

УДК 612.115.38 + 62-713.1

ИССЛЕДОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ РАЗНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ

В.П. Берест, С.В. Гаташ, О.Т. Николов

Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, 61077

Поступила в редакцию 15 февраля 2010 года

Принята 28 октября 2010 года

В данной работе описаны термомеханические изменения стандартного прибора для исследования агрегации тромбоцитов, которые позволяют проводить исследования функции тромбоцитов при температурах отличных от комнатной; применение усовершенствованного агрегометра для измерения индуцированной агрегации тромбоцитов; использование температурно-агрегационных данных для установления механизма функционирования тромбоцитов при температурах ниже и выше комнатной, и возможности использования результатов, полученных таким образом, для дальнейшего исследования функции тромбоцитов при разных температурах, особенно в контексте практики переливания крови и исследования определенных клинических ситуаций.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тромбоциты, агрегация, температура, метод светорассеяния, термостабилизация.

PLATELET AGGREGATION ASSAYS AT DIFFERENT TEMPERATURES

V.P. Berest, S.V. Gatash, O.T. Nikolov

Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., 61077; berest@univer.kharkov.ua

Received February 15, 2010

Accepted October 28, 2010

In this paper, we describe thermomechanical changes in the standard instrument for the study of platelet aggregation, which allow studying platelet function at temperatures different from ambient temperature. Application of advanced aggregometer enables measurement of induced platelet aggregation at a temperature range from 4 to 40 °C and use of the temperature dependence of aggregation data to interpret mechanisms of platelet thermophysiology. Perspectives and relevance of this approach for further inquiry of platelet function at different temperatures is discussed particularly pertaining to blood transfusion practices and study of certain clinical situations.

KEY WORDS: platelet aggregation, temperature, light transmission aggregometry, temperature control.

ДОСЛІДЖЕННЯ АГРЕГАЦІЇ ТРОМБОЦИТІВ ПРИ РІЗНИХ ТЕМПЕРАТУРАХ

В.П. Берест, С.В. Гаташ, О.Т. Ніколов

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, 61077

Описано термомеханічні зміни стандартного приладу для дослідження агрегації тромбоцитів, які дозволяють проводити дослідження функції тромбоцитів при температурах відмінних від кімнатної; застосування удосконаленого агрегометра для вивчення індукованої агрегації тромбоцитів; використання температурно-агрегационних даних для встановлення механізму функціонування тромбоцитів при температурах нижче і вище кімнатної, та можливості використання результатів, отриманих таким чином, для подальшого дослідження функції тромбоцитів при різних температурах, особливо в контексті практики переливання крові та дослідження певних клінічних ситуацій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: тромбоцити, агрегация, температура, метод світлорозсіювання, термостабілізація.

Тромбоциты играют первичную роль в остановке кровотока при повреждении сосудистой стенки. Все наследственные и приобретенные нарушения деятельности тромбоцитов приводят к характерным изменениям в агрегации, выявление и дифференциальная диагностика которых возможны на основании анализа агрегационных кривых. Агрегационные исследования тромбоцитов при определении функции тромбоцитов дают наиболее важную информацию [1].

Преимуществом агрегометрии является то, что нативные тромбоциты исследуются в условиях, приближающихся к физиологическим, в собственном микроокружении, при постоянной температуре (37°C) и при постоянной скорости перемешивания (“кровообращение”). Метод является простым, быстро проводимым, поэтому, понятно его распространение. В настоящее время агрегометр является необходимым в ежедневной клинической практике для профилактического обследования больных с кровоточивостью, наряду с этим дает возможность лабораторного исследования повышенной агрегационной склонности тромбоцитов, а также является хорошим методом в клинической научно-исследовательской работе (например, при исследовании действия лекарственных препаратов на тромбоциты) [2]. Возможна адаптация метода изучения агрегации для экспресс-теста у пациента в палате применения [3].

