

УДК 616-005.6

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-4-11

Т. И. ВЛАСОВА¹, А. С. ЯКУШКИНА¹, Н. Н. ПЕТРИЩЕВ²,
С. Г. ЧЕФУ², Т. Д. ВЛАСОВ²

Механизмы и значение спонтанной агрегации тромбоцитов в патологии

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева», г. Саранск, Россия
430005, Россия, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

E-mail: vlasova-t.i@mrsu.ru

Статья поступила в редакцию 16.06.24 г.; принята к печати 05.08.24 г.

Резюме

Тромбоциты – уникальные форменные элементы крови, которые помимо свертывания крови модулируют процессы фибринолиза, воспаления, физиологической регенерации, репарации, ангиогенеза, формирования костной ткани, формирования системы мать–плацента–плод и др. Особый интерес представляет феномен спонтанной агрегации тромбоцитов *in vivo* при различных физиологических и патологических состояниях, что связано с расширением возможностей оценки рисков тромботических явлений. Отдельный аспект данной проблемы связан с изучением механизмов и биологической роли обратимой агрегации тромбоцитов. До настоящего времени значение данного явления в условиях нормы и патологии остается не вполне понятным. Данный обзор посвящен феномену спонтанной обратимой агрегации тромбоцитов, современному представлению о его механизмах, подходах к диагностике и его ассоциации с разного рода патологическими состояниями.

Ключевые слова: тромбоциты, спонтанная агрегация тромбоцитов, обратимая агрегация тромбоцитов

Для цитирования: Власова Т. И., Якушкина А. С., Петрищев Н. Н., Чефу С. Г., Власов Т. Д. Механизмы и значение спонтанной агрегации тромбоцитов в патологии. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):4–11. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-4-11.

UDC 616-005.6

DOI: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-4-11

T. I. VLASOVA¹, A. S. YAKUSHKINA¹, N. N. PETRISHCHEV²,
S. G. CHEFU², T. D. VLASOV²

Mechanisms and significance of spontaneous platelet aggregation in pathology

¹ Ogarev National Research Mordovia State University, Saransk, Russia

68, Bol'shevistskaya str., Saransk, Russia, 430005

² Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

6-8, L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022

E-mail: vlasova-t.i@mrsu.ru

Received 16.06.24; accepted 05.08.24

Summary

Platelets are unique blood elements that, in addition to blood coagulation, modulate the processes of fibrinolysis, inflammation, physiological regeneration, repair, angiogenesis, bone tissue formation, formation of the mother-placenta-fetus system, etc. Of particular interest is the phenomenon of spontaneous platelet aggregation *in vivo* under various physiological and pathological conditions, which is associated with expanded capabilities for assessing the risks of thrombotic events. A separate aspect of this problem is associated with the study of the mechanisms and biological role of reversible platelet aggregation. To date, the significance of this phenomenon under normal and pathological conditions remains not entirely clear. This review is devoted to the phenomenon of spontaneous reversible platelet aggregation, the modern understanding of its mechanisms, approaches to its diagnosis and its association with various pathological conditions.

Keywords: platelets, spontaneous platelet aggregation, reversible platelet aggregation

For citation: Vlasova T. I., Yakushkina A. S., Petrishchev N. N., Chifu S. G., Vlasov T. D. Mechanisms and significance of spontaneous platelet aggregation in pathology. Regional hemodynamics and microcirculation. 2024;23(3):4–11. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-4-11.

Введение

Тромботические нарушения остаются ведущей причиной смертности и заболеваемости, несмотря на то, что сегодня успешно применяются дезагрегантная и антикоагулянтная терапия. В настоящее время исследователями все больше осознаются негемостатические функции тромбоцитов, уделяется колоссальное внимание механизмам межклеточного взаимодействия и агрегации тромбоцитов, их роли в иммунологическом ответе. Исследования в данных областях создают перспективы совершенствования диагностических подходов, открытия новых фармакологических мишеней для антиагрегантной терапии кардиоваскулярных заболеваний и расширения показаний к PRP-терапии (использования в лечебных целях плазмы, богатой тромбоцитами).

Тромбоциты – уникальные форменные элементы крови, основной функцией которых является участие в процессе гемостаза. Помимо свертывания крови тромбоциты модулируют процессы фибринолиза, воспаления, физиологической регенерации, репарации, ангиогенеза, формирования костной ткани, формирования системы мать–плацента–плод. Кроме того, они являются активными участниками всех этапов канцерогенеза [1–4].

На настоящий момент известно, что тромбоциты способны модулировать исходы повреждений центральной нервной системы, стимулируя пролиферацию, миграцию и дифференцировку стволовых клеток и ангиогенез [5]; повреждений печени, содействуя репаративным и антифибротическим процессам путем воздействия на звездчатые клетки [6, 7]; заживления ран, выделяя факторы роста и регуляторы апоптоза [8].

Широкий спектр процессов, в которых тромбоциты принимают участие, определен структурой и особенностью рецепторного аппарата кровяных пластинок, а также большим количеством и плеiotропностью эффектов биологически активных веществ, содержащихся в их гранулах. При активации тромбоцитов происходит выделение микровезикул, которые обладают сильным прокоагулянтными свойствами [9]. Как интактные тромбоциты, так и микрочастицы тромбоцитов содержат широкий спектр биологически активных веществ, микроРНК, способных влиять на различные физиологические и патологические процессы [10, 11].

Важнейшей функцией тромбоцитов является их способность к адгезии и агрегации. Лабораторная оценка агрегационной активности тромбоцитов является распространенной методикой оценки состояния клеточного компонента системы гемостаза и определения эффективности препаратов с дезагрегантной активностью.

Последнее время отмечается увеличение научного интереса к спонтанной агрегации тромбоцитов *in vivo* при различных состояниях с целью оценки рисков тромботических явлений и прогрессирования основного заболевания.

