулы
<p><i>Нуклеотиды:</i> адениновые - АТФ, АДФ; гуаниновые - ГТФ, ГДФ. <i>Амины:</i> серотонин, гистамин, катехоламины. <i>Ионы:</i> кальций, магний, пирофосфат.</p>
Лизосомы
<p><i>Кислые протеиназы:</i> катепсины D и A, карбоксипептидазы A и B, пролинкарбоксипептидаза, коллагеназа, кислая фосфатаза, арилсульфатаза. <i>Гликоидролазы:</i> гепариназа, β-N-ацетилглюкозаминидаза, β-N-ацетилгалактозаминидаза, β-глюкуронидаза, β-галактозидаза, β-глицерофосфатаза, α-D-глюкозидаза, β-D-глюкозидаза, α-L-фукозидаза, β-D-фукозидаза, α-L-арабинозидаза, α-D-маннозидаза.</p>

наблюдали как активацию анаэробного окисления глюкозы, так и аэробного пути катаболизма глюкозы [25]. В связи с этим, физиологично необходимо охранять активность гликолитического расщепления глюкозы даже в присутствии кислорода. В этих же работах указано на неоднозначность преимущественного использования определенного метаболического пути обеспечения кровяной пластинки субстратами для наработки энергии; трудно сказать какой путь превалирует в процессе активации тромбоцитов. Не понятным является и то, идентичные ли биохимические изменения в клетках происходят при действии разных агонистов или нет. Показано, что разные агонисты стимулируют реакции образования энергии тромбоцитами по-разному: тромбин активирует ферменты, как гликолиза, так и процессы окислительного фосфорилирования; метаболизм арахидоновой кислоты и коллаген обеспечивает, в основном, окислительное фосфорилирование, но в меньшей степени, чем тромбин; коллаген же индуцирует повышение активности ключевых ферментов гликолиза [26]. Сделано заключение, что при активации тромбином происходит фосфорилирование P13K (phosphoinositide 3-kinase) и PRKB-B/Akt. P13K – фосфоинозитид-3-киназа это ключевой фермент P13K-сигнального пути, который регулирует метаболические процессы в клетках. Иной P13K-сигнальный путь так же ассоциирован с протеинкиназой B (PRKB-B); это следующее звено сигнального пути. Существует несколько изоформ PRKB-B, которые кодируют разные варианты гена Akt [27]. Активация всего каскада реакций метаболизма связана с АДФ-опосредованным влиянием связывания лиганда со специфичными рецепторами P2Y12. Фосфорилирование активно приводит к повышению внутриклеточной концентрации кальция и далее к фосфорилированию протеинов тромбоцитов [26]. При этом коллаген значительно активирует фосфорилирование P13K, в то же время, фосфорилирова-

ния акт при этом не происходит [26]. Таким образом, активация P13K усиливает тромбин-ассоциированные регуляторные процессы в тромбоцитах, обеспечивая секрецию α-гранул, участие в их адгезии и опосредует реализацию функционального процесса «снаружи-внутри» [29].

Другим участником тромбин-опосредованной активации тромбоцитов является киназа гликогенсинтазы-3 (GSK-3) [30]. Согласно последним данным, киназу гликогенсинтазы-3 рассматривают как отрицательный регулятор активации тромбоцитов при действии тромбина. Реализован этот процесс путем фосфорилирования протеинкиназой C и акт; это понижает активность и усиливает тромбин-ассоциированное действие тромбоцитов [31]. Показано, что GSK-3 имеет 2 изоформы α- и β-, при этом β-форма экспрессирована преимущественно в тромбоцитах [32]. Скорость фосфорилирования GSK-3 этими протеинкиназами не одинакова; более активно фосфорилирование усиливает протеинкиназа C, и менее выражено акт [31]. Таким образом, данные о взаимосвязи регуляции углеводного обмена в покоящихся и активированных тромбоцитах могут стать ключевыми с позиций объяснения фундаментальных основ обеспечения энергией главного, тромбоцитарного звена свертывающей системы. Это способствует появлению новых мишеней действия лекарственных средств в условиях повышенной или сниженной агрегационной способности тромбоцитов.