Суть метода агрегометрии заключается в регистрации оптической плотности обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) до и после добавления индуктора агрегации. Изменение оптической плотности в процессе агрегации тромбоцитов происходит вследствие склеивания клеток друг с другом и уменьшения общей рассеивающей поверхности [4].

Изучение агрегации тромбоцитов обычно проводится при 37°C. Однако при гипотермии во время определенных хирургических операций (например, сердечно-легочное отведение) гемокоагуляция осуществляется при температуре ниже 37°C [5]. С другой стороны температура хранения концентрата тромбоцитов (20-24°C) значительно ниже 37°C, а функциональная активность хранившихся клеток отличается от таковой свежeweделенных [6]. При исследовании функциональной активности хранившихся тромбоцитов обычная температура измерения (37°C) будет вызывать изменения в тромбоцитах вдобавок к тем, которые уже были индуцированы температурой хранения [10]. Поэтому рассмотрение агрегации тромбоцитов при температурах ниже 37°C может быть уместным.

Ранее нами было показано, что зависимость функциональной активности тромбоцитов от температуры имеет экстремальный характер [7]. Максимальная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов наблюдается при 18-22°C, а скорость процессов связанных с образованием агрегатов максимальна при температурах 30-34°C.

Следует также учитывать обратимость эффектов охлаждения-нагрева (недостаточно количественно определяемых) [8]. Скорости изменений функции тромбоцитов при изменении температуры могут меняться для образцов крови различных индивидуумов [9]. Поэтому следует тщательно выбирать промежуток времени, необходимый для завершения переходных процессов охлаждения-нагрева и установления равновесия в системе.

Недостаток оборудования, дающего возможность проведения соответствующих невозмущающих измерений функции тромбоцитов при постоянно поддерживаемой температуре в области 4-40°C, пока не допускал точного подтверждения и определения этих явлений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Модификация установки для исследования агрегации при разных температурах

При исследовании температурной зависимости агрегации были внесены изменения в общепринятую [11] установку для изучения агрегации тромбоцитов. Центральным компонентом является специально разработанный термостабилизированный кожух держателя кюветы, (именуемый в дальнейшем “термостабилизированная кювета”),

обеспечивающий управление температурой блока кювет в области 4-50°C. (Рис. 1). Циркулирующая вода качается ультра термостатом “Medingen” (Германия), определяя температуру измерения. Оптическая плотность ОТП до и после добавления индуктора агрегации измеряется с помощью фотоэлектроколориметра ФЭК-М (с зеленым светофильтром, максимум пропускания 540 нм), а изменение оптической плотности регистрируется автоматическим потенциометром ЭПП-09 М. Суспензия клеток в кювете перемешивается механической мешалкой с постоянно скоростью 1000 об/мин. Мешалка представляет собой лопатку из нержавеющей стали шириной 1 мм. После помещения образца в кювету температура исследуемого образца измеряется термопарой медь-константан, с точностью $\pm 0,1^\circ\text{C}$.

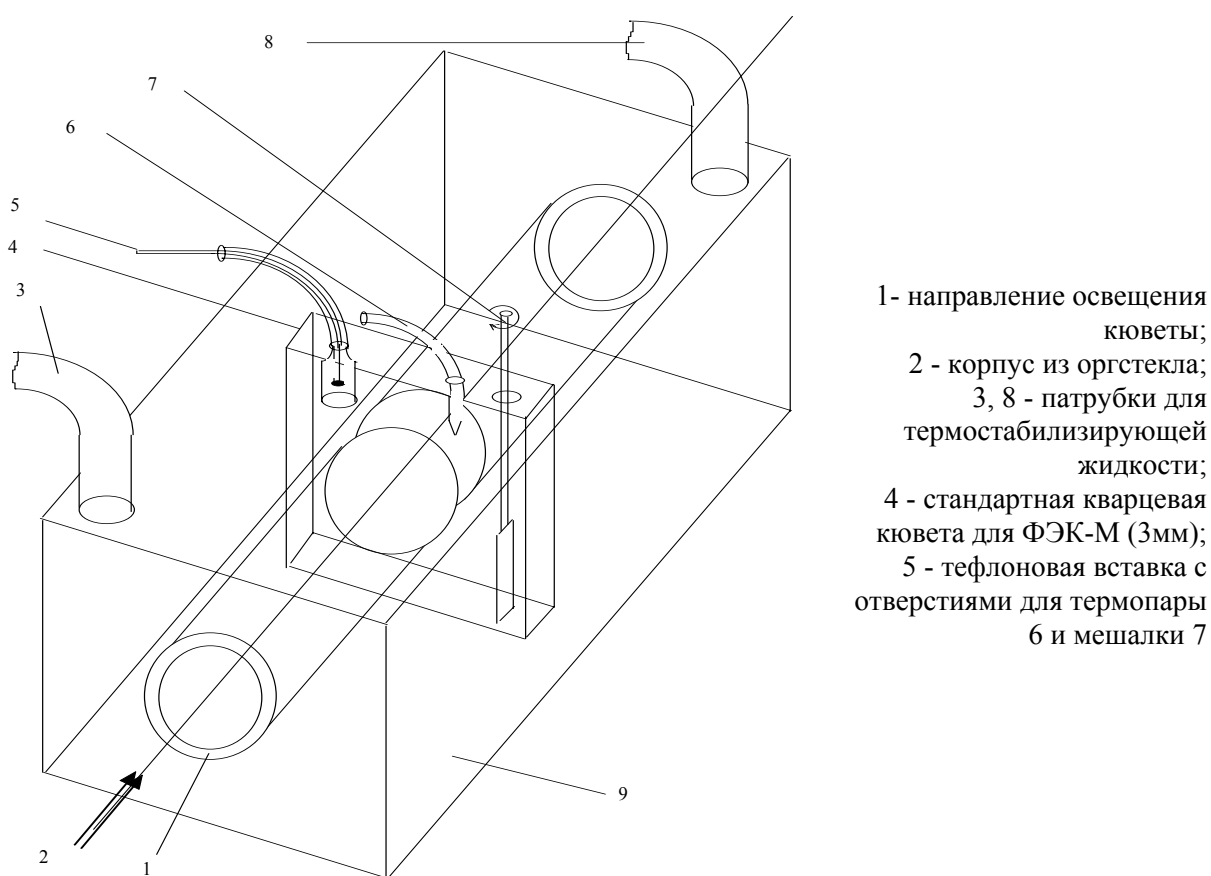


Рис.1. Эскиз термостабилизированной кюветы:

В процессе создания новой установки мы учли опыт переоборудования стандартного агрегометра [8, 9]. Однако описанный “омывающий агрегометр”, являясь модификацией зарубежного, недоступного для отечественных лабораторий агрегометра, имеет на наш взгляд еще и ряд недостатков. В частности отсутствует прямое измерение температуры образца (измеряется температура термостабилизирующей жидкости), равновесная температура устанавливается долго из-за трехслойности кюветодержателя (кожух-держатель-кювета) и наличия воздушного зазора между кюветой и держателем.

В разработанной нами термостабилизированной кювете эти недостатки были устранены. Температура образца измерялась термопарой медь-константан с точностью $\pm 0,1^\circ\text{C}$, помещавшейся прямо в кювету во время измерения. Быстрая теплопередача

достигалась благодаря тому, что термостабилизирующая жидкость омывала непосредственно оптическую кювету с исследуемым образцом. Кювета и кожух выполнены в виде неразъемного блока.

Благодаря большей скорости теплообмена между образцом в кювете и термостабилизирующей жидкостью сократилось общее время исследования. Это позволило провести измерение температурной зависимости агрегации в области 4-40°C с шагом 4°C (в отличие от 6,5°C в [9]) и не прибегать к линеаризации отдельных участков температурной зависимости параметров агрегации для нахождения максимума (“оптимальной температуры агрегации”). По 10 точкам проводили плавную кривую, укладываемую в пределы погрешности.

Стабилизация образца при температуре измерения проводилась в течение не менее чем 5 минут. Предварительная инкубация тромбоцитов осуществлялась в термостате. Аликвоты ОТП и индуктора в отдельных пластиковых пробирках помещались в штатив, погруженный в воду.

Использование второй идентичной термостабилизированной кюветы (для которой выполнена своя калибровка) позволяет ускорить эксперимент в 1,5 раза. Особенно уместным является ее применение при параллельном изучении температурной зависимости агрегации тромбоцитов разных доноров или индуцированной разными агонистами.

Для работы с малым количеством образца предусмотрена возможность уменьшения в 2 раза объема исследуемой ОТП. Для этого используется тефлоновая вставка, обеспечивающая расположение образца только в области кюветы, освещаемой пучком света.

В работе [9] для предотвращения конденсации паров воды на оптической части кюветы при температурах ниже комнатной использовалось охлаждение всего оборудования: источника света, блока кювет и фотоприемника. В нашем приборе конденсации на поверхности кюветы не наблюдалось при температуре 4°C благодаря оседанию влаги на длинных стенках кожуха, образующих отверстие для освещения кюветы.

Основным, на наш взгляд, преимуществом описываемой установки является то, что она собрана из стандартных блоков, имеющих в отечественных лабораториях, а термостабилизированный кожух кюветодержателя может быть легко изготовлен в мастерской собственными силами персонала.

Приготовление образцов исследования

В опытах использовалась кровь 30 здоровых доноров обоих полов. Обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП) выделялась из крови, стабилизированной глюгициром 4:1, путем центрифугирования в течение 10 минут при 167 g, а бестромбоцитарная плазма – центрифугированием плазмы, обогащенной тромбоцитами 15 минут при 1100 g [].

Каждая серия измерений проводилась с использованием набора образцов, приготовленных из одной и той же пробы крови, чтобы свести к минимуму влияние индивидуальных особенностей тромбоцитов и состава плазмы крови доноров. Агрегацию тромбоцитов вызывали следующимим индукторами: АДФ (“Reanal”, Венгрия), адреналин (“Gedeon Richter”, Германия), тромбин (“Simko”, Украина), ристомицин (“Reanal”, Венгрия) в различных концентрациях.

В нашем исследовании, в отличие от [8, 9] использовано большее количество доноров и другой антикоагулянт, применяемый в отечественной практике гемотрансфузиологии.

Агрегация тромбоцитов исследовалась методом светорассеяния [11] в интервале температур 4-40°C. По кинетическим кривым оптической плотности определяли

степень агрегации, как максимальную величину изменения оптической плотности, и скорость агрегации по тангенсу угла наклона касательной к кривой на полувысоте. Агрегацию измеряли через 4°C, это объясняется длительностью эксперимента, а также тем, что стабильные воспроизводимые результаты можно получить в течение первых 6 часов после забора крови.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение размера агрегата по данным изменения оптической плотности

Взвеси клеток, бактерий или клеточных органелл представляют собой оптически неоднородные среды, содержащие сравнительно крупные частицы. В отличие от растворов молекул, взвешенные частицы являются в этом случае в большей мере рассеивающими, чем поглощающими. Все это накладывает определенные ограничения на применимость оптических законов светорассеяния и светопоглощения.

Для клеточных взвесей при небольших концентрациях зависимость светопропускания (или оптической плотности) от концентрации клеток подчиняется закону Бэра:

$$D = kCl, \quad (1)$$

где k – константа, зависящая от длины волны света и оптических свойств среды, C – концентрация клеток, l – толщина слоя среды, вдоль направления луча света.

Уравнение (2) справедливо для клеточных суспензий, когда $D < 1$ []. Для однородных частиц может быть применен закон Бугера-Ламберта-Бэра, связывающий интенсивность падающего (I_0) и прошедшего (I) света:

$$I = I_0 e^{-\varepsilon Cl}, \quad (2)$$

где ε – коэффициент экстинкции (поглощения). Тогда оптическая плотность

$$D = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon Cl \quad (3)$$

Однако в случае клеточных взвесей, ввиду большой рассеивающей способности, изменение оптической плотности будет кажущимся, и можно говорить о некотором эквиваленте – эффективной оптической плотности среды. Выражение (3) можно заменить аналогичным:

$$D = \ln \frac{I_0}{I} = SlC, \quad (4)$$

где S – эффективное сечение частиц, на котором происходит поглощение и рассеяние света.

При агрегации тромбоцитов концентрация клеток в пробе не изменяется, но происходит постепенное укрупнение взвешенных в плазме частиц, что должно приводить к увеличению светопропускания, вследствие уменьшения поглощающей и рассеивающей поверхности.

Светопропускание клеточной суспензии, регистрируемое фотометрическими приборами, определяется, в основном, поглощением и рассеянием света клеточными поверхностями. Поскольку учет рассеянного света в такой неоднородной среде весьма сложен, то наблюдаемое изменение интенсивности прошедшего света удобно характеризовать величиной кажущейся (“эффективной”) оптической плотности, которая может определяться как

$$D_{\text{пр}} = D_{\text{погл}} + D_{\text{рас}} \quad (5)$$

Зависимость $D_{\text{пр}}$ от концентрации тромбоцитов в пределах $(80-900) \cdot 10^3$ клеток/мм³ (разбавление проводилось плазмой одного и того же донора), полученная с помощью

ФЭК-М, носит линейный характер, что согласуется с данными авторов [12, 13]. Следовательно, в этом случае выполняется закон Бэра, и для оценки эффективной оптической плотности суспензии тромбоцитов можно применять уравнение (4), где S будет иметь смысл эффективного сечения рассеяния и поглощения света тромбоцитами.

Считая, что аддитивность закона Бугера-Ламберта-Бэра по отношению к присутствующим в растворе веществам можно распространить и на суспензию тромбоцитов в плазме, то тогда оптическая плотность такой системы может определяться выражением

$$D = D_{nl} + D_{mp}, \quad (6)$$

или

$$D = S_{nl} C_{nl} l + S_{mp} C_{mp} l, \quad (7)$$

где D_{nl} и D_{mp} – оптическая плотность плазмы и тромбоцитов, соответственно; S_{nl} и S_{mp} – эффективное сечение рассеивающих частиц плазмы и тромбоцитов; C_{nl} и C_{mp} – концентрация частиц плазмы и клеток в суспензии. Здесь и далее под оптической плотностью будем понимать эффективную (кажущуюся) оптическую плотность.

Поскольку клетки вносят основной вклад в величину оптической плотности суспензии тромбоцитов в плазме, хотя их объемная доля при нормальной концентрации $(2-4) \cdot 10^5$ клеток/мм³ составляет менее одного процента, то оптическая плотность, выраженная уравнением (7), при вариации концентрации тромбоцитов в больших пределах, будет определяться величиной второго слагаемого. При этом можно считать, что $D_{nl} = \text{const}$. Величину оптической плотности плазмы легко определить прямым измерением для каждого образца крови или экстраполируя график зависимости оптической плотности от концентрации тромбоцитов в плазме.

При агрегации тромбоцитов происходит укрупнение взвешенных в плазме частиц и, соответственно, уменьшается их количество. Для выяснения закономерности изменения оптической плотности при агрегации тромбоцитов (степени агрегации) от концентрации клеток проводили регистрацию светопропускания образцов плазмы с различной концентрацией тромбоцитов при воздействии большой дозы АДФ (20 мкг/мл). С увеличением концентрации тромбоцитов увеличивается как относительное изменение величины оптической плотности образцов (степень), так и скорость этого изменения. Однако зависимость относительного изменения оптической плотности при агрегации от начальной концентрации тромбоцитов носит нелинейный характер, что совпадает с результатами [13]. Это свидетельствует о том, что с изменением концентрации тромбоцитов, при одном и том же индуцирующем агрегацию воздействии, образуются агрегаты различных размеров.

Для наблюдения процесса агрегации тромбоцитов суспензию клеток в кювете перемешивают со сравнительно большой скоростью (≈ 10 с⁻¹). Зависимость образования межклеточных связей от скорости потока, в котором находятся клетки, исследована с помощью моделей в работе [14]. Поскольку рецепторы на мембране тромбоцита, спомощью которых устанавливаются связи между клетками, расположены равномерно по всей клеточной поверхности, а сами активированные тромбоциты имеют шарообразную форму, то и образующиеся агрегаты, вероятно, будут иметь форму близкую к шару. Учитывая, что скорости движения частиц сравнительно велики, а контактная поверхность сталкивающихся шарообразных агрегатов мала, можно полагать, что сила межклеточных связей будет недостаточной, чтобы удержать вместе два больших агрегата. Поэтому, должен преобладать процесс присоединения

отдельных тромбоцитов (или маленьких агрегатов из двух-трех клеток) к образовавшимся ранее сравнительно большим агрегатам.

По этим же причинам в стационарном состоянии при необратимой агрегации, когда практически все тромбоциты находятся в агрегатах, можно считать, что образовавшиеся стабильные агрегаты, будут незначительно отличаться по размерам.

На основании вышеизложенного рассмотрим модель образования агрегатов тромбоцитов, предполагающую, что в начальный момент процесса возникают некие центры агрегации (первичные агрегаты), что связано с неравномерной активацией тромбоцитов. Далее к ним последовательно присоединяются другие клетки активированные в более поздние сроки. Процесс завершается образованием примерно одинаковых по размерам агрегатов, в которые включены все имеющиеся в суспензии тромбоциты.

До начала агрегации оптическая плотность плазмы, содержащей тромбоциты в концентрации C_0 , будет определяться выражением

$$D_0 = D_{nl} + S_{mp} C_0 l \quad (8)$$

В процессе агрегации тромбоцитов оптическая плотность системы в момент времени t будет определяться тремя слагаемыми уравнения

$$D_t = D_{nl} + S_{mp} C_{mp} l + S_{agp} C_{agp} l, \quad (9)$$

где C_{mp} – концентрация одиночных тромбоцитов; C_{agp} – концентрация агрегатов; S_{agp} – эффективное сечение рассеяния и поглощения света агрегатом.

Концентрация одиночных тромбоцитов во время агрегации будет определяться выражением

$$C_{mp}(t) = C_0 - A(t)C_{agp}, \quad (10)$$

где $A(t)$ – количество тромбоцитов в одном агрегате.

Эффективное сечение рассеяния и поглощения света для частиц шарообразной формы будет пропорционально площади поверхности рассеивающих частиц или квадрату радиуса частицы. Следовательно, для тромбоцита

$$S_{mp} = \kappa r_{mp}^2, \quad (11)$$

где r_{mp} – средний радиус тромбоцита, κ – коэффициент пропорциональности, зависящий от оптических свойств частицы и единиц измерения.

Аналогичное выражение будет и для агрегата тромбоцитов, предполагая, что оптические свойства отдельных тромбоцитов и агрегатов идентичны.

Считая, что объем агрегата (V_{agp}) равен сумме объемов, входящих в него тромбоцитов, находим выражение для радиуса агрегата

$$r_{agp} = r_{mp} A^{1/3}. \quad (12)$$

$$S_{agp} = \kappa r_{mp}^2 A^{2/3}. \quad (13)$$

Окончательное выражение для оптической плотности в процессе агрегации тромбоцитов получим, подставив в уравнение (9) выражения из (10) и (13)

$$D_t = D_{nl} + \kappa r_{mp}^2 (C_0 - AC_{agp}) l + \kappa r_{mp}^2 A^{2/3} C_{agp} l. \quad (14)$$

Изменение оптической плотности при агрегации тромбоцитов, определяемое как $\Delta D = D_0 - D_t$, будет описываться уравнением, полученным после вычитания (14) из (8)

$$\Delta D = \kappa r_{mp}^2 l (A - A^{2/3}) C_{agp}. \quad (15)$$

Из этого уравнения следует, что изменение оптической плотности плазмы с тромбоцитами при агрегации определяется количеством тромбоцитов в агрегатах и концентрацией агрегатов. Однако в экспериментальных данных, приведенных выше,

показано, что при изменении концентрации тромбоцитов должно изменяться их количество в агрегатах, то есть A должно быть функцией начальной концентрации тромбоцитов C_0 .

В стационарном состоянии, при необратимой агрегации, когда все тромбоциты находятся в агрегатах, оптическая плотность системы будет определяться выражением

$$D_A = D_{nl} + S_{agr} C_{agr} l. \quad (16)$$

Этому случаю соответствует максимальное изменение оптической плотности для данного образца, которое будет описываться уравнением

$$\Delta D_{max} = D_0 - D_A = \kappa r_{mp}^2 l (C_0 - A_{max}^{2/3} C_{agr}) \quad (17)$$

где A_{max} – максимальное количество тромбоцитов в агрегате при необратимой агрегации.

Тогда концентрацию агрегатов можно определить как отношение C_0 / A_{max} при условии, что все агрегаты содержат одинаковое количество тромбоцитов

$$\Delta D_{max} = \kappa r_{mp}^2 l C_0 (1 - A_{max}^{-1/3}). \quad (18)$$

Из уравнения (19), зная начальную концентрацию тромбоцитов C_0 и величину изменения оптической плотности ΔD_{max} , можно определить среднее максимальное количество тромбоцитов в одном агрегате или средний максимальный размер агрегатов. Значение κ получаем из выражения (8) при помощи зависимости начальной оптической плотности ОТП от концентрации тромбоцитов (т.е. $D_0 = f(C_0)$). Величина A_{max} зависит от температуры, принимая максимальное значение при 20°C (рис. 2).

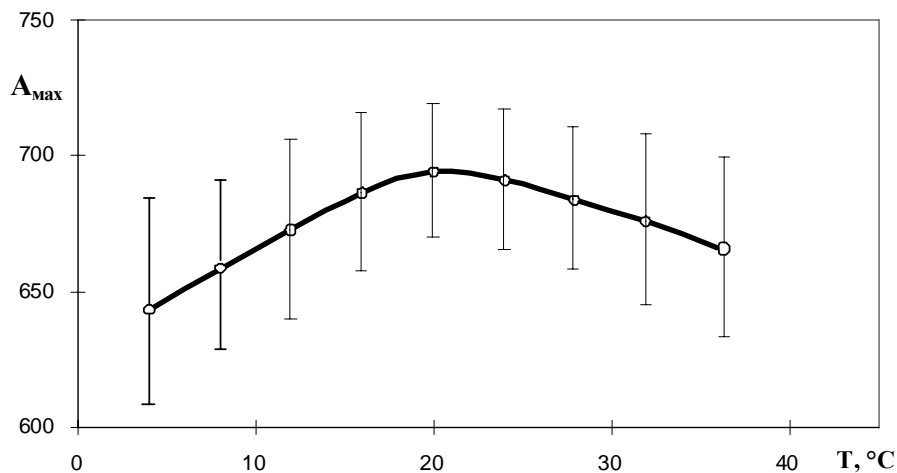


Рис. 2. Зависимость максимального количества тромбоцитов в агрегате от температуры. Приведены средние значения и средноквадратические отклонения для АДФ-индуцированной агрегации 11 доноров.

Предполагая, что в течение агрегации концентрация агрегатов в образце не изменяется, то есть количество “центров” агрегации, возникающих в начальный момент времени, постоянно, можно подставить в уравнение (15) вместо C_{agr} отношение C_0 / A_{max} . Тогда получим

$$\Delta D = \kappa r_{mp}^2 l C_0 \frac{A - A^{2/3}}{A_{max}}. \quad (19)$$

Уравнение (19) позволят получить связь между изменением оптической плотности плазмы с тромбоцитами в течение агрегации с количеством тромбоцитов в агрегатах. