

## ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1. Фенотипы тромбоцитов при инфаркте миокарда и сахарном диабете

Фенотип тромбоцитов	Лабораторные проявления	Клиническое значение
"Диабетический" фенотип тромбоцитов	<p><b>Изменение признаков тромбоцитов:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Повышенное гликирование мембранных белков; изменения текучести мембран тромбоцитов [1, 2].</li> <li>Повышенная экспрессия гликопротеиновых рецепторов (GPIIb, GPIIb-IIIa, GPVI) [3, 4].</li> <li>Устойчивость к NO и простаглицлину [5, 6].</li> <li>Усиленный ответ на тромбогенные стимулы [7, 8].</li> <li>Снижение образования уровня NO [9].</li> <li>Увеличение среднего объема тромбоцита [10].</li> <li>Повышенное связывание с фибриногеном [11].</li> </ul> <p><b>Изменение ответа тромбоцитов на стимуляцию агонистами:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Увеличение выработки TXA2 [12].</li> <li>Увеличение мобилизации цитозольного кальция [13].</li> <li>Повышенная адгезия и активация (экспрессия P-селектина, CD40-CD40L) [14, 15].</li> <li>Улучшенная генерация АФК [16].</li> </ul>	<p>Наличие сахарного диабета ассоциировано с наличием гиперреактивных тромбоцитов, большей зоной ишемического повреждения органов при сосудистом событии и увеличенным риском смерти. Вероятно, сахарный диабет усиливает способность тромбоцитов опосредовать микрососудистый тромбоз и воспаление во время ишемического повреждения органа при сосудистом событии [17].</p>
Фенотип тромбоцитов при инфаркте миокарда	<p><b>Изменение признаков тромбоцитов:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Увеличение среднего объема тромбоцита [18].</li> <li>Повышенная экспрессия гликопротеиновых рецепторов (GPVI) [19].</li> <li>Измененная внутриклеточная сигнализация в результате воздействия на рецепторы GPVI [20].</li> <li>Повышенная экспрессия рецепторов P2Y12 [21].</li> <li>Повышенная экспрессия SDF-1 на поверхности циркулирующих тромбоцитов [22].</li> </ul> <p><b>Изменение ответа тромбоцитов на стимуляцию агонистами:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Увеличение мобилизации цитозольного кальция [23].</li> <li>Повышенная адгезия и активация (экспрессия P-селектина, CD63, CD40, CD45) [24-26].</li> <li>Повышенные плазменные уровни серотонина и vWF [27, 28].</li> </ul>	<p>Повышенный уровень экспрессии тромбоцитами гликопротеина VI может являться биомаркером острого коронарного синдрома, влиять на уровень агрегации тромбоцитов. на фоне двойной антиагрегантной терапии, предсказывать худший прогноз (инфаркт миокарда, инсульт и кардиоваскулярная смерть в течение трех месяцев наблюдения), а бессобытийная выживаемость у пациентов с низким уровнем гликопротеина VI значительно выше, чем у пациентов с высоким уровнем этого белка на поверхности тромбоцитов [19, 29, 30].</p> <p>Повышенная экспрессия тромбоцитами SDF-1 ассоциируется с развитием острого коронарного синдрома [31, 32].</p>
<p>CD40 – CD40, CD40L-CD40 лиганд, CD40 – CD40, GPIIb – гликопротеин 1b, GPIIb-IIIa – гликопротеин IIb-IIIa, GPVI – гликопротеин VI, NO – оксид азота, SDF-1 – фактор стромальных клеток-1, vWF – Фактор фон Виллебранда, АФК – активные формы кислорода, TXA2 – тромбоксан A2</p>		

Таблица 2. Методы тестирования функции тромбоцитов

Метод	Тест	Принцип метода	Клиническое значение
Время кровотечения	Время кровотечения по Дьюке [33]	Результат теста оценивают по продолжительности кровотечения после повреждения кожи определенной глубины.	<p>Увеличение времени кровотечения может быть проявлением тромбоцитопении различной этиологии, тромбоцитопатий, приема различной АТТ, нестероидных противовоспалительных препаратов, антибактериальных препаратов, антидепрессантов и т.д., недоразвитием субэндотелия при болезнях соединительной ткани [34].</p> <p><b>Считается устаревшим методом, в настоящее время в кардиологии используется крайне редко.</b></p>
	Время кровотечения по Айви		
Адгезия тромбоцитов	Адгезия тромбоцитов к стеклу	<p>Адгезия тромбоцитов оценивается по формуле:</p> $\text{Адгезия тромбоцитов, \%} = \frac{\text{Количество тромбоцитов в плазме до инкубации}}{\text{Количество тромбоцитов в плазме после инкубации}} \times 100\%$	<p>Нарушение адгезии тромбоцитов (уменьшение % адгезированных тромбоцитов) может быть проявлением дефицита гликопротеида Ib (болезнь Бернара-Сулье), недоразвитие субэндотелия при болезнях соединительной ткани, дефицит компонентов комплекса фактора VIII [35].</p> <p><b>Широкого применения метод не получил, в настоящее время в кардиологии не используется.</b></p>
Ретракция (контракция) кровяного сгустка	Простые методы	Простым методом степень контракции определяется или путем сравнения размера сгустка до и после сжатия, или по объему выделившейся сыворотки.	<p>Снижение ретракции сгустка наблюдается при тромбоцитопениях, тромбастении Гланцманна (генетическом дефекте GP IIb-IIIa) или блокаде GP IIb-IIIa с помощью специфичных агонистов и некоторых других состояниях.</p> <p>При ряде тромботических и претромботических состояний (ишемический инсульт, венозный тромбоз, системная красная волчанка) способность сгустков крови к сжатию ослаблена вследствие хронической гиперактивации тромбоцитов в кровотоке, их энергетического истощения и вторичной дисфункции, включая снижение сократительного потенциала. Степень контракции может быть важным модулятором локальной гемодинамики при тромбозе, влияющим на течение тромботического процесса [40].</p> <p><b>Является экспериментальным методом, в кардиологии не используется.</b></p>
	С использованием приборов Nemodyne [36], ретрактографа АГК1-02М [37].	При использовании прибора Nemodyne или ретрактографа АГК1-02М происходит прямое измерения сократительной силы в сгустке.	
	Тромбоэластография [38]	Метод тромбоэластографии используется для определения вязкоэластических свойств сгустка в динамике: максимальная амплитуда на ТЭГ коррелирует с силой контракции сгустков.	
	С использованием регистратора "Тромбодинамика" [39]	Использование регистратора "Тромбодинамика" – количественный метод изучения кинетики контракции сгустка крови, основанный на автоматическом измерении размера сгустка в процессе его сжатия, уменьшение сгустка в размере фиксируется с помощью регистратора "Тромбодинамика".	