Состав липидов в тромбоцитах характеризует присутствие основных представителей данной группы соединений; среди них доминируют фосфо- и в меньшей мере гликолипиды, холестерин в форме полярного стерола, спирта, и в форме полиненасыщенных жирных кислот, которые этерифицированы спиртом холестерином. С исторической точки зрения в 1960-1980 гг. изучены основные липиды тромбоцитов, в дальнейшем выяснены закономерности из-

менений состава жирных кислот в тромбоцитах при алиментарной нагрузке разными жирами растительного и животного происхождения. Обусловлено это повышенным интересом исследователей к проблеме нарушений тромбоцитарного звена гемостаза на фоне роста числа пациентов с патологией сердечно-сосудистой системы. Далее последовало выяснение метаболизма жирных кислот и липидов, в частности, нарушения метаболизма полиненасыщенных жирных кислот и синтез эйкозаноидов. Завершилось это присуждением в 1982 г. Нобелевской премии Б. Самуэльсону, С. Бергстрёмому и Д. Вейну за работы о роли простагландинов и тромбоксанов в активации, в агрегации тромбоцитов.

Особое значение в метаболизме липидов в тромбоцитах имеет состав липидов в цитоплазматической мембране пластинок; она соответствует постулатам классической жидкостно-мозаичной модели строения мембран эукариотов, тем не менее, имеет имеются и характерные черты. Так, особенностью строения цитолеммы кровяных пластинок является ассиметричное расположение молекул глицеро- и сфингофосфолипидов в наружном и внутренних слоях у тромбоцитов в покое. Для этого состояния характерна преимущественная локализация фосфатидилсерина и фосфатидилинозитола во внутреннем слое плазмолеммы; это регулирует прокоагулянтную активность кровяных пластинок [19, 33]. Во внешнем слое бислойной мембраны расположены, главным образом, молекулы фосфатидилхолинов и сфингомиелинов [33]. Процесс смены ориентации липидов между наружным и внутренним листками цитолеммы поддерживает группа ферментов, именуемых как флоспаза, флиппаза и скремблаза. Флоспаза является продуктом гена АВСС и обеспечивает АТФ-зависимый перенос фосфолипидов, флиппаза – является так же АТФ-зависимой транслоказой, которая перемещает фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин во внутренний слой бислойной цитоплазматической мембраны. Скремблаза обеспечивает неспецифичный перенос фосфолипидов при активации тромбоцитов, в то время как в это время, флоспаза и флиппаза ингибированы; процесс этот является энергонезависимым [34].

Можно с уверенностью сказать, что транслоказы обеспечивают необходимый состав фосфолипидов как на внешней стороне цитолеммы, так и во внутренней ее части, что критично в момент активации тромбоцита и последующей реорганизации фосфолипидных молекул в масштабах плазмалеммы. Получены данные о роли изменения состава фосфолипидного при действии транслоказ и скремблазы в процессах апоптоза, аутофагии, пролиферации и образования внеклеточных везикул тромбоцитов [35]. Регуляция активности этих ферментов связана с двумя аспектами. Флоспаза и флиппаза обеспечивают перенос фосфолипидов против градиента концентрации, в то время как активность скремблазы мало зависит от уровня макроэргических АТФ в клетке. Однако активность скремблазы, как основного звена в молекулярной смене фосфолипидов напрямую зависит от концентрации внутриклеточного Ca^{2+} : увеличение

содержания которого запускает процесс скремблинга фосфолипидов, а снижение – тормозит этот процесс [37].

В 2010 г. J.Suzuki и соавт. [38] выделен новый потенциальный регулятор скремблальной активности тромбоцитов в крови. Речь идет о белке TMEM16F (transmembrane protein 16-family)/аноктамин 6/ANO6; это белок-липидный домен, который является отдельным белком группы протеинов TMEM. Это семейство белков включает около 10 протеинов со множественными функциями в клетках. TMEM16F регулирует не только активность скремблазы тромбоцитов, но и функцию транспортных систем – преодоление мембраны тромбоцитов. В то же время, взаимоотношение этого действия применительно к одному протеому, выяснены не до конца [39]. Хотя авторы заключили, что аноктамин-6, в основном, функционирует как регулятор перемещение фосфолипидов в большей мере, отводя вторичную роль функция ионного транспортера вторична. Исследователи полагают, что процесс перемещения фосфолипидов между слоями бислойной клеточной мембраны связан с образованием водных каналов для полярных головок фосфолипидов; именно это обеспечивает их движение в гидрофобных участках мембраны в процессе транслокации [40]. Молекулярные изменения, которые происходят в тромбоцитах у пациентов с синдромом Скотта, отражают биохимическую основу патологии. При этом недостаточная активности скремблазы тромбоцитов и других клеток *in vivo*, исключает возможность образования локальной структуры из анионов, в основном, из фосфатидилсеринов. Это «плацдарм» для дальнейших ферментативных превращений реакций коагуляции, что клинически проявляется в геморрагическом синдроме [41].