Отдельный аспект данной проблемы связан с изучением механизмов и биологической роли обратимой агрегации тромбоцитов. До настоящего вре-

мени значение данного явления в условиях нормы и патологии остается не вполне понятным.

Данный обзор посвящен феномену спонтанной обратимой агрегации тромбоцитов, современному представлению о его механизмах, подходах к диагностике и его ассоциации с разного рода патологическими состояниями.

Эволюция методов агрегометрии

Спонтанная агрегация тромбоцитов (САТ) является классическим маркером гиперреактивности тромбоцитов и определяется как агрегация, происходящая при перемешивании богатой тромбоцитами плазмы при температуре 37 °С без добавления агонистов [12].

Первый метод, при помощи которого были оценены адгезивная и агрегационная способности тромбоцитов, был разработан А. J. Hellem et al. в 1960 г. Цитратную кровь фильтровали с постоянной скоростью через пластиковую пробирку, содержащую стеклянные бусины диаметром 0,5 мм. Время контакта составляло 30 с. Разница в количестве тромбоцитов до и после фильтрации признавалось количеством адгезированных тромбоцитов [13].

При использовании этого метода впервые была выявлена связь между «адгезивностью» тромбоцитов и гематокритом крови. На основе этого открытия, было сделано предположение, что эритроциты должны иметь мощный агент, активирующий тромбоциты, и это привело к открытию агрегирующих свойств у молекулы АДФ. Потребность в более точных количественных и надежных методах оценки функции тромбоцитов побудила G. Born и J. R. O'Brien разработать метод оптической трансмиссионной агрегометрии (агрегометрии светопропускания) в 1962 г. [14].

В 1974 г. K. Wu и J. C. Hoak представили новый метод количественной оценки индуцированной агрегации тромбоцитов, основанный на определении соотношения агрегатов и неагрегированных тромбоцитов [15].

В 1989 г. З. А. Габбасовым и соавторами был описан метод флуктуаций светопропускания, вызванных изменением количества тромбоцитов в оптическом канале. Относительную дисперсию таких колебаний использовали в качестве параметра для оценки степени агрегации тромбоцитов и анализа кинетики агрегации. Установлено, что непрерывная регистрация этого параметра позволяет обнаружить образование микроагрегатов при спонтанной агрегации и агрегации, индуцированной очень низкими концентрациями АДФ [16].

Несколько позднее, в 1997 г. отечественными исследователями был предложен способ оценки внутрисосудистой активности тромбоцитов с использованием фазово-контрастной микроскопии с подсчетом количества тромбоцитов (дискоэритроцитов, сфероэритроцитов) на 200 клеток в обогащенной тромбоцитами плазме (после повторного разведения) и последующим расчетом процентного отношения [17].

Оптическая трансмиссионная агрегометрия, являясь на сегодняшний день «золотым стандартом» среди методов оценки агрегации тромбоцитов, не является чувствительным методом при тромбоцитопении и рекомендуется при количестве тромбоцитов выше $150 \times 10^9/\text{л}$, а для изучения агрегации тромбоцитов в

условиях тромбоцитопении возможно использовать метод проточной цитометрии [18, 19]. Одним из методов определения агрегационной активности тромбоцитов является импедансная агрегометрия, основанная на измерении сопротивления образца при пропускании электрического тока, что связано с образованием агрегатов на электродах и увеличением импеданса. Из преимуществ данного метода следует отметить использование цельной крови, что снижает вероятность диагностических неточностей, связанных с пробоподготовкой обогащенной тромбоцитами плазмы [20].

Механизмы спонтанной агрегации тромбоцитов

Отдельной проблемой изучения спонтанной агрегации является тот факт, что некоторые преданалитические события могут способствовать недостоверной оценке спонтанной агрегации тромбоцитов, ввести в заблуждение исследователя, дав ложную корреляцию между лабораторными данными и клинической оценкой пациента.

Гемолиз эритроцитов приводит к высвобождению АДФ – вещества, стимулирующего агрегацию тромбоцитов. Гемолиз *in vitro* является результатом преданалитических событий, связанных со сбором образцов, неправильными методами транспортировки, экстремальными температурами, обращением с образцами – задержкой обработки и длительным хранением. Гемолиз при сборе образцов может быть вызван неправильным размером иглы, неправильным перемешиванием пробирок, неправильным наполнением пробирок, чрезмерной аспирацией крови, длительным наложением жгута. Таким образом, гемолиз может начаться с момента венопункции и затем продолжаться вплоть до проведения анализа [21, 22]. Отдельным методологическим вопросом является определение концентрации адениловых нуклеотидов *in vitro* при использовании разных антикоагулянтов: в частности ЭДТА замедляет деградацию АТФ [23]. Такие преданалитические шаги как охлаждение образцов крови сразу после их сбора, обработка образцов хлорной кислотой также препятствуют распаду АТФ, а двойное центрифугирование охлажденных образцов крови минимизирует механически вызванное высвобождение АТФ [24]. Тем не менее, при всей сложности методологии анализа, существуют исследования, позволяющие обозначить границы нормы концентрации АДФ в плазме крови [24, 25].

У некоторых пациентов может наблюдаться спонтанная агрегация тромбоцитов в результате ЭДТА-зависимой псевдотромбоцитопении. У таких лиц точный подсчет числа тромбоцитов может быть осуществлен при взятии крови с цитратом в качестве антикоагулянта [26].

Во избежание повышения САТ в результате процессов, связанных с лабораторным анализом, необходимо использовать стандартизированную методику исследования САТ в плазме, богатой тромбоцитами, соблюдая правила ведения преаналитического периода [27].

В настоящее время обсуждаются гендерные особенности агрегации тромбоцитов, что, вероятно, может отразиться на пересмотре референсных значений параметра [28].