*Тестирование функции тромбоцитов в кардиологии*  
*Platelet function testing in cardiology*

<b>Метод</b>	<b>Тест</b>	<b>Принцип метода</b>	<b>Клиническое значение</b>
Агрегация тромбоцитов	Оптическая турбидиметрическая агрегометрия (световая трансмиссионная агрегометрия) [41] (Рис. 6, 7).	Метод основан на изменении светопропускания: луч света проходит в агрегометре через кювету с исследуемым образцом (суспензией тромбоцитов) и попадает на регистрирующий фотоэлемент.  Агрегометры: Chrono-Log, Biola, Solar и др.	<b>"Золотой стандарт" исследования функции тромбоцитов более 60 лет, используется в кардиологии.</b>  Несмотря на многолетний накопленный опыт использования по-прежнему требует больших затрат времени, труда и образцов крови, что делает его использование ограниченным специализированными гематологическими лабораториями. Кроме того, несмотря на многочисленные попытки стандартизовать метод, тем не менее различных рекомендательных документах отличаются рекомендованные концентрации активаторов (Приложение табл. 3) [42]
	Метод флуктуаций светопропускания (ФСП метод)	Данный метод, в отличие от турбидиметрического анализа, чувствителен к маленьким агрегатам, состоящим из нескольких тромбоцитов.  Реализован исключительно в агрегометрах Biola	<b>Часто приборы для проведения оптической турбидиметрической агрегометрии поддерживают ФСП-метод, экспериментальный метод, в кардиологии не используется</b>
	Импедансный метод	Метод основан на изменении сопротивления суспензии тромбоцитов при пропускании через нее электрического тока. При опускании в цельную кровь электродов и активации тромбоцитов они "налипают" на поверхность электрода, что имитирует гемостатический сгусток на поверхности сосудистого повреждения.	Данный метод считается наиболее приближенным к физиологическим условиям. Опыт применения этой методики крайне ограничен, что делает интерпретацию полученных результатов затруднительной [42].  <b>Является экспериментальным методом, в кардиологии не используется. Однако, есть коммерческие системы на основе данного метода, которые используются для мониторинга АТТ (см. Коммерческие системы → Multiplate Analyzer)</b>
	Автоматическая оптическая турбидиметрическая агрегометрия (световая трансмиссионная агрегометрия) (например, Systemx серия CS-2x00, Нордерштедт, Германия)	Оптическая турбидиметрическая агрегометрия выполняется автоматически с помощью специального программного обеспечения на стандартных лабораторных приборах. Автоматизированный анализ позволяет пользователю выбрать агонисты и их концентрации для тестирования в соответствии с национальными или международными рекомендациями [43].	Результаты данного метода полностью повторяют результаты классической оптической турбидиметрической агрегометрии и легко воспроизводимы, не требуют специальных навыков в постановке теста [44-47], и требуют меньший объем забора крови [45]. Однако время проведения теста не отличается, а стоимость расходных материалов и реагентов выше. При этом интерпретацию кривых агрегации должен проводить опытный клинический врач (чаще гематолог или клинический фармаколог), или отправлять изображения в специализированный центр.  <b>Потенциально может улучшить оценку эффективности антиагрегантной терапии, в кардиологии используются в специализированных центрах.</b>

*Тестирование функции тромбоцитов в кардиологии*  
*Platelet function testing in cardiology*

Метод	Тест	Принцип метода	Клиническое значение
	Оптическая многоканальная агрегометрия в 96- или 384-луночном планшете	Метод позволяет производить одновременную оценку агрегации большого количества образцов с несколькими агонистами в малом объеме обогащенной тромбоцитами плазмы [48-51].	Метод продемонстрировал чувствительность и специфичность, сравнимую с традиционной методикой световой агрегометрии в исследовании М. Lordkipanidze и соавт., что позволяет рассматривать его как перспективный инструмент скрининга [52].  <b>В настоящее время в кардиологии не используется, потенциально может использоваться в будущем.</b>
Тромбоэластография	Platelet Mapping	Метод представляет собой модифицированную ТЭГ, в которой вклад рецептора P2Y <sub>12</sub> или путей ЦОГ в образование сгустка измеряются путем добавления соответствующего агониста, АДФ или арахидоновой кислоты. Следовательно, арахидоновую кислоту добавляют к активатору для измерения степени агрегации тромбоцитов, индуцированной ТХА <sub>2</sub> , а АДФ для оценки использования ингибиторов P2Y <sub>12</sub> [53].	Позволяет оценить влияние антиагрегантов на функцию тромбоцитов. Оцениваются следующие препараты – ингибиторы АДФ рецепторов (клопидогрел, тиклопидин, прасугрел, тикагрелор), ингибиторы тромбоксанового пути (АСК). Можно оценить, насколько препараты эффективны, оценить риск кровотечений и тромбоза у пациентов, получающих АТТ, предсказать риск тромбозов у стентированных пациентов и т.д. Также возможно определить сроки планирования оперативного вмешательства. Подобрать дозу лекарственного средства или заменить его на более эффективный препарат. Можно использовать как в предоперационном, интраоперационном, так и послеоперационном периодах [54].  <b>Метод используется в кардиологии для мониторинга антиагрегантной терапии [55].</b>
Проточные камеры	Определение способности тромбоцитов к образованию агрегатов в проточных камерах	Использование проточных камер позволяет также изучать этапы образования тромба (пути Ca <sup>2+</sup> сигнализации, активации интегринов и секреции тромбоцитов) [54].	<b>Экспериментальный метод, не используется в кардиологии.</b>
Исследование секреции гранул	Люмиагрегометрия	Метод основан на детекции АТФ, высвобождаемого из плотных гранул и оценки его концентрации с помощью биолюминесценции с использованием люциферин/люциферазы [56].	Люмиагрегометрия не позволяет различать дефицит плотных гранул и дефекты их мобилизации, когда число и содержимое гранул не изменены, однако нарушен их выброс в процессе активации тромбоцитов [56, 57].  <b>Не используется в клинической практике, практически полностью вытеснен методом проточной цитометрии (используется в гематологии, в кардиологии не используется).</b>
	Исследование секреции серотонина с помощью радиоактивной метки.	Метод основан на захвате и последующем высвобождении серотонина, меченного радиоактивной меткой [58].	Метод не получил широкого распространения из-за необходимости манипуляций с радиоактивным веществом.  <b>Экспериментальный метод, не используется в кардиологии.</b>

*Тестирование функции тромбоцитов в кардиологии*  
*Platelet function testing in cardiology*

Метод	Тест	Принцип метода	Клиническое значение
	Иммуноферментный анализ (сокращённо ИФА, англ. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)	Иммунологический метод, основанный на качественном или количественном определении различных низкомолекулярных соединений, макромолекул и пр., в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело. Дает представление о способности тромбоцитов секретировать ключевые вазоактивные пептиды в ответ на активацию. Чаще всего измеряют такие специфические белки, как бета-тромбоглобулин и тромбоцитарный фактор 4.	Обе методики технически сложные и имеют ограниченное применение в клинике [59].  <b>Экспериментальные методы, не используются в кардиологии.</b>
	Высокоэффективная жидкостная хроматография	Метод аналитической химии, используемый для разделения, идентификации и количественного определения веществ. Позволяет определять концентрацию тромбоцитарного серотонина.	
Определение уровня тромбоксана A2	Определение TXB2 в сыворотке или плазме крови методом ИФА.	Метод основан на определении метаболитов TXA2. TXB2 является стабильным метаболитом TXA2, высвобождающегося из тромбоцитов при их активации [60].	Используется для оценки действия АСК, но сам показатель не является прямым маркером агрегации тромбоцитов.  <b>В кардиологии используется для оценки действия АСК, однако метод трудоемкий и малодоступный.</b>
	Определение 11-дегидротромбоксана B2 в моче.	Метод основан на определении метаболитов TXA2. Считается, что данный показатель отражает результат эндогенного синтеза TXA2 [61].	Метод нельзя назвать специфичным, поскольку концентрация 11-дегидротромбоксана B2 в моче зависит от функции почек, а также от вклада других, нетромбоцитарных источников тромбоксана [62].  <b>В кардиологии используется редко для оценки действия АСК.</b>
Проточная цитометрия	Проточная цитометрия без дополнительной стимуляции тромбоцитов (иммунофенотипирование)	Метод основан на определении состояния гликопротеинов на поверхности тромбоцитов с использованием флуоресцентных меток, специфично связывающихся с рецепторами.	Высоконадежный тест как для скрининга, так и для постановки окончательного диагноза классических тромбоцитопатий, связанных с отсутствием или недостатком тех или иных рецепторов (ГП Ib – для синдрома Бернара–Сулье; интегрин αIIbβ3 – для тромбастении Гланцмана 1-го и 2-го типов и др.).  <b>В настоящее время в кардиологии не используется, проточная цитометрия в будущем может применяться не только для диагностики наследственных тромбоцитопатий, но и патологической активации тромбоцитов (в частности, при ишемической болезни сердца и цереброваскулярной патологии), а также для оценки эффективности антиагрегантной терапии [63].</b>

*Тестирование функции тромбоцитов в кардиологии*  
*Platelet function testing in cardiology*

Метод	Тест	Принцип метода	Клиническое значение
	Проточная цитометрия с дополнительной стимуляцией тромбоцитов различными активаторами	Метод основан на определении состояния гликопротеинов на поверхности тромбоцитов до и после активации используются флуоресцентные метки, специфично связывающиеся с рецепторами [64, 65].	Такая проточная цитометрия гораздо реже применяется в клинике, поскольку в данном случае выбор параметров (в первую очередь типа активации и маркеров) не обоснован ни фундаментальными данными по физиологии и патофизиологии, ни сколько-нибудь обширными клиническими испытаниями. Однако, учитывая высокую редкость четко определенных тромбоцитопатий, этот метод обладает нулевой коммерческой привлекательностью и не стандартизован нигде в мире. Фактически каждая лабораторно-клиническая команда (которых не так много) налаживает иммунофенотипирование тромбоцитов самостоятельно [66].
	Метод определения функциональной активности тромбоцитов (ФАТ)	Метод основан на сравнении данных проточной цитометрии покоящихся и активированных тромбоцитов (частный случай проточной цитометрии с дополнительной стимуляцией тромбоцитов определенными активаторами).	Метод используется для оценки изменений функциональной активности тромбоцитов в результате терапии ромиплостимом при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре [67], для оценки качества тромбоцитов в тромбоцитарных концентратах.  <b>Метод не стандартизован, в кардиологии не используется.</b>
	VASP-метод (vasodilator-stimulated phosphoprotein – стимулируемый вазодилатором фосфопротеин)	Проточная цитометрия позволяет выявлять наличие фосфорилированного VASP на поверхности тромбоцитов [68]. В случае активации P2Y <sub>12</sub> АДФ-рецепторов молекулы VASP дефосфорилированы, в присутствии клопидогрела молекулы более фосфорилируются. Результат в данном методе представляется в виде индекса реактивности тромбоцитов (PRI), представляющий собой отношение уровня фосфорилирования молекул VASP после АДФ-индуцированной активации тромбоцитов по сравнению с исходным [69]	Чувствительный показатель работы сигнального пути P2Y <sub>12</sub> -рецепторов.  <b>Метод используется в кардиологии для мониторинга антиагрегантной терапии [55].</b>
Микроскопия	Светлопольная/ широкопольная (рис. 8)	Метод основан на использовании видимого света или источников света высокой интенсивности для освещения образца. При помощи светлопольной и широкопольной микроскопии наблюдают образование тромба, крупные агрегаты тромбоцитов, также возможно использование одноканальных микрофлюидных систем (стеклянные капиллярные трубки (оптически прозрачные) или трубопроводы, которые монтируются на стеклянных покровных стеклах и покрыты адгезивным лигандом [70]	У метода низкое разрешение, не подходит для оценки одиночных клеток, ограничен длиной волны света и размером линзы объектива.  <b>В кардиологии используется только для подсчета количества тромбоцитов, для оценки функции тромбоцитов не используется.</b>
	Конфокальная/ Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия	Метод основан на том, что в конфокальных лазерных микроскопах используется точечная подсветка от одномодового оптоволоконного непрерывного лазера. С помощью метода наблюдают образование тромба, можно получить информацию о поверхностных рецепторах тромбоцитов [70-72].	<b>Используются в фундаментальной науке, в кардиологии не используются.</b>

*Тестирование функции тромбоцитов в кардиологии*  
*Platelet function testing in cardiology*

Метод	Тест	Принцип метода	Клиническое значение
	Количественная фазово-контрастная микроскопия (QPM)/ Цифровая голографическая микроскопия (DHM)	Метод получения изображений в оптических микроскопах основан на сдвиге фаз электромагнитной волны и трансформации ее в контраст интенсивности, то есть генерирует количественные измерения на основе сдвигов по фазе. Этот метод используется для объемных измерений при образовании тромба, при этом получить информацию о профиле рецепторов тромбоцитов нельзя. Цифровая голографическая микроскопия отличается от других методов микроскопии тем, что не записывает проецируемое изображение объекта. Вместо этого информация о световом волновом фронте, исходящая от объекта, записывается в цифровом виде как голограмма, на основе которой компьютер вычисляет изображение объекта, используя числовой алгоритм реконструкции. Таким образом, формирующая изображение линза в традиционной микроскопии заменена компьютерным алгоритмом [73-76].	<b>Используются в фундаментальной науке, в кардиологии не используются.</b>
	Корреляционная световая и электронная микроскопия (CLEM)/ Криоэлектронная микроскопия (крио-ЭМ, англ. cryo-EM)	Метод идентификации функционального белка или ткани с помощью флуоресцентной микроскопии и наблюдения за его морфологией. Криоэлектронная микроскопия – это форма просвечивающей электронной микроскопии, в которой образец исследуется при криогенных температурах (обычно в жидком азоте). Методы приближаются к атомарному уровню анализа ультраструктурных изменений, адгезии и секреции гранул тромбоцитов [77-80].	<b>Используются в фундаментальной науке, в кардиологии не используются.</b>
	Селективная микроскопия плоскостного освещения (Selective Plane Illumination Microscopy – SPIM)	Метод основан на использовании "листа" или плоскости света для освещения образца, перпендикулярно направлению формирования изображения. Потенциально может быть использована <i>in vivo</i> [81, 82].	<b>Используются в фундаментальной науке, в кардиологии не используются.</b>
	Микроскопия со стимулированным истощением выбросов сверхвысокого разрешения (STED)	Метод основан на использовании нелинейности стимулированного излучения для получения оптического сверхразрешения. При использовании метода определяют распределение белка тромбоцитов при совместной инкубации с раковыми клетками, хранение белка в тромбоцитах [83-86].	<b>Используются в фундаментальной науке, в кардиологии не используются.</b>
	Методы микроскопии локализации одиночных молекул (SMLM) (SIM, PALM, PAINT и STORM)	Методы основаны на переключении одной молекулы путем стохастического возбуждения или включения/выключения флуоресцентной молекулы/ее возбуждения; позволяют получить разрешение достаточное для визуализации структур с квази-изотропной точностью трехмерной локализации ~ 10 нм. Методы позволяют изучать белки цитоскелета тромбоцитов, актиновые узелки/тубулин, структуру и функции мегакариоцитов, синапсы, совместную локализацию рецепторов тромбоцитов и кластеризацию рецепторов [87-89].	Методы предоставляют огромное количество информации, на основании которой проводится комплексная реконструкция изображений.  <b>Используются в фундаментальной науке, в кардиологии не используются.</b>

*Тестирование функции тромбоцитов в кардиологии*  
*Platelet function testing in cardiology*