Другой важной составляющей цитоплазматической мембраны является полярная молекула спирта холестерина. Наиболее широко в масштабах плазматической мембраны полярный холестерин представлен в так называемых липидных плотях, рафтах, которые являются выражено гидрофобными микродоменами, локализованные в наружном и внутреннем монослое мембраны и обогащенные полярным холестерином, сфинголипидами и функционально активными протеинами [42]. Липидные плоты в клетках содержат большинство рецепторов, удерживают их в мембране, группируют рецепторы мембраны клеток, а также все регуляторные протеины, которые обеспечивают функцию рецепторов [43]. Специфические функции тромбоцитов так же связаны с активностью протеинов липидных плотей; рафты могут регулировать чувствительность тромбоцитов к ионам кальция [44], а также опосредуют взаимодействие интегрин с активным цитоскелетом пластинок [45].

Роль липидных плотей заключается в регулировании активности серин/треониновых фосфатаз, функции, которых связаны с активацией PAR1-рецепторов посредством тромбина [46]. Высока также чувствительность функциональных протеинов рафтов к агонистам, которая осуществима тоже посредством рецепторов. Действие всех агонистов и агонистов (CD36, GPIb, GPVI, P2Y12, TXA2) обусловлена

функцией липидных плотов; она нарушается при изменении выраженной гидрофобной структуры липидных плотов в процессе изменения содержания холестерина в липидном микродоме при действии, в частности, метил- β -циклодекстрина [46-48]. Структурная организация плотов связана с некоторыми модификациями компонентов плота, например, их ацилированием. Слияние гранул и секреция их содержимого связано с функцией семейств белков SNARE, VAMP и синтаксином, необходимыми для единения мембран рафтов с цитоплазматической мембраной [49]. Показано, что регуляция этих процессов зависит от функции IкВ-киназы (IKK), которая регулирует фосфорилирование SNAP-23 (Synaptosome Associated Proteins) /синтаксин-11 [50]. Однако, не только фосфорилирование может регулировать функциональное состояние мембранных белков, но и их ацилирование - ковалентное присоединение ацильных цепей жирных кислот [51]. В тромбоцитах возможно пальмитоилирование белков, которое происходит ковалентно, обратимо и связано с образованием либо тиоэфирных связей по остаткам цистеина, либо с образованием амидной связи с остатками глицина или цистеина [52]. Так пальмитоилирование трансмембранных белков SNAP-23 и синтаксина происходит по причине нарушения последовательности аминокислотных остатков в расположении участков цепей богатых цистеином – 6 остатков цистеина в терминальном участке синтаксина-11, и 5 остатков цистеина характерно для SNAP-23 [51].

Реализовано ацилирование при действии фермента пальмитоилацилтрансферазы, которая представлена в тромбоцитах тремя изоформами. Многие и иные протеины подвергается ацилированию пальмитиновой кислотой, например, α -субъединица G-белка, гликопротеин Ib, аденилатциклаза и P-селектин [53]. Резюмируя выше сказанное, можно заключить, что пальмитоилирование белков тромбоцитов может играть роль индуктора активации и агрегации тромбоцитов [53]. Однако множество фактов остается не ясными; каково взаимодействие сигнальных путей активации кровяных пластинок друг с другом; места отдельных регуляторных каскадов в общей картине индукции адгезии и агрегации тромбоцитов, а также патофизиологические механизмы становления некоторых тромбоцитопатий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2, 3, 7, 9, 10, 12-19, 22, 23, 25-27, 29-46, 48-53 см. REFERENCES)

1. Луговская С.А., Почтарь М.Е. *Гематологический атлас*. М.-Тверь: Триада; 2016.
4. Леонтьев М.А., Родзаевская Е.Б., Масляков В.В., Мазуров А. В. *Морфология тромбоцитов новорожденных (обзор литературы). Физиология и патология тромбоцитов*. М.: Литтерра; 2011.
5. Козинец Г.И., Сарычева Т.Г., Луговская С.А., Дягилева О.А., Погорелов В.М., Проценко Д.Д. *Гематологический атлас: настольное руководство врача-лаборанта*. М.: Практическая медицина; 2015.
6. Тэмл Х., Харальд Д. *Атлас по гематологии. Практическое по-*

собие по морфологической и клинической диагностике. Харальд Тэмл, Хайнц Диа, Торстен Хаферлах. М.: МЕДпресс-информ; 2014.

8. Баркаган З.С., Момот А.П. *Основы диагностики нарушений гемостаза*. М.: Ньюдиамед-АО; 1999.
11. Сонис А.Г., Сефединова М.Ю., Безрукова М.А., Марченко А.А., Ладонин С.В. Применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в лечении пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, костей и суставов. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2016; 5-6: 162-7.
20. Марковчин А.А. Физиологические особенности тромбоцитов. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; 6: 60-8.
21. Макаров М.С. Неканонические способы активации тромбоцитов человека. *Медицинский алфавит*. 2015; 3-11: 30-5.
24. Федоров Н.А., ред. *Нормальное кроветворение и его регуляция*. М.: Медицина; 1976.
28. Шатурный В.И., Шахиджанов С.С., Свешникова А.Н., Пантелеев М.А. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови. *Биомедицинская химия*. 2014; 60(2): 182-200.
47. Крутецкая З. И., Миленина Л. С., Наумова А. А., Бутов С. Н., Антонов В. Г., Ноздрачев А. Д. Метил- β -циклодекстрин модулирует в макрофагах депозависимый вход Ca^{2+} , индуцируемый тапсигартином. *Доклады академии наук*. 2017; 473 (2): 222–4.

REFERENCES

1. Lugovskaya S.A., Pochtar' M.E. *Hematologic atlas [Gematologicheskij atlas]*. Moscow-Tver': Triada; 2016. (in Russian)
2. Michelson Alan D. *Platelets (3rd ed.)*. Foreword: A Brief History of Ideas. Academic Press; 2013: Pages xix-xliv, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387837-3.00069-9>.
3. Schmaier A.A., Stalker T.J., Runge J.J., Lee D., Nagaswami C., Mericko P. et al. Occlusive thrombi arise in mammals but not birds in response to arterial injury: evolutionary insight into human cardiovascular disease. *Blood*. 2011; Sep 29; 118(13):3661-9.
4. Leont'ev M.A., Rodzaevskaya E.B., Maslyakov V.V., Mazurov A. V. Platelet morphology of newborns (literature review). 2017. *Fiziologiya i patologiya trombocitov*. Moscow: Litterra; 2011. (in Russian)
5. Kozinets G.I., Sarycheva T.G., Lugovskaya S.A., Dyagileva O.A., Pogorelov V.M., Procenko D.D. *Hematologic Atlas: the laboratory's laboratory manual*. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2015. (in Russian)
6. Tehml H., Haral'd D. Hematology Atlas. Practical manual on the morphological and clinical diagnosis. / Haral'd Tehml, Hajnc Dia, Torsten Haferlah. Moscow: MEDpress-inform; 2014. (in Russian)
7. Jesse W. Rowley, Andrew S. Weyrich. Ribosomes in platelets protect the messenger. 2017 Apr 27;129(17):2343-45.
8. Barkagan Z.S., Momot A.P. *Basics of diagnosis of hemostatic disorders [Osnovy diagnostiki narusheniy gemostaza]*. Moscow: N'yudiamed-AO; 1999. (in Russian)
9. Heijnen H., van der Sluijs P. Platelet secretory behaviour: as diverse as the granules ... or not? *J. Thromb. Haemost.* 2015; Dec;13(12):2141-51.
10. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev.* 2009; Jul;23(4): 177-89.
11. Sonis A.G., Sefedinova M.YU., Bezrukova M.A., Marchenko A.A., Ladonin S.V. The use of autoplasm enriched with platelets in the treatment of patients with purulent-inflammatory diseases of soft tissues, bones and joints. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2016; 5-6: 162-7. (in Russian)
12. Rendu F., Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*. 2001; Aug;12(5): 261-73.
13. van Nispen tot Pannerden H., de Haas F., Geerts W., Posthuma G., van Dijk S., Heijnen H.F. The platelet interior revisited: Electron tomography reveals tubular alpha-granule subtypes. *Blood*. 2010; Aug 19;116(7): 1147-56.
14. Mountford J.K., Petitjean C., Putra H.W., McCafferty J.A., Setia-bakti N.M., Lee H., et al. The class II PI 3-kinase, PI3KC2alpha, links platelet internal membrane structure to shear-dependent adhesive function. *Nat. Commun.* 2015; Mar 17;6: 6535.

15. Maria V. Selvadurai & Justin R. Hamilton. Structure and function of the open canalicular system – the platelet’s specialized internal membrane network. *Platelets*. 2018; Jun;29(4): 319-25.
16. Koseoglu S., Peters C.G., Fitch-Tewfik J.L., Aisiku O., Danglot L., Galli T. et al. VAMP-7 links granule exocytosis to actin reorganization during platelet activation. *Blood*. 2015; Jul 30;126(5): 651-60.
17. Peters C.G., Michelson A.D., Flaumenhaft R. Granule exocytosis is required for platelet spreading: differential sorting of α -granules expressing VAMP-7. *Blood*. 2012; Jul 5;120(1): 199-206.
18. Ren Q.L., Barber H.K., Crawford G.L., Karim Z.A., Zhao C., Choi W. et al. Endobrevin/VAMP-8 is the primary v-SNARE for the platelet release reaction. *Mol. Biol. Cell*. 2007; Jan;18(1): 24-33.
19. Paolo Gresele, Gustav V.R. Born, Carlo Patrono, Clive P. Page. *Antiplatelet Agents* Springer; 2010.
20. Markovchin A.A. Physiological features of platelets. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014; 6: 60-8. (in Russian)
21. Makarov M.S. Non-canonical methods for activating human platelets. *Medsitsinskiy alfavit*. 2015; 3 (11): 30-5. (in Russian)
22. Hartwig J.H. The platelet: Form and function. *Semin Hematol*. 2006; 43(1 Suppl 1):S94–100.
23. Kramer P.A., Ravi S., Chacko B., Johnson M.S., Darley-Usmar V.M. A review of the mitochondrial and glycolytic metabolism in humanplatelets and leukocytes: implications for their use as bioenergetics biomarkers. *Redox Biol*. 2014; Jan 10; 2: 206-10.
24. Fedorov N.A., ed. Normal blood formation and its regulation. Moscow: Meditsina; 1976. (in Russian)
25. Ravi S., Chacko B., Sawada H., Kramer P.A., Johnson M.S., Benavides G.A., et al. Metabolic Plasticity in Resting and Thrombin Activated Platelets. *PLoS ONE*. 2015; 10(4): e0123597.
26. Coronade la Peña N., Gutierrez-Aguilar M., Hernandez-Reseñdiz I, Mariñ-Hernandez A, Rodríguez-Enríquez S. Glycoprotein Ib activation by thrombin stimulates the energy metabolism in human platelets. *PLoS One*. 2017; Aug 17; 12(8): e0182374.
27. Guidetti G.F., Canobbio I., Torti M. PI3K/Akt in platelet integrin signaling and implications in thrombosis. *Adv. Biol Regul*. 2015; Sep; 59: 36-52.
28. Shaturnyj V.I., SHahidzhanov S.S., Sveshnikova A.N., Pantelev M.A. Activators, receptors and pathways of intracellular signaling in blood platelets. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2014; 60 (2): 182-200. (in Russian)
29. Estevez B., Du X. New Concepts and Mechanisms of Platelet Activation Signaling. *Physiology (Bethesda)*. 2017; Mar; 32(2): 162-77.
30. Barry F. A., Graham G. J., Fry M. J., Gibbins J. M. Regulation of glycogensynthase kinase3 in human platelets: a possible role in platelet function? *FEBS Lett*. 2003; 553: 173–8.
31. Moore S.F., van den Bosch M.T., Hunter R.W., Sakamoto K., Poole A.W., Hers I. Dual regulation of glycogen synthase kinase 3 (GSK3) α/β by protein kinase C (PKC) α and Akt promotes thrombin-mediated integrin α IIb β 3 activation and granule secretion in platelets. *J. Biol. Chem*. 2013; Feb 8; 288(6): 3918-28.
32. Li D., August S., Woulfe D. S. GSK3 β is a negative regulator of platelet function and thrombosis. *Blood*. 2008; Apr 1; 111(7): 3522-30.
33. O’Donnell V.B., Murphy R.C., Watson S.P. Platelet lipidomics: modern day perspective on lipid discovery and characterization in platelets. *Circ. Res*. 2014; Mar 28; 114(7):1185-203.
34. Nagata S., Suzuki J., Segawa K., Fujii T. Exposure of phosphatidylserine on the cell surface. *Cell Death. Differ*. 2016; Jun; 23(6): 952-61.
35. Segawa K., Nagata S. An Apoptotic ‘EatMe’ Signal: Phosphatidylserine Exposure. *Trends Cell Biol*. 2015; 25(11): 639-50.
36. Boilard E., Ducheze A.C., Brisson A. The diversity of platelet microparticles. *Curr. Opin. Hematol*. 2015; Sep; 22(5): 437-44..
37. Bevers E.M., Williamson P.L. Phospholipid scramblase: an update. *FEBS Lett*. 2010; Jul 2; 584(13): 2724-30.
38. Suzuki J., Umeda M., Sims P.J., Nagata S. Calcium - dependent phospholipid scrambling by TMEM16F. *Nature*. 2010; Dec 9; 468(7325):
39. Scudieri P., Caci E., Venturini A., Sondo E., Pianigiani G., Marchetti C. et al. Ion channel and lipid scramblase activity associated with expression of TMEM16F/ANO6 isoforms. *J. Physiol*. 2015; Sep 1; 593(17): 3829-48.
40. Yu K., Whitlock J.M., Lee K., Ortlund E.A., Cui Y.Y., Hartzell H.C. Identification of a lipid scrambling domain in ANO6/TMEM16F. *Elife*. 2015; Jun 9; 4: e06901.
41. Solari F.A., Mattheij N.J., Burkhart J.M., Swieringa F., Collins P.W., Cosemans J.M. et al. Combined Quantification of the Global Proteome, Phosphoproteome, and Proteolytic Cleavage to Characterize Altered Platelet Functions in the Human Scott Syndrome. *Mol. Cell Proteomics*. 2016; Oct;15(10): 3154-69.
42. Gousset K., Wolkers W.F., Tsvetkova N.M., Oliver A.E., Field C.L., Walker N.J. et al. Evidence for a physiological role for membrane rafts in human platelets. *J. Cell. Physiol*. 2002; Jan; 190(1): 117-28.
43. Ohtsuka H, Iguchi T, Hayashi M, Kaneda M, Iida K, Shimonaka M et al. SDF-1 α /CXCR4 Signaling in Lipid Rafts Induces Platelet Aggregation via PI3 Kinase-Dependent Akt Phosphorylation. *PLoS One*. 2017; Jan 10; 12(1): e0169609.
44. Dionisio N., Galán C., Jardín I., Salido G.M., Rosado J.A. Lipid rafts are essential for the regulation of SOCE by plasma membrane resident STIM1 in human platelets. *Biochim. Biophys. Acta*. 2011; Mar;1813(3): 431-7.
45. Bodin S., Soulet C., Tronchère H., Sié P., Gachet C., Plantavid M. et al. Integrin-dependent interaction of lipid rafts with the actin cytoskeleton in activated human platelets. *J. Cell Sci*. 2005; Feb 15;118(Pt 4):759-69.
46. Pradhan S., Vijayan K.V. Lipid rafts contribute to agonist-induced serine/threonine phosphatase activation and platelet aggregation. *J.Thromb. Haemost*. 2013; Aug;11(8):1612-5.
47. Krutetskaya Z. I., Milenina L. S., Naumova A. A., Butov S. N., Antonov V. G., Nozdrachev A. D. Methyl- β -cyclodextrin modulates in macrophages the deposit-dependent Ca²⁺ input induced by taspigartin. *Doklady akademii nauk*. 2017; 473 (2): 222–4. (in Russian)
48. Moscardó A., Vallés J., Latorre A., Santos M.T. The association of thromboxane A2 receptor with lipid rafts is a determinant for platelet functional responses. *FEBS Lett*. ; Aug 25;588(17): 3154-9.
49. Golebiewska E.M., Harper M.T., Williams C.M., Savage J.S., Goggs R., Fischer von Mollard G et al. Syntaxin 8 regulates platelet dense granule secretion, aggregation, and thrombus stability. *J. Biol. Chem*. 2015; Jan 16; 290(3): 1536-45.
50. Joshi S., Whiteheart S.W. The nuts and bolts of the platelet release reaction. *Platelets*. 2017; Mar; 28(2):129-37.
51. Zhang J., Huang Y., Chen J., Zhu H., Whiteheart S.W. Dynamic cycling of t-SNARE acylation regulates platelet exocytosis. *J. Biol. Chem*. 2018; Mar 9; 293(10): 3593-3606.
52. Nadolski M.J., Linder M.E. Protein lipidation. *FEBS J*. 2007; Oct;274(20): 5202-10.
53. Sim D.S., Dilks J.R., Flaumenhaft R. Platelets possess and require an active protein palmitoylation pathway for agonist-mediated activation and in vivo thrombus formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2007; Jun;27(6): 1478- 85.

Поступила 16.03.19

Принята к печати 20.03.19