Истинными механизмами, усиливающими процесс САТ, описанными в литературе и не связанными с процессом лабораторного анализа, являются изменение напряжения сдвига, увеличение концентраций слабых агонистов процесса агрегации (внутрисосудистый гемолиз с высвобождением АДФ, повышение уровня адреналина, серотонина) и изменение количественного состава и конфигурации рецепторов на поверхности тромбоцитов. При изменении напряжения сдвига в условиях воздействия сил сдвига, превышающих нормальные (например, при повышении артериального давления), тромбоциты могут спонтанно активироваться без контакта с субэндотелием. Это связано с повышением аффинности фактора Виллебранда к рецепторам тромбоцитов в этих условиях [29]. Элонгационный поток со скоростью выше 300 с-1 или скорость сдвига, превышающая 5000 с-1, может разворачивать циркулирующий фактор Виллебранда, обнажая его сайты связывания и обеспечивая его адгезию к тромбоцитам через их мембранный комплекс GPIb-IX-V [30].

Кроме того, значительное воздействие сил сдвига на эндотелий приводит к его денудации с обнажением коллагена.

Механизмы САТ в ответ на АДФ давно и многократно исследованы. Запуск процесса активации связан с взаимодействием лиганда (АДФ) с пуриnergическими рецепторами тромбоцита (P2Y1, P2Y12 и P2X1) [31]. Взаимодействие АДФ и связанного с G-белком P2Y1 приводит к повышению внутриклеточного Ca^{2+} , сокращению фибрилл цитоскелета, изменению конформации гликопротеиновых рецепторов-интегринов и частичному выбросу гранул [30]. Роль P2Y12-рецептора связана с активацией фосфоинозитольного сигнального пути, что ведет к частичной агрегации тромбоцитов [32]. Также обсуждается влияние различных эндогенных биологически активных веществ (плазмин, каллекреин) и экзогенных агентов на процесс АДФ-зависимой активации тромбоцитов [33–35]. Большой научный интерес вызывает обратимая агрегация тромбоцитов, наблюдаемая в ответ на стимуляцию АДФ в присутствии кальция. Данный феномен хорошо известен, но представление о его механизмах продолжает активно расширяться [36]. Одна из гипотез данного явления предполагает ослабление чувствительности тромбоцита к АДФ в связи с интернализацией и десенситизацией P2Y1 и частично P2Y12 после взаимодействия [37].

Роль АДФ в САТ *in vivo* ассоциирована с внутрисосудистым гемолизом. В частности, повышенный уровень САТ был обнаружен в крови (но не в плазме, обогащенной тромбоцитами) у пациентов с сахарным диабетом, что было связано с хрупкостью эритроцитов у пациентов с сахарным диабетом, при разрушении которых высвобождается АДФ, который и стимулирует агрегацию [38].

В настоящее время рассматриваются механизмы обратимой САТ, связанные с увеличением концентраций других слабых агонистов, в частности адреналина и серотонина (оценка *in vitro* при наличии физиологических концентраций Ca^{2+} в плазме). В качестве объяснения обратимости данного явления выступает

гипотеза об отсутствии секреции гранул тромбоцитами в ответ на данные агонисты или снижение продукции тромбоксана A_2 [39].

Также имеются данные, что концентрация растворимого Р-селектина сопряжена со спонтанной агрегацией тромбоцитов у пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей и головного мозга [40].

Другим механизмом развития спонтанной агрегации является изменение характеристик рецепторов тромбоцитов. Известно, что спонтанная агрегация тромбоцитов коррелирует с количеством гликопротеина $IIb/IIIa$ на поверхности тромбоцитов [26] и зависит от его конформации, что продемонстрировано и при наследственных тромбоцитопатиях.

В настоящее время в качестве механизма спонтанной агрегации тромбоцитов рассматривается путь их активации через рецепторы, связанные с ИТАМ (immunoreceptor tyrosinebased activation motifs). Тромбоциты экспрессируют 3 рецептора, связанных с ИТАМ: (1) ИТАМ-содержащую γ -цепь $Fc\gamma$ -рецептора, которая ассоциируется с гликопротеидом VI – рецептором коллагена, ламинина и фибрина в поврежденной сосудистой стенке, (2) ИТАМ-содержащий $Fc\gamma RIIA$, рецептор для иммунных комплексов, и (3) CLEC-2, ИТАМ-содержащий рецептор для подопланина, экспрессируемого на некоторых типах клеток [41].

Было продемонстрировано, что высокий уровень спонтанной агрегации тромбоцитов в крови, наблюдаемый у небольшого процента здоровых добровольцев, обусловлен стимуляцией $Fc\gamma RIIA$ тромбоцитов иммунными комплексами, содержащими IgG, что подтверждается ингибированием САТ антителами против $Fc\gamma RIIA$ и Fc -фрагмента IgG. Высокий уровень САТ может быть связан либо с высокой реактивностью $Fc\gamma RIIA$ тромбоцитов на следовые количества иммунных комплексов IgG, либо с повышенными уровнями циркулирующих иммунных комплексов с IgG. В подтверждение первой ситуации было обнаружено, что экспрессия $Fc\gamma RIIA$ в тромбоцитах повышена у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (острый инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, ишемический инсульт). Высокая реактивность $Fc\gamma RIIA$ тромбоцитов также может быть объяснена генетическим полиморфизмом $Fc\gamma RIIA$ [42].

Различные IgG-опсонизированные патогены и иммунные комплексы могут вызывать $Fc\gamma RIIA$ -опосредованную агрегацию тромбоцитов [43]. Стимуляция $Fc\gamma RIIA$ приводит к стимуляции тирозинкиназы Брутона. Фармакологическое блокирование тирозинкиназы Брутона *in vivo* или *in vitro* приводит к ингибированию процесса САТ [42]. Через рецептор $Fc\gamma RIIA$ происходит запуск внутриклеточной цепи реакций, конечным этапом которых являются повышение внутриклеточного уровня Ca^{2+} и активация протеинкиназы C, которые необходимы для агрегации тромбоцитов [43].