<b>Метод</b>	<b>Тест</b>	<b>Принцип метода</b>	<b>Клиническое значение</b>
Коммерческие тесты	VerifyNow (ITC, США) (рис. 9)	Метод основан на действии агонистов и агрегации тромбоцитов на картридж с шариками, покрытыми, покрытыми фибриногеном в системе VerifyNow. Агрегация пропорциональна числу активированных ГП IIb/IIIa, что вызывает возрастание оптического сигнала светопропускания [90].	Основные достоинства этих методов — простота исполнения и отсутствие необходимости проведения дополнительных манипуляций с кровью (агрегация оценивается в цельной крови).  <b>Оба метода используют для мониторинга антиагрегантной терапии [91, 92].</b>
	Plateletworks (Helena Laboratories, США)	В системе Plateletworks с помощью гемоанализатора производится подсчет количества тромбоцитов до и после агрегации на трубочки, покрытые АДФ или арахидоновой кислотой [93].	
	PFA-100/200 (Siemens, Германия)	Метод разработан в качестве in vitro альтернативы определению времени кровотечения, основан на способности тромбоцитов к адгезии в условиях высоких скоростей сдвига и агрегации в присутствии агониста. Оценку функциональной активности тромбоцитов проводят в цельной крови с помощью симуляции первичного гемостаза на картриджах [94, 95].	Использование анализатора позволяет определить, чем были вызваны нарушения функциональной активности тромбоцитов — внешними причинами (например, терапией АСК) или дефектами самих тромбоцитов (например, синдром Бернара-Сулье или тромбастения Гланцмана) [96, 97].  <b>Редко используется для определения чувствительности к ацетилсалициловой кислоте</b>
	IMPACT (DiaMed, Швейцария)	Тромбоциты адгезируются на полистероловой подложке в условиях высоких скоростей сдвига, которые обеспечиваются вращением конуса. Исследование полностью автоматизировано: анализатор проводит окрашивание, а также измеряет процент поверхности, покрытой тромбоцитарными агрегатами, как показатель способности тромбоцитов к адгезии, и средний размер агрегатов — показатель способности тромбоцитов к агрегации [98].	Требуется дополнительные исследования для оценки роли анализатора в диагностике врожденных и приобретенных нарушений функций тромбоцитов.  <b>В кардиологии не используется.</b>
	Multiplate Analyzer (Roche Diagnostics, США)	Метод является полуавтоматической модификацией импедансной агрегометрии.	Достоинство метода — простота исполнения и отсутствие необходимости проведения дополнительных манипуляций с кровью (агрегация оценивается в цельной крови), к недостаткам можно отнести сильную зависимость результата от концентрации тромбоцитов.  <b>Может быть использована для мониторинга ингибиторов P2Y<sub>12</sub> [99]. Multiplate можно использовать для оценки риска кровотечения или тромбоза у пациентов на длительной ДАТТ, а также для сокращения временного окна до хирургического вмешательства после отмены ингибиторов P2Y<sub>12</sub> [100–102].</b>

*Тестирование функции тромбоцитов в кардиологии*  
*Platelet function testing in cardiology*

Метод	Тест	Принцип метода	Клиническое значение
	Total Thrombus-formation Analysis System (T-TAS 01®)	Метод основан на пропускании крови по поверхности, покрытой тромбогенным субстратом (обычно коллагеном) с оценкой отложения тромбоцитов и роста тромба с помощью микроскопии. Система двойного мониторинга показывает видео в реальном времени, что позволяет визуально оценить тромб, образовавшийся при переменном кровотоке.	Метод был успешно использован для диагностики болезни фон Виллебранда [103], в качестве скринингового теста на заболевание пула накопления тромбоцитов [104, 105], <b>потенциально может быть использован для мониторинга АТТ [106–108], а также для прогнозирования перипроцедурного кровотечения у пациентов, перенесших коронарное шунтирование [108].</b>
Генетические исследования	ПЦР; секвенирование по Сэнгеру; полногеномное секвенирование и т.д.	В основе метода лежит определение нуклеотидной последовательности участка генома в месте предположительной мутации.	Секвенирование генов выполняется пациентам с семейным анамнезом кровотечений при котором можно идентифицировать множественные мутации в генах, кодирующих рецепторы тромбоцитов, сигнальные белки и белки цитоскелета [109]. Риск кровотечений также может быть связан с мутациями в генах, кодирующих белки, регулирующие биогенез $\alpha$ - или $\delta$ -гранул (например, для синдром серых тромбоцитов, Синдром Германского-Пудлака и др.) [110]. Кроме этого, было описано несколько мутаций в генах, кодирующих рецепторы тромбоцитов, связанных с гиперреактивностью [109], а также мутации, ассоциированные с тромбоцитозом и тромбогенностью [110], и полиморфизмы, ассоциированные с венозным тромбозом [111].  <b>В настоящий момент пациентам, получающим ДАТТ, может быть выполнено генотипирование по маркеру CYP2C19 (Ген CYP2C19 кодирует белок CYP2C19 (S-мефенитоингидроксилаза) — изофермент семейства цитохрома P450, участвующий в метаболизме ряда лекарственных препаратов в печени) для проведения деэскалации терапии, генетические тесты для определения функциональной активности тромбоцитов не используются [112].</b>

АСК – ацетилсалициловая кислота, АДФ – аденозиндифосфат, АТТ – антитромбоцитарная терапия, АТФ – аденозинтрифосфат, ДАТТ – двойная антитромбоцитарная терапия, ИФА – иммуноферментный анализ, ПЦР – полимеразная цепная реакция, ТХА2 – тромбосан А2, ТХВ2 – тромбосан В2, ТЭГ – тромбозластография, ЦОГ – циклооксигеназа, ФАТ – функциональная активность тромбоцитов, ФСП – флуктуации светопропускания, ARU – aspirin reaction units (единицы реактивности на АСК), CLEM – корреляционная световая и электронная микроскопия, cryo-EM – криоэлектронная микроскопия, PRU – P2Y<sub>12</sub> reaction units (P2Y<sub>12</sub> единицы реактивности), U – единицы, % PRI – platelet reactivity index (индекс реактивности тромбоцитов), PALM – фотоактивируемая локализационная микроскопия, PAINT – визуализация локальных треков с помощью "Накопления точек на основе ДНК для визуализации в наноразмерной топографии", SIM – микроскопия структурированного освещения, STORM – микроскопия стохастической оптической реконструкции, SPIM – селективная микроскопия плоскостного освещения, STED – микроскопия со стимулированным истощением выбросов сверхвысокого разрешения, SMLM – методы микроскопии локализации одиночных молекул, VASP – фосфолирирование вазодилататор-стимулированного фосфопротеина

Таблица 3. Рекомендованные концентрации активаторов и ристоцетина для проведения оптической турбидиметрической агрегометрии в международных рекомендациях (адаптировано Le Blanc с соавт.2020 [113])

	Концентрация	Christie и др., 2008 [114]	Hayward и др., 2010 [115]	Harrison и др., 2011 [116]	Cattaneo и др., 2013 [117]	Alessi и др., 2017 [118]	Alessi и др., 2020 [119]
АДФ	2 мкмоль/л		X	X	X	X	X
	5 мкмоль/л	X		X			
	10 мкмоль/л		X			X	X
	100 мкмоль/л					X	X
Коллаген	1 мкг/мл			X			
	2 мкг/мл		X		X	X	X
	10 мкг/мл					X	X
	25 мкг/мл			X			
	Тип коллагена:		Тип I	Тип I	Norm	Не упоминается	Не упоминается
Адреналин	5 мкмоль/л	X	X	X	X	X	X
	10 мкмоль/л		X		X		
	25 мкмоль/л					X	X
TRAPs	10 мкмоль/л			X	X	X	X
	50 мкмоль/л					X	X
	Тип TRAPs:			PAR-1 (SFLLRN) 10-100 μM PAR-4 (AYPGKF) 100-500 μM	PAR1 (-AP)	TRAP-6	TRAP-6
Арахидоновая кислота	1 ммоль/л	X(0,5-1,6)	X(0,5-1,6)	X(0,5-1,0)	X	X	X
Тромбоксан A2 аналог U6619	1 мкмоль/л	X	X	X	X	X	X
	2 мкмоль/л	X					
	3 мкмоль/л					X	X
	5 мкмоль/л						X
	10 мкмоль/л					X	X
Ристоцетин	Низкая доза	≤0,6	0,5-0,6	0,5-0,7			
	Высокая доза	0,8-1,5	1,2-1,5	1,2-1,5	1,2*	1,2*	1,2*
Коллаген-подобный пептид (CRP)	1 мкмоль /мл						Концентрация не представлена
	2 мкмоль /мл			X(0,01-1)			
Гамма-тромбин	50-200 нг/мл			X			
Кальций-ионофор A23187	1,25-10 мкмоль /л			X			

- Скрининг
- Диагностика абсолютного дефицита/нарушения функции рецептора P2Y<sub>12</sub>
- Может позволить отличить дефицит/нарушение функции рецептора тромбоксана A2 от дефицита синтеза тромбоксана A2
- Результаты агрегации при использовании арахидоновой кислоты отличаются от нормы
- Если γ-тромбин не в норме
- Если есть нарушения функции рецепторов тромбина, тогда мишенями для рецептора являются: мобилизация кальция и прокоагулянтная функция
- Специфический активатор GPVI
- Диагностика дефицита CalDAG-GEFI
- Рецепторы тромбина, но без свертывания

## References / Литература

- Cohen I, Burk DL, Fullerton R, et al. Nonenzymatic glycation of platelet proteins in diabetic patients. *Semin Thromb Hemost.* 1991;17(4):426-32. DOI:10.1055/s-2007-1002649
- Winocour PD, Watala C, Perry DW, Kinlough-Rathbone RL. Decreased platelet membrane fluidity due to glycation or acetylation of membrane proteins. *Thromb Haemost.* 1992;68(5):577-82.
- Tschoepe D, oesen P, Kaufmann L, et al. Evidence for abnormal platelet glycoprotein expression in diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest.* 1990;20(02):166-170 DOI:10.1111/j.1365-2362.1990.tb02264.x.
- Cabeza N, Li Z, Schulz C, et al. Surface expression of collagen receptor Fc receptor-γ/glycoprotein VI is enhanced on platelets in type 2 diabetes and mediates release of CD40 ligand and activation of endothelial cells. *Diabetes* 2004;53(08):2117-2121. DOI:10.2337/diabetes.53.8.2117.
- Betteridge DJ, El Tahir KE, Reckless JP, Williams KI. Platelets from diabetic subjects show diminished sensitivity to prostacyclin. *Eur J Clin Invest.* 1982;12(5):395-8. DOI:10.1111/j.1365-2362.1982.tb00686.x.
- Rösen P, Schwippert B, Kaufmann L, Tschöpe D. Expression of Adhesion Molecules on the Surface of Activated Platelets is Diminished by PGI<sub>2</sub>-analogues and an NO (EDRF)-Donor: A Comparison Between Platelets of Healthy and Diabetic Subjects. *Platelets.* 1994;5(1):45-52. DOI:10.3109/09537109409006040.
- Dittmar S, Polanowska-Grabowska R, Gear AR. Platelet adhesion to collagen under flow conditions in diabetes mellitus. *Thromb Res.* 1994;74(3):273-83. DOI:10.1016/0049-3848(94)90115-5.
- Knobler H, Savion N, Shenkman B, et al. Shear-induced platelet adhesion and aggregation on subendothelium are increased in diabetic patients. *Thromb Res.* 1998;90(4):181-90. DOI:10.1016/S0049-3848(98)00050-4.
- Rabini RA, Staffolani R, Fumelli P, et al. Decreased nitric oxide synthase activity in platelets from IDDM and NIDDM patients. *Diabetologia.* 1998;41(1):101-4. DOI:10.1007/s001250050873.
- Sharpe PC, Trinick T. Mean platelet volume in diabetes mellitus. *Q J Med.* 1993;86(11):739-42.
- Leet H, Paton RC, Passa P, Caen JP. Fibrinogen binding and ADP-induced aggregation in platelets from diabetic subjects. *Thromb Res.* 1981;24(1-2):143-50. DOI:10.1016/0049-3848(81)90039-6.
- Davi G, Catalano I, Averna M, et al. Thromboxane biosynthesis and platelet function in type II diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1990;322(25):1769-74. DOI:10.1056/NEJM199006213222503.
- Ishii H, Umeda F, Hashimoto T, Nawata H. Increased intracellular calcium mobilization in platelets from patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1991;34(5):332-6. DOI:10.1007/BF00405005.
- Neubauer H, Setiadi P, Günesdogan B, et al. Influence of glycaemic control on platelet bound CD40-CD40L system, P-selectin and soluble CD40 ligand in Type 2 diabetes. *Diabet Med.* 2010;27(4):384-90. DOI:10.1111/j.1464-5491.2010.02957.x.
- Yngen M, Östenson CG, Hu H, et al. Enhanced P-selectin expression and increased soluble CD40 Ligand in patients with Type 1 diabetes mellitus and microangiopathy: evidence for platelet hyperactivity and chronic inflammation. *Diabetologia.* 2004;47(3):537-40. DOI:10.1007/s00125-004-1352-4.
- Redondo PC, Jardin I, Hernández-Cruz JM, et al. Hydrogen peroxide and peroxynitrite enhance Ca<sup>2+</sup> mobilization and aggregation in platelets from type 2 diabetic patients. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;333(3):794-802. DOI:10.1016/j.bbrc.2005.05.178.
- Maiocchi S, Alwis I, Wu MCL, et al. Thromboinflammatory functions of platelets in ischemia-reperfusion injury and its dysregulation in diabetes. *Semin Thromb Hemost.* 2018;44(2):102-113. DOI:10.1055/s-1007-1613694.
- Amraotkar AR, Song DD, Otero D, et al. Platelet count and mean platelet volume at the time of and after acute myocardial infarction. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2017;23(8):1052-9. DOI:10.1177/1076029616683804.
- Bigalke B, Haap M, Stellos K, et al. Platelet glycoprotein VI (GPVI) for early identification of acute coronary syndrome in patients with chest pain. *Thromb Res.* 2010;125(5):e184-9. DOI:10.1016/j.thromres.2010.01.005.
- Vélez P, Ocaranza-Sánchez R, López-Otero D, et al. Alteration of platelet GPVI signaling in ST-elevation myocardial infarction patients demonstrated by a combination of proteomic, biochemical, and functional approaches. *Sci Rep.* 2016;6:39603. DOI:10.1038/srep39603.
- Devanathan V, Hagedorn I, Köhler D, et al. Platelet Gi protein Gai2 is an essential mediator of thrombo-inflammatory organ damage in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015;112(20):6491-6. DOI:10.1073/pnas.1505887112.
- Stellos K, Bigalke B, Langer H, et al. Expression of stromal-cell-derived factor-1 on circulating platelets is increased in patients with acute coronary syndrome and correlates with the number of CD34+ progenitor cells. *Eur Heart J.* 2009;30(5):584-93. DOI:10.1093/eurheartj/ehh566.
- Pachel C, Mathes D, Arias-Loza AP, et al. Inhibition of platelet GPVI protects against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016;36(4):629-35. DOI:10.1161/ATVBAHA.115.305873.
- Van der Zee PM, Biró E, Ko Y, et al. P-selectin- and CD63-exposing platelet microparticles reflect platelet activation in peripheral arterial disease and myocardial infarction. *Clin Chem.* 2006;52(4):657-664. DOI:10.1373/clinchem.2005.057414.
- Abu el-Makrem MA, Mahmoud YZ, Sayed D, et al. The role of platelets CD40 ligand (CD154) in acute coronary syndromes. *Thromb Res.* 2009;124(6):683-688. DOI:10.1016/j.thromres.2009.06.028.
- Gabbasov Z, Ivanova O, Kogan-Yasny V, et al. Activated platelet chemiluminescence and presence of CD45+ platelets in patients with acute myocardial infarction. *Platelets.* 2014;25(6):405-8. DOI:10.3109/09537104.2013.829211.
- Goto S, Sakai H, Goto M, et al. Enhanced shear-induced platelet aggregation in acute myocardial infarction. *Circulation.* 1999;99(5):608-13. DOI:10.1161/01.CIR.99.5.608.
- Mauler M, Herr N, Schoenichen C, et al. Platelet serotonin aggravates myocardial ischemia/reperfusion injury via neutrophil degranulation. *Circulation.* 2019;139(7):918-31. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.033942.
- Bigalke B, Geisler T, Stellos K, et al. Platelet collagen receptor glycoprotein VI as a possible novel indicator for the acute coronary syndrome. *Am Heart J.* 2008;156(1):193-200. DOI:10.1016/j.ahj.2008.02.010.
- Bigalke B, Stellos K, Geisler T, et al. Glycoprotein VI as a prognostic biomarker for cardiovascular death in patients with symptomatic coronary artery disease. *Clin Res Cardiol.* 2010;99(4):227-33. DOI:10.1007/s00392-009-0109-y.
- Wurster T, Stellos K, Haap M, et al. Platelet expression of stromal-cell-derived factor-1 (SDF-1): an indicator for ACS? *Int J Cardiol.* 2013;164(1):111-115. DOI:10.1016/j.ijcard.2011.06.082.
- Gabbasov ZA, Ryzhkova EV. Platelet phenotype in myocardial infarction. *Kreativnaya kardiologiya.* 2014;2:48-59 (In Russ.) [Габбасов З.А., Рыжкова Е.В. Фенотип тромбоцитов и инфаркт миокарда. Креативная кардиология. 2014;2:48-59].
- Duke WW. The relation of blood platelets to hemorrhagic disease. Description of a method for determining the bleeding time and the coagulation time and report of three cases of hemorrhagic disease relieved by blood transfusion. *JAMA.* 1910;55:1185-1192.
- Pagana KD, Pagana TJ, Pagana TN. *Mosby's Diagnostic and Laboratory Test Reference.* 14th ed. St.Louis: Elsevier; 2019.
- Bowry S.K. et al. Biomaterial Assessment: Measurement Of Platelet Adhesion And Aggregation. In: Paul, J.P., Gaylor, J.D.S., Courtney, J.M., Gilchrist, T. (eds) *Biomaterials in Artificial Organs.* Strathclyde Bioengineering Seminars. Palgrave Macmillan, London. 1984. pp. 35-38. DOI:10.1007/978-1-349-07283-5\_30.
- Carr ME Jr. Measurement of platelet force: the Hemodyne hemostasis analyzer. *Clin Lab Manage Rev.* 1995;9(4):312-314.
- Shitikova AS, Beliazo OE, Tarkovskaia LR, Kargin VD. Metod opredeleniia vnutrisosudistoi aktivatsii trombositov i ego znachenie v klinicheskoi praktike [A method for determining thrombocyte intravascular activation and its significance for clinical practice]. *Klin Lab Diagn.* 1997;2(2):23-4, 33-5. Reid TJ, Snider R, Hartman K, et al. A method for the quantitative assessment of platelet-induced clot retraction and clot strength in fresh and stored platelets. *Vox Sang.* 1998;75(4):270-277. DOI:10.1046/j.1423-0410.1998.7540270.x.
- Lozhkin AP, Peshkova AD, Ataullahanov FI, Litvinov RI. Development and applications of a new technique to study blood clot contraction (retraction). *Geny i kletki* 2014;9(3): 99-104. (In Russ.) [Ложкин А.П., Пешкова А.Д., Атаулханов Ф.И., Литвинов Р.И. Разработка и применение нового метода изучения контракции (ретракции) сгустка крови. Гены и клетки. 2014;9(3):99-104].
- Litvinov RI, Peshkova AD. Contraction (retraction) of blood clots and blood clots: pathogenetic and clinical significance. *Al'manah klinicheskoi meditsiny.* 2018;46(7):662-671. (In Russ.) [Литвинов РИ, Пешкова АД. Контракция (ретракция) сгустков крови и тромбов: патогенетическое и клиническое значение. Альманах клинической медицины. 2018;46(7):662-671]. DOI:10.18786/2072-0505-2018-46-7-662-671.
- Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature.* 1962;194:927-929.
- Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al.; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol.* 2011;155(1):30-44. DOI:10.1111/j.1365-2141.2011.08793.x.
- Le Blanc J, Mullier F, Vayne C, Lordkipanidzé M. Advances in Platelet Function Testing-Light Transmission Aggregometry and Beyond. *J Clin Med.* 2020;9(8):2636. DOI:10.3390/jcm9082636.
- Ling LQ, Liao J, Niu Q, et al. Evaluation of an automated light transmission aggregometry. *Platelets.* 2017;28(7):712-719. DOI:10.1080/09537104.2016.1265923.
- Lawrie AS, Kobayashi K, Lane PJ, et al. The automation of routine light transmission platelet aggregation. *Int J Lab Hematol.* 2014;36(4):431-8. DOI:10.1111/ijlh.12161.
- Frere C, Kobayashi K, Dunois C, et al. Assessment of platelet function on the routine coagulation analyzer Sysmex CS-2000i. *Platelets* 2018;29(1):95-97. DOI:10.1080/09537104.2017.1353683.
- Bret VE, Pougault B, Guy A, et al. Assessment of light transmission aggregometry on the routine coagulation analyzer Sysmex CS-2500 using CE-marked agonists from Hyphen Biomed. *Platelets.* 2019;30(4):540-542. DOI:10.1080/09537104.2018.1528346.

47. Chan MV, Armstrong PC, Papalia F, et al. Optical multichannel (optimul) platelet aggregometry in 96-well plates as an additional method of platelet reactivity testing. *Platelets*. 2011;22(7):485-494. DOI:10.3109/09537104.2011.592958.
48. Chan MV, Armstrong PC, Warner TD. 96-well plate-based aggregometry. *Platelets*. 2018;29(7):650-655. DOI:10.1080/09537104.2018.1445838.
49. Brouns SLN, van Geffen JP, Heemsker JW. High-throughput measurement of human platelet aggregation under flow: application in hemostasis and beyond. *Platelets*. 2018;29(7):662-669. DOI:10.1080/09537104.2018.1447660.
50. Martins Lima A, Bragina ME, Burri O, et al. An optimized and validated 384-well plate assay to test platelet function in a high-throughput screening format. *Platelets*. 2019;30(5):563-571. DOI:10.1080/09537104.2018.1514106.
51. Lordkipanidzé M, Lowe GC, Kirkby NS, et al. Characterization of multiple platelet activation pathways in patients with bleeding as a high-throughput screening option: use of 96-well Optimul assay. *Blood*. 2014;123(8):e11-22. DOI:10.1182/blood-2013-08-520387.
52. Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. Overestimation of platelet aspirin resistance detection by thrombelastograph platelet mapping and validation by conventional aggregometry using arachidonic acid stimulation. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(9):1705-9. DOI:10.1016/j.jacc.2005.05.090.
53. Fallon ME, Mathews R, Hinds MT. In Vitro Flow Chamber Design for the Study of Endothelial Cell (Patho)Physiology. *ASME. J Biomech Eng*. 2022;144(2):020801. DOI:10.1115/1.4051765
54. Sibbing D, Aradi D, Alexopoulos D, et al. Updated Expert Consensus Statement on Platelet Function and Genetic Testing for Guiding P2Y12 Receptor Inhibitor Treatment in Percutaneous Coronary Intervention. *JACC Cardiovasc Interv*. 2019;12(16):1521-1537. DOI:10.1016/j.jcin.2019.03.034.
55. Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol*. 2011;155(1):30-44. DOI:10.1111/j.1365-2141.2011.08793.x.
56. Fedorova DV, Zharkov PA, Plyasunova SA, et al. Modern approach to diagnosis of inherited functional platelet disorders. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2017;16(1):83-95 (In Russ.) [Фёдорова Д.В., Жарков П.А., Плясунова С.А., и др. Диагностика врожденных нарушений функций тромбоцитов: современное состояние вопроса. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2017;16(1):83-95]. DOI:10.24287/1726-1708-2017-16-1-83-95.
57. Quiroga T, Goycoolea M, Matus V, Zúñiga P, Martínez C, Garrido M, Aranda E, Leighton F, Panes O, Pereira J, Mezzano D. Diagnosis of mild platelet function disorders. Reliability and usefulness of light transmission platelet aggregation and serotonin secretion assays. *Br J Haematol*. 2009;147(5):729-36. DOI:10.1111/j.1365-2141.2009.07890.x.
58. Dovlatova N. Current status and future prospects for platelet function testing in the diagnosis of inherited bleeding disorders. *Br J Haematol*. 2015;170(2):150-161. DOI:10.1111/bjh.13405.
59. Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Corral J et al. Biological assessment of aspirin efficacy on healthy individuals: heterogeneous response or aspirin failure? *Stroke*. 2005;36(2):276-80. DOI:10.1161/01.STR.0000151362.65339.f9.
60. Catella F, Healy D, Lawson JA, FitzGerald GA. 11-Dehydrothromboxane B2: a quantitative index of thromboxane A2 formation in the human circulation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986;83(16):5861-5. DOI:10.1073/pnas.83.16.5861.
61. Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *Lancet*. 2006;367(9510):606-17. DOI:10.1016/S0140-6736(06)68040-9.
62. Linden MD. Platelet flow cytometry. *Methods Mol Biol*. 2013;992:241-62. DOI:10.1007/978-1-62703-339-8\_18.
63. Ibrahim SF, van den Engh G. Flow Cytometry and Cell Sorting. In: Kumar, A., Galaev, I.Y., Mattiasson, B. (eds) *Cell Separation. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg. 2007. pp.19-39. DOI:10.1007/10\_2007\_073
64. Schmit T, Klomp M, Khan MN. An Overview of Flow Cytometry: Its Principles and Applications in Allergic Disease Research. *Methods Mol Biol*. 2021;2223:169-182. DOI:10.1007/978-1-0716-1001-5\_13.
65. Ponomarenko EA, Ignatova AA, Fedorova DV, et al. Platelet functional activity: physiology and laboratory diagnostic methods. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2019;18(3):112-119 (In Russ.) [Пономаренко Е.А., Игнатова А.А., Федорова Д.В., и др. Функциональная активность тромбоцитов: физиология и методы лабораторной диагностики. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2019;18(3):112-119]. DOI:10.24287/1726-1708-2019-18-3-112-119.
66. Suntsova EV, Demina IM, Ignatova AA, et al. Bleeding tendency and platelet function during treatment with romiplostim in children with severe immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol*. 2017;105(6):841-848. DOI:10.1007/s12185-017-2207-3.
67. Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. Overestimation of platelet aspirin resistance detection by thrombelastograph platelet mapping and validation by conventional aggregometry using arachidonic acid stimulation. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(9):1705-9. DOI:10.1016/j.jacc.2005.05.090.
68. Aleil B, Meyer N, Cazenave JP, et al. High stability of blood samples for flow cytometric analysis of VASP phosphorylation to measure the clopidogrel responsiveness in patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost*. 2005;94(4):886-7. DOI:10.1160/TH05-04-0886.
69. Van Geffen JP, Brouns SLN, Batista J, et al. High-throughput elucidation of thrombus formation reveals sources of platelet function variability. *Haematologica*. 2019;104(6):1256-67. DOI:10.3324/haematol.2018.198853.
70. Cardo L, Thomas SG, Mazharian A, et al. Accessible synthetic probes for staining actin inside platelets and megakaryocytes by employing Lifeact peptide. *Chembiochem*. 2015;16(11):1680-8. DOI:10.1002/cbic.201500120.
71. Celi A, Merrill-Skoloff G, Gross P, et al. Thrombus formation: direct real-time observation and digital analysis of thrombus assembly in a living mouse by confocal and widefield intravital microscopy. *J Thromb Haemost*. 2003;1:60-8. DOI:10.1046/j.1538-7836.2003.t01-1-00033.x
72. Park Y, Depeursinge C, Popescu G. Quantitative phase imaging in biomedicine. *Nat Photonics*. 2018;12:578-89. DOI:10.1038/s41566-018-0253-x.
73. Lee K, Kim K, Jung J, et al. Quantitative phase imaging techniques for the study of cell pathophysiology: from principles to applications. *Sensors*. 2013;13(4):4170-91. DOI:10.3390/s130404170.
74. He X, Montague SJ, Tao X, et al. Quantifying embolism: label-free volumetric mapping of thrombus structure and kinesin in a microfluidic system with optical holography. *Adv Biosyst*. 2018;2(10):1800089. DOI:10.1002/adbi.201800089.
75. Ma Y, Guo S, Pan Y, et al. Quantitative phasemicroscopy with enhanced contrast and improved resolution through ultraoblique illumination (UO-QPM). *J Biophotonics*. 2019;12:e201900011. DOI:10.1002/jbio.201900011.
76. Scandola C, Erhardt M, Rinckel J-Y, et al. Use of electron microscopy to study megakaryocytes. *Platelets*. 2020;31(5):1-10. DOI:10.1080/09537104.2019.1708885.
77. Brown E, Carlin LM, Nerlov C, et al. Multiple membrane extrusion sites drive megakaryocyte migration into bone marrow blood vessels. *Life Sci Alliance*. 2018;1(2):e201800061. DOI:10.26508/lsa.201800061.
78. Eckly A, Rinckel J-Y, Proamer F, Gachet C. High-resolution 3D imaging of megakaryocytes using focused ion beam-scanning electron microscopy. *Methods Mol Biol*. 2018;1812:217-31. DOI:10.1007/978-1-4939-8585-2\_13.
79. Engberts KB, Seinen C, Geerts WJC, Heijnen HFG. Electron tomography and correlative approaches in platelet studies. *Methods Mol Biol*. 2018;1812:55-79. DOI:10.1007/978-1-4939-8585-2\_4.
80. Mickoleit M, Schmid B, Weber M, et al. High-resolution reconstruction of the beating zebrafish heart. *Nat Methods*. 2014;11(9):919. DOI:10.1038/nmeth.3037.
81. Glaser AK, Chen Y, Yin C, et al. Multidirectional digital scanned light-sheet microscopy enables uniform fluorescence excitation and contrast-enhanced imaging. *Sci Rep*. 2018;8(1):13878. DOI:10.1038/s41598-018-32367-5.
82. Schermelleh L, Ferrand A, Huser T, et al. Super-resolution microscopy demystified. *Nat Cell Biol*. 2019;21(1):72-84. DOI:10.1038/s41556-018-0251-8.
83. Rönnlund D, Xu L, Perols A, et al. Multicolor fluorescence nanoscopy by photobleaching: concept, verification, and its application to resolve selective storage of proteins in platelets. *ACS Nano*. 2014;8(5):4358-65. DOI:10.1021/nn406113m.
84. Vicidomini G, Bianchini P, Diaspro A. STED super-resolved microscopy. *Nat Methods*. 2018;15(3):173. DOI:10.1038/nmeth.4593
85. Bergstrand J, Xu L, Miao X, et al. Super resolution microscopy can identify specific protein distribution patterns in platelets incubated with cancer cells. *Nanoscale*. 2019;11(20):10023-33. DOI:10.1039/C9NR01967G.
86. Poulter NS, Pollitt Y, Davies A, et al. Platelet actin nodules are podosome-like structures dependent on Wiskott-Aldrich syndrome protein and ARP2/3 complex. *Nat Commun*. 2015;6:7254. DOI:10.1038/ncomms8254.
87. Kahr WHA, Pluthero FG, Elkadri A, et al. Loss of the Arp2/3 complex component ARPC1B causes platelet abnormalities and predisposes to inflammatory disease. *Nat Commun*. 2017;8:14816. DOI:10.1038/ncomms14816.
88. Miklosi AG, Del Favero G, Marko D, et al. Resolution matters: correlating quantitative proteomics and nanoscale-precision microscopy for reconstructing synapse identity. *Proteomics*. 2018;18(14):1800139. DOI:10.1002/pmic.201800139.
89. Paniccia R, Priora R, Liotta AA, Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag*. 2015;11:133-48. DOI:10.2147/VHRM.S44469.
90. Khan H, Jain S, Gallant RC, et al. Plateletworks® as a Point-of-Care Test for ASA Non-Sensitivity. *J Pers Med*. 2021;11(8):813. DOI:10.3390/jpm11080813.
91. Anaya R, Rodriguez M, Gil JM, et al. Correlation between PlateletWorks® and PFA-100® for Measuring Platelet Function before Urgent Surgery in Patients with Chronic Antiplatelet Therapy. *J Clin Med*. 2021;10(2):255. DOI:10.3390/jcm10020255.
92. Zhang Y, Fan D, Qiao S, Hu H. Verifynow P2Y12 PRU-Guided Modification of Clopidogrel for Prevention of Recurrent Ischemic Stroke: A Real-World Prospective Cohort Study. *Neurol Ther*. 2022;11(4):1749-1766. DOI:10.1007/s40120-022-00406-z.
93. Favaloro EJ. Clinical utility of the PFA-100. *Semin Thromb Hemost*. 2008;34(8):709-33. DOI:10.1055/s-0029-1145254.
94. Favaloro EJ. Clinical application of the PFA-100. *Curr Opin Hematol*. 2002;9(5):407-15. DOI:10.1097/00062752-200209000-00004.
95. Harrison P. The role of PFA-100 testing in the investigation and management of haemostatic defects in children and adults. *Br J Haematol*. 2005;130(1):3-10. DOI:10.1111/j.1365-2141.2005.05511.x.
96. Hayward CP, Harrison P, Cattaneo M, et al. Platelet Physiology Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. *J Thromb Haemost*. 2006;4(2):312-9. DOI:10.1111/j.1538-7836.2006.01771.x.
97. Savion N, Varon D. Impact—the cone and plate(let) analyzer: testing platelet function and anti-platelet drug response. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2006;35(1-2):83-8. DOI:10.1159/000093548.

98. Aradi D, Storey RF, Komócsi A, et al. Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*. 2014;35(4):209-15. DOI:10.1093/eurheartj/eh3375.
99. Hardy M, Dupuis C, Dincq AS, et al. Reduction of Preoperative Waiting Time before Urgent Surgery for Patients on P2Y12 Inhibitors Using Multiple Electrode Aggregometry: A Retrospective Study. *J Clin Med*. 2020;9(2):424. DOI:10.3390/jcm9020424.
100. Frelinger AL 3rd, Gachet C, Mumford AD, et al. Laboratory monitoring of P2Y12 inhibitors: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost*. 2018;16(11):2341-2346. DOI:10.1111/jth.14282.
101. Mahla E, Tantry US, Prüller F, Gurbel PA. Is There a Role for Preoperative Platelet Function Testing in Patients Undergoing Cardiac Surgery During Antiplatelet Therapy? *Circulation*. 2018;138(19):2145-2159. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035160.
102. Daidone V, Barbon G, Cattini MG, et al. Usefulness of the Total Thrombus-Formation Analysis System (T-TAS) in the diagnosis and characterization of von Willebrand disease. *Haemophilia*. 2016;22:949-956.
103. Minami H, Nogami K, Ogiwara K, et al. Use of a microchip flow-chamber system as a screening test for platelet storage pool disease. *Int J Hematol*. 2015;102(2):157-62. DOI:10.1007/s12185-015-1819-8.
104. Al Ghaithi R, Mori J, Nagy Z, et al. Evaluation of the Total Thrombus-Formation System (T-TAS): application to human and mouse blood analysis. *Platelets*. 2019;30(7):893-900. DOI:10.1080/09537104.2018.1535704.
105. Arima Y, Kaikita K, Ishii M, et al. Assessment of platelet-derived thrombogenicity with the total thrombus-formation analysis system in coronary artery disease patients receiving antiplatelet therapy. *J Thromb Haemost*. 2016;14(4):850-9. DOI:10.1111/jth.13256.
106. Hosokawa K, Ohnishi T, Miura N, et al. Antithrombotic effects of PAR1 and PAR4 antagonists evaluated under flow and static conditions. *Thromb Res*. 2014;133(1):66-72. DOI:10.1016/j.thromres.2013.10.037.
107. Oimatsu Y, Kaikita K, Ishii M, et al. Total Thrombus-formation Analysis System Predicts Periprocedural Bleeding Events in Patients With Coronary Artery Disease Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(4):e005263. DOI:10.1161/JAHA.116.005263.
108. Bunimov N, Fuller N, Hayward CP. Genetic loci associated with platelet traits and platelet disorders. *Semin Thromb Hemost*. 2013;39(3):291-305. DOI:10.1055/s-0033-1334466
109. Bianchi E, Norfo R, Pennucci V, et al. Genomic landscape of megakaryopoiesis and platelet function defects. *Blood*. 2016;127(10):1249-59. DOI:10.1182/blood-2015-07-607952.
110. Snoep JD, Gaussem P, Eikenboom JC, et al. The minor allele of GP6 T13254C is associated with decreased platelet activation and a reduced risk of recurrent cardiovascular events and mortality: results from the SMILE-Platelets project. *J Thromb Haemost*. 2010;8(11):2377-84. DOI:10.1111/j.1538-7836.2010.04018.x.
111. Collet JP, Thiele H, Barbato E, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2021;42(14):1289-1367. DOI:10.1093/eurheartj/ehaa575.
112. Le Blanc J, Mullier F, Vayne C, Lordkipanidzé M. Advances in Platelet Function Testing-Light Transmission Aggregometry and Beyond. *J Clin Med*. 2020;9(8):2636. DOI:10.3390/jcm9082636.
113. Christie D. Platelet Function Testing by Aggregometry; Approved Guideline. *Clin Lab Stand Inst*. 2008;58:17-19.
114. Hayward CP, Moffat KA, Raby A, et al. Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry. *Am J Clin Pathol*. 2010;134(6):955-63. DOI:10.1309/AJCP9V3RRVNZMKDS.
115. Harrison P, Mackie I, Mumford A, et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol*. 2011;155(1):30-44. DOI:10.1111/j.1365-2141.2011.08793.x.
116. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P, et al. Recommendations for the Standardization of Light Transmission Aggregometry: A Consensus of the Working Party from the Platelet Physiology Subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost*. 2013;11:1183-1189. DOI:10.1111/jth.12231.
117. Alessi MC, Payrastre B, Sié P. Intérêt et limites des tests d'agrégation pour le diagnostic des anomalies fonctionnelles plaquettaires constitutionnelles (in French). [Strengths and weaknesses of platelet aggregation in diagnosis of hereditary platelet disorders] *Hématologie*. 2017;23:298-311. DOI:10.1684/hma.2017.1299.
118. Alessi MC, Sié P, Payrastre B. Strengths and Weaknesses of Light Transmission Aggregometry in Diagnosing Hereditary Platelet Function Disorders. *J Clin Med*. 2020;9(3):763. DOI:10.3390/jcm9030763.