Еще одним механизмом, лежащим в основе активации САТ, может быть усиление посредством $Fc\gamma RIIA$, при отсутствии специфичных для $Fc\gamma RIIA$ внеклеточных стимулов агрегации, вызванной подпороговыми концентрациями других стимуляторов.

В частности, это могут быть стимулы, активирующие путь Gi-белка в тромбоцитах, такие как адреналин или CXCL12 (хемокин подсемейства CXС), которые, как известно, присутствуют в крови в низких концентрациях [42].

Значения спонтанной агрегации тромбоцитов в клинике различных состояний

Известно, что при исследовании здоровых добровольцев, показатель САТ повышался и коррелировал с возрастом. Приводятся данные, что самые низкие средние значения спонтанной агрегации тромбоцитов наблюдались у людей в возрасте от 20 до 30 лет ($3,3 \pm 3,3$ %) и самый высокий показатель – у людей после 90 лет ($10,9 \pm 5,9$ %). Наблюдаемое увеличение САТ у здоровых добровольцев с возрастом может указывать на наличие субклинической протромботической активности крови и воспаления низкой степени выраженности, то есть процессов, связанных с субклиническим течением «возрастных» заболеваний, прежде всего, атеросклероза, что делает САТ возможным биомаркером будущих коронарных событий и смертности, особенно в группах низкого риска [44].

Показатель САТ может отличаться не только у людей разных возрастов, существуют также и половые различия. Тромбоциты экспрессируют рецепторы эстрогенов, которые могут влиять на функцию тромбоцитов и их гемостатическую способность. Результаты показывают, что эстрадиол и/или прогестерон влияют на спонтанную агрегацию, поскольку было обнаружено, что она является наименьшей у женщин в середине лютеиновой фазы цикла. Кроме того, спонтанная агрегация была значительно ниже у женщин, принимающих оральные контрацептивы, чем у мужчин и женщин, не принимающих данные препараты, при этом индуцированная агрегация в данных группах не отличалась [45]. Тем не менее риски тромбозов при приеме оральных контрацептивов в среднем остаются выше, чем в популяции женщин, не принимающих данную терапию, что связано с влиянием компонентов препаратов на другие звенья системы гемостаза.

Многочисленные исследования показывают, что спонтанная агрегация тромбоцитов, измеренная в богатой тромбоцитами плазме и крови, увеличивается у пациентов с различными заболеваниями, включая диабет, острый коронарный синдром и инфаркт миокарда. *In vivo* взаимодействие тромбоцитов с эритроцитами может быть наиболее вероятным в местах атеросклеротического стеноза артерий, где аномальные условия кровотока способствуют обратимой деформации эритроцитов и утечке АДФ [46]. Было показано, что ни прием аспирина, ни прием двойной антитромботической терапии (аспирин и клопидогрел) не влиял на САТ при остром коронарном синдроме (ОКС) [47].

В то же время антитромбоцитарная терапия ингибитором ФДЭ-3 цилостазолом у пациентов с сахарным диабетом и терапия тикагрелором у онкологических пациентов снижали САТ [48, 49].

Сообщалось, что САТ увеличена у пациентов с пароксизмальной и персистирующей формами фибрилляции предсердий (ФП), не принимающих бета-блокаторы. Наиболее выраженное увеличение

спонтанной агрегации отмечено в группе пациентов с персистирующей формой ФП [50].

Кроме того, было показано, что САТ временно увеличивается в периоперационном периоде при открытой сосудистой хирургии при проведении каротидной эндартерэктомии, открытой пластике аневризмы и шунтировании сосудов нижних конечностей [51].

Изменение САТ может сопровождать как физиологически протекающую беременность, так и патологию беременности. Сообщалось, что уровень спонтанной агрегации тромбоцитов был снижен у женщин на ранних сроках беременности по сравнению со здоровыми небеременными женщинами из контрольной группы [52]. Спонтанная агрегация тромбоцитов была снижена у женщин с гипертензивными расстройствами беременности и у женщин, чья беременность сопровождалась задержкой внутриутробного роста плода, по сравнению с женщинами с нормально протекающей беременностью [53].

Показатель САТ оценивался и в медицине критических состояний. Было показано, что у пациентов в критическом состоянии усиливается процесс спонтанной агрегации тромбоцитов, а переливание эритроцитов может дополнительно усилить реакцию спонтанной агрегации тромбоцитов [54].

Изменение САТ при инфекционных заболеваниях изучалось на примере ВИЧ-инфекции и вирусного гепатита С. Было показано, что по сравнению с контрольными субъектами, ВИЧ-1-инфицированные субъекты имели повышенную как спонтанную агрегацию тромбоцитов, так и агрегацию тромбоцитов в ответ на аденозиндифосфат, коллаген и арахидоновую кислоту [55].

Сообщалось о повышенных уровнях липополисахаридов у лиц, инфицированных ВИЧ. Тромбоциты способны взаимодействовать с бактериальным ЛПС и впоследствии формировать тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты (ТЛА). Повышенные уровни циркулирующих ТЛА напрямую коррелировали с маркерами иммунной активации, прогрессирования заболевания и агрегации тромбоцитов у лиц, не получающих антиретровирусную терапию [56].

Считается также, что тромбоциты могут напрямую ингибировать репликацию ВИЧ, распознавая молекулярные паттерны, связанные с повреждением и патогеном, активируясь и привлекая иммунные клетки, что может привести к клиренсу вируса. Но при этом во время инфекции ВИЧ чрезмерно выраженный системный воспалительный ответ, приводящий к активации и дисфункции тромбоцитов, способствует гиперкоагуляции и повышает риск тромбоза [57].

Статистически значимо высокую активность спонтанной агрегации тромбоцитов имели и пациенты с циррозом печени на фоне вирусного гепатита С [58].

САТ на фоне травматических повреждений изучалась на примерах холодовой и ожоговой травм. Было показано, что при исследовании показателя САТ у больных с местной холодовой травмой конечностей отмечается некоторое снижение агрегационного потенциала тромбоцитов относительно группы контроля, но данная тенденция была статистически не значима [59].

В то же время у детей после термической травмы наблюдалось увеличение спонтанной агрегации тромбоцитов, которая оставалась повышенной до полного закрытия ожоговых ран [60].

Заключение

Несмотря на непрерывное совершенствование антиагрегантной терапии, статистика развития тромботических осложнений соматических заболеваний остается неутешительной. Одним из классических компонентов процесса гемостаза являются тромбоциты. В последнее время все больше внимания уделяется и негемостатическим функциям тромбоцитов, таким как участие в процессах воспаления и регенерации, а также механизмам лейкоцитарно-тромбоцитарного и тромбоцитарно-эндотелиального взаимодействия.

В физиологических условиях циркулирующие в крови тромбоциты постоянно испытывают воздействие различных факторов, в том числе эндогенных индукторов агрегации, различных биологически активных веществ, включая цитокины, а также гемодинамическое воздействие, особенно при турбулентном кровотоке. Под влиянием этих воздействий происходит активация тромбоцитов, которая может проявляться в высвобождении из них биологически активных веществ, развитие спонтанной обратимой агрегации, образование агрегатов с лейкоцитами. При патологии эти изменения выходят за пределы физиологических колебаний и их можно рассматривать как один из универсальных механизмов патогенеза.

Особый интерес представляет феномен спонтанной обратимой агрегации *in vivo*.

Окончательно не ясными остаются его триггерные агенты, механизмы и биологическая роль. Кроме того, существуют технические трудности лабораторного исследования данного явления, связанные с особенностями пробоподготовки и выбором метода исследования. Изучение роли гемодинамических факторов, биологически активных веществ, влияющих на процессы агрегации и активации тромбоцитов, молекулярных структурных особенностей самих тромбоцитов является важным шагом к пониманию механизмов САТ и ее биологической роли *in vivo* в условиях нормы и патологии. В настоящее время в качестве механизмов данного феномена рассматриваются изменение концентрации ряда слабых агонистов (АДФ, серотонин, адреналин), рецепторного аппарата тромбоцитов (в частности, модификация конформации гликопротеиновых рецепторов, уменьшение количества пуриновых рецепторов, активация тромбоцитов через FcγRIIA), гемодинамических параметров.

Кроме того, анализ спонтанной агрегации тромбоцитов при различных клинических состояниях показывает перспективность этого показателя при должной стандартизации метода его оценки в качестве дополнительного прогностического маркера при кардиоваскулярных заболеваниях, патологии беременности, инфекционных заболеваниях и травмах.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare that they have no conflict of interest.

Финансирование / Financing

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00278, <https://rscf.ru/project/24-25-00278/> / The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 24-25-00278, <https://rscf.ru/project/24-25-00278/>.

Литература / References

- Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2011;105 Suppl 1:S13-33. Doi: 10.1160/THS10-11-0720.
- Haemmerle M, Stone RL, Menter DG, Afshar-Kharghan V, Sood AK. The Platelet Lifeline to Cancer: Challenges and Opportunities. *Cancer Cell.* 2018;33(6):965-983. Doi: 10.1016/j.ccell.2018.03.002.
- Hayon Y, Shai E, Varon D, Leker RR. The role of platelets and their microparticles in rehabilitation of ischemic brain tissue. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2012;11(7):921-925. Doi: 10.2174/1871527311201070921.
- Salamanna F, Maglio M, Sartori M, Tschon M, Fini M. Platelet Features and Derivatives in Osteoporosis: A Rational and Systematic Review on the Best Evidence. *Int J Mol Sci.* 2020;21(5):1762. Doi: 10.3390/ijms21051762.
- Rivera FJ, Kazanis I, Ghevaert C, Aigner L. Beyond Clotting: A Role of Platelets in CNS Repair? *Front Cell Neurosci.* 2016;9:511. Doi: 10.3389/fncel.2015.00511.
- Gawaz M, Vogel S. Platelets in tissue repair: control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Blood.* 2013;122(15):2550-2554. Doi: 10.1182/blood-2013-05-468694.
- Kurokawa T, Zheng YW, Ohkohchi N. Novel functions of platelets in the liver. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016;31(4):745-751. Doi: 10.1111/jgh.13244.
- Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015;29(3):153-162. Doi: 10.1016/j.blre.2014.10.003.
- Siddon AJ, Tormey CA, Snyder EL. Platelet Transfusion Medicine. In book: *Platelets*. 4th ed. / eds by A.D. Michelson. Acad Press, 2019:1137-1159.
- Brill A, Varon D. Angiogenesis. In book: *Platelets*. 2nd ed. / eds by A.D. Michelson. Acad Press, 2007:757-768.
- Italiano JE, Richardson JL, Patel-Hett S, Battinelli E, Zaslavsky A, Short S, Ryeom S, Folkman J, Klement GL. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet a granules and differentially released. *Blood.* 2008;111(3):1227-1233. Doi: 10.1182/blood-2007-09-113837.
- Brass L. Understanding and Evaluating Platelet Function. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2010;(1):387-396. Doi: 10.1182/asheducation-2010.1.387.
- Hellem AJ, Borchgrevink CF, Ames SB. The role of red cells in haemostasis: the relation between haematocrit, bleeding time and platelet adhesiveness. *Br J Haematol.* 1961;7:42-50. Doi: 10.1111/j.1365-2141.1961.tb00318.x.
- Coller BS. Historical perspective and future directions in platelet research. *J Thromb Haemost.* 2011;9 Suppl 1(Suppl 1):374-395. Doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04356.x.
- Wu KK, Hoak JC. A new method for the quantitative detection of platelet aggregates in patients with arterial insufficiency. *Lancet.* 1974;2(7886):924-926. Doi: 10.1016/s0140-6736(74)91131-3.
- Gabbasov ZA, Popov EG, Gavrilov IYu, Pozin EYa. Platelet aggregation: the use of optical density fluctuations to study microaggregate formation in platelet suspension. *Thromb Res.* 1989;54(3):215-223. Doi: 10.1016/0049-3848(89)90229-6.
- Метод определения внутрисосудистой активности тромбоцитов и его значение в клинической практике / Шитикова А.С., Белязо О.Е., Тарковская Л.Р., Каргин В.Д. // *Клин. лаб. диагност.* – 1997. – № 2. – С. 23–35. [Shitikova AS, Belyazo OE, Tarkovskaya LR, Kargin VD. Method for determining intravascular platelet activity and its significance in clinical practice. *Clin Lab Diagnost.* 1997;(2):23-35. (in Russ.)].
- Vinholt PJ, Frederiksen H, Hvas AM, Sprogøe U, Nielsen C. Measurement of platelet aggregation, independently of patient platelet count: a flow-cytometric approach. *J Thromb Haemost.* 2017;15(6):1191-1202. Doi: 10.1111/jth.13675.
- Пономаренко Е.А., Игнатова А.А., Федорова Д.В. и др. Функциональная активность тромбоцитов: физиология и методы лабораторной диагностики // *Вопр. гематол./онкол. и иммунопатол. в педиатрии.* – 2019. – Т. 18, № 3. – С. 112–119. [Ponomarenko YeA, Ignatova AA, Fedorova DV, Zharkov PA, Panteleyev MA. Functional activity of platelets: physiology and laboratory diagnostic methods. *Pediatric Hematol/Oncol Immunopathol.* 2019;18(3):112-119. (in Russ.)]. Doi: 10.24287/1726-1708-2019-18-3-112-119.
- Cardinal DC, Flower R. The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. *J Pharmacol Methods.* 1980;3(2):135-158.
- Wan Azman WN, Omar J, Koon TS, Tuan Ismail TS. Hemolyzed Specimens: Major Challenge for Identifying and Rejecting Specimens in Clinical Laboratories. *Oman Med J.* 2019;34(2):94-98. Doi: 10.5001/omj.2019.19.
- Toshima H, Sugihara H, Hamano H, Sato M, Yamamoto M, Yamazaki S, Yamada Y, Taki M, Izumi S, Hoshi K, Fusegawa Y, Satoh K, Ozaki Y, Kurihara S. Spontaneous platelet aggregation in normal subject assessed by a laser light scattering method: an attempt at standardization. *Platelets.* 2008;19(4):293-239. Doi: 10.1080/09537100701883457.
- Gorman MW, Marble DR, Ogimoto K, Feigl EO. Measurement of adenine nucleotides in plasma. *Luminescence.* 2003;18(3):173-181. Doi: 10.1002/bio.721.
- Ledderose C, Valsami EA, Junger WG. Optimized HPLC method to elucidate the complex purinergic signaling dynamics that regulate ATP, ADP, AMP, and adenosine levels in human blood. *Purinergic Signal.* 2022;18(2):223-239. Doi: 10.1007/s11302-022-09842-w.
- Jabs CM, Ferrell WJ, Robb HJ. Plasma ADP levels: direct determination with luciferase luminescence using a biometer. *Clin Biochem.* 1978;11(5):190-193. Doi: 10.1016/s0009-9120(78)80027-7.
- Козловский В.И., Ковтун О.М., Сероухова О.П. и др. Методы исследования и клиническое значение агрегации тромбоцитов. Фокус на спонтанную агрегацию // *Вестн. БГМУ.* – 2013. – № 4. – С. 79–91. [Kozlovskiy VI, Kovtun OM, Seroukhova OP, Detkovskaya IN, Kozlovskiy IV. Research methods and clinical significance of platelet aggregation. Focus on spontaneous aggregation. *Bull VSMU.* 2013;(4):79-91. (in Russ.)].
- Suzuki S, Kudo H, Koyama T. Assessment of spontaneous platelet aggregation using laser light scattering in healthy subjects: an attempt to standardize. *Int J Lab Hematol.* 2014;36(6):676-85. Doi: 10.1111/ijlh.12208.
- Чефу С.Г. Гендерные особенности агрегационной активности тромбоцитов у крыс стока Wistar / И.З. Чхаидзе, Л.Н. Бельдиман, Е.Ю. Васина, Н.Н. Петрищев // *Научная интеграция в биомедицине: фундаментальные и прикладные аспекты* : сб. науч. труд. – Санкт-Петербург, 2023. – С. 272–288. [Chefu SG, Chkhaidze IZ, Beldiman LN, Vasina EYu, Petrishchev NN. Gender differences of Wistar rat platelet activity. In the collection: *Scientific integration in biomedicine: fundamental and applied aspects.* St. Petersburg, 2023:272-288. (in Russ.)].

29. Власов Т.Д., Яшин С.М. Артериальные и венозные тромбозы. Всегда ли применима триада Вирхова? // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2022. – № 21 (1). – С. 78–86. [Vlasov TD, Yashin SM. Arterial and venous thrombosis. Is the Virchow's triad always valid? Regional blood circulation and microcirculation. 2022;21(1):78-86. (in Russ.)]. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-1-78-86.
30. Yakusheva AA, Butov KR, Bykov GA, Závodszyk G, Eckly A, Ataullakhanov FI, Gachet C, Panteleev MA, Mangin PH. Traumatic vessel injuries initiating hemostasis generate high shear conditions. *Blood Adv.* 2022;6(16):4834-4846. Doi: 10.1182/bloodadvances.2022007550.
31. Gachet C. Platelet activation by ADP: the role of ADP antagonists. *Ann Med.* 2000;32 Suppl 1:15-20.
32. Kauffenstein G, Bergmeier W, Eckly A, Ohlmann P, Leon C, Cazenave JP et al. The P2Y₁₂ receptor induces platelet aggregation through weak activation of the alpha_{IIb} beta₃ integrin – a phosphoinositide 3-kinase-dependent mechanism. *FEBS Lett.* 2001;505(2):281-290. Doi: 10.1016/s0014-5793(01)02824-1.
33. Ishii-Watabe A, Uchida E, Mizuguchi H, Hayakawa T. On the mechanism of plasmin-induced platelet aggregation. Implications of the dual role of granule ADP. *Biochem Pharmacol.* 2000;59(11):1345-1355. Doi: 10.1016/s0006-2952(00)00279-3.
34. Ottaviano TF, Andrade SS, de Oliveira C, Silva MCC, Buri MV, Juliano MA, Girão MJBC, Sampaio MU, Schmaier AH, Wlodawer A, Maffei FHA, Oliva MLV. Plasma kallikrein enhances platelet aggregation response by subthreshold doses of ADP. *Biochimie.* 2017;135:72-81. Doi: 10.1016/j.biochi.2017.01.010.
35. Zhang Q, Liao X, Wu F. The naphthoquinone plumbagin suppresses ADP-induced rat platelet aggregation through P2Y₁-PLC signaling pathway. *Pak J Pharm Sci.* 2017;30(2(Suppl.)):573-578.
36. Filkova AA, Martynov AA, Garzon Dasgupta AK, Panteleev MA, Sveshnikova AN. Quantitative dynamics of reversible platelet aggregation: mathematical modelling and experiments. *Sci Rep.* 2019;9(1):6217. Doi: 10.1038/s41598-019-42701-0.
37. Baurand A, Eckly A, Hechler B, Kauffenstein G, Galzi J-L, Cazenave J-P et al. Differential regulation and relocalization of the platelet P2Y receptors after activation: a way to avoid loss of hemostatic properties? *Mol Pharmacol United States.* 2005;67(3):721-733.
38. Krause S, May J, Koslowski H, Heptinstall S, Lösche W. Enhanced Spontaneous Platelet Aggregation and red Blood Cell Fragility in Whole Blood Obtained from Patients with Diabetes. *Platelets.* 1991;2(4):203-206. Doi: 10.3109/09537109109005511.
39. Филькова А.А., Пантелеев Н.А., Свеиникова А.Н. Обратимая агрегация тромбоцитов в присутствии ионов кальция: механизмы и потенциальная значимость // Вopr. гематол./онкол. и иммунопатол. в педиатрии. – 2019. – № 18 (3). – С. 120–129. [Fil'kova AA, Panteleyev NA, Sveshnikova AN. Reversible platelet aggregation in the presence of calcium ions: mechanisms and potential significance. *Pediatric Hematol/Oncol Immunopathol.* 2019;18(3):120-129. (in Russ.)]. Doi: 10.24287/1726-1708-2019-18-3-120-129.
40. Cleanthis M, Smout J, Bhattacharya V, Ashour H, Dyker A, Ford GA, Mikhailidis DP, Stansby GP. Soluble but not platelet P-selectin correlates with spontaneous platelet aggregation: a pilot study. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2008;14(2):227-233. Doi: 10.1177/1076029607305915.
41. Robert H. Lee, Lucia Stefanini, Wolfgang Bergmeier. Platelet Signal Transduction. In book: *Platelets. 4th ed.* / eds by A.D. Michelson. Acad Press, 2019:329-348.
42. Duan R, Goldmann L, Li Y, Weber C, Siess W, von Hundelshausen P. Spontaneous Platelet Aggregation in Blood Is Mediated by FcγRIIA Stimulation of Bruton's Tyrosine Kinase. *Int J Mol Sci.* 2021;23(1):76. Doi: 10.3390/ijms23010076.
43. Arman M, Krauel K. Human platelet IgG Fc receptor FcγRIIA in immunity and thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2015;13(6):893-908. Doi: 10.1111/jth.12905.
44. Kuhnla A, Reinthaler M, Braune S, Maier A, Pindur G, Lendlein A, Jung F. Spontaneous and induced platelet aggregation in apparently healthy subjects in relation to age. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2019;71(4):425-435. Doi: 10.3233/CH-199006.
45. Berlin G, Hammar M, Tapper L, Tynngård N. Effects of age, gender and menstrual cycle on platelet function assessed by impedance aggregometry. *Platelets.* 2019;30(4):473-479. Doi: 10.1080/09537104.2018.1466387.
46. Bampalis VG, Brantl SA, Siess W. Why and how to eliminate spontaneous platelet aggregation in blood measured by multiple electrode aggregometry. *J Thromb Haemost.* 2012;10(8):1710-1714. Doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04819.x.
47. Mazurov AV, Khaspekova SG, Yakushkin VV, Khachikyan MV, Zyuryaev IT, Ruda MY. Spontaneous platelet aggregation in patients with acute coronary syndrome. *Bull Exp Biol Med.* 2013;155(1):89-91. Doi: 10.1007/s10517-013-2087-3.
48. Araki S, Matsuno H, Haneda M, Koya D, Kanno Y, Kume S, Isshiki K, Araki H, Ugi S, Kawai H, Kashiwagi A, Uzu T, Maegawa H. Cilostazol attenuates spontaneous microaggregation of platelets in type 2 diabetic patients with insufficient platelet response to aspirin. *Diabetes Care.* 2013;36(7):e92-e93. Doi: 10.2337/dc12-2702.
49. Wright JR, Chauhan M, Shah C, Ring A, Thomas AL, Goodall AH, Adlam D. The TICONC (Ticagrelor-Oncology) Study: Implications of P2Y₁₂ Inhibition for Metastasis and Cancer-Associated Thrombosis. *JACC CardioOncol.* 2020;2(2):236-250. Doi: 10.1016/j.jacc.2020.04.009.
50. Огуркова О.Н., Суслова Т.Е., Баталов Р.Е. Исследование спонтанной и стимулированной агрегации тромбоцитов у пациентов с разными типами фибрилляции предсердий // Клин. лаб. диагност. – 2021. – Т. 66, № 1. – С. 35–41. [Ogurkova ON, Suslova TE, Batalov RE. Study of spontaneous and stimulated platelet aggregation in patients with different types of atrial fibrillation. *Clin Lab Diagnost.* 2021;66(1):35-41. (in Russ.)]. Doi: 10.18821/0869-2084-2021-66-1-35-41.
51. Schneider GS, Rockman CB, Berger JS. Platelet activation increases in patients undergoing vascular surgery. *Thromb Res.* 2014;134(5):952-956. Doi: 10.1016/j.thromres.2014.08.009.
52. Umazume T, Yamada T, Morikawa M, Ishikawa S, Furuta I, Koyama T, Matsuno K, Minakami H. Platelet aggregation in citrated whole blood of the first trimester of pregnancy. *Clin Chim Acta.* 2015;448:60-64. Doi: 10.1016/j.cca.2015.06.011.
53. Burke N, Flood K, Muellers S, Murray A, Dunne E, Cotter B, Dempsey M, Dicker P, Geary MP, Kenny D, Malone FD. Reduced spontaneous platelet aggregation: a novel risk factor for adverse pregnancy outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;199:132-136. Doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.02.010.
54. van Hezel ME, van Manen L, Boshuizen M, Straat M, De Cuyper IM, Beuger B, Nieuwland R, Tanck MWT, de Korte D, Zwaginga JJ, van Bruggen R, Juffermans NP. The effect of red blood cell transfusion on platelet function in critically ill patients. *Thromb Res.* 2019;184:115-121. doi: 10.1016/j.thromres.2019.10.028.
55. O'Brien M, Montenont E, Hu L, Nardi MA, Valdes V, Merolla M, Gettenberg G, Cavanagh K, Aberg JA, Bhardwaj N, Berger JS. Aspirin attenuates platelet activation and immune activation in HIV-1-infected subjects on antiretroviral therapy: a pilot study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2013;63(3):280-288. Doi: 10.1097/QAI.0b013e31828a292c.

56. Nkambule BB, Davison G, Ipp H. Platelet leukocyte aggregates and markers of platelet aggregation, immune activation and disease progression in HIV infected treatment naive asymptomatic individuals. *J Thromb Thrombolysis*. 2015;40(4):458-467. Doi: 10.1007/s11239-015-1212-8.

57. Awamura T, Nakasone ES, Gangcuango LM, Subia NT, Bali AJ, Chow DC, Shikuma CM, Park J. Platelet and HIV Interactions and Their Contribution to Non-AIDS Comorbidities. *Biomolecules*. 2023;13(11):1608. Doi: 10.3390/biom13111608.

58. Галеева Н.В. Тромбоцитарный гемостаз и хронический гепатит С // *Вестн. соврем. клин. мед.* – 2019. – № 2. – С. 23–28. [Galeyeva NV. Platelet hemostasis and chronic hepatitis C. *Bull Modern Clin Med*. 2019;(2):23-28. (in Russ.)]. Doi: 10.20969/VSKM.2019.12(2).23-28.

59. Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Михайличенко С.И. Изменения агрегации тромбоцитов у больных с криотравмой // *Хир. практика.* – 2011. – Т. 3. – С. 21–23. [Mikhailichenko MI, Shapovalov KG, Mikhailichenko SI. Changes of platelet aggregation in patients with create vol. *Surg Pract*. 2011;3:21-23. (in Russ.)].

60. Агрегация и размер тромбоцитов у детей с ожоговой болезнью / Левин Г.Я., Поповичева А.Н., Соснина Л.Н., Шереметьев Ю.А. // *Рос. журн. гематол. и трансфузиол.* – 2019. – № 4. – С. 462–470. [Levin GYa, Popovicheva AN, Sosnina LN, Sheremet'yev YuA. Platelet aggregation and size in children with burn disease. *Russ J Hematol Transfusiol*. 2019;(4):462-470. (in Russ.)]. Doi: 10.35754/0234-5730-2019-64-4-462-470.

Информация об авторах

Власова Татьяна Ивановна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева, г. Саранск, Россия, e-mail: vlasova-t.i@bk.ru, ORCID: 0000-0002-2624-6450.

Якушкина Анастасия Сергеевна – соискатель кафедры нормальной и патологической физиологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный универси-

тет имени Н. П. Огарева», г. Саранск, Россия, e-mail: anastacia.yakushkina@gmail.com, ORCID: 0000-0002-7190-9268.

Петришев Николай Николаевич – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lazmed@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-4760-2394.

Чефу Светлана Григорьевна – канд. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальных исследований ЦЛМ НОИ Биомедицины, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: chefusveta@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-9249-660X.

Власов Тимур Дмитриевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: tvlasov@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-6951-7599.

Authors information

Vlasova Tatyana I. – MD, Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, National Research Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: vlasova-t.i@bk.ru, ORCID: 0000-0002-2624-6450.

Yakushkina Anastasia S. – Postgraduate Student, Department of Normal and Pathological Physiology, National Research Mordovia State University, Saransk, Russia, e-mail: anastacia.yakushkina@gmail.com, ORCID: 0000-0002-7190-9268.

Petrishchev Nikolay N. – MD, Professor, Department of Pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lazmed@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-4760-2394.

Chefu Svetlana G. – Candidate (PhD) of Biological Sciences, Head, Laboratory of Experimental Research, Center for Laser Medicine, Scientific and Educational Institute of Biomedicine, Pavlov University, Saint Petersburg, e-mail: chefusveta@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-9249-660X.

Vlasov Timur D. – MD, Professor, Head, Department of Pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: tvlasov@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-6951-7599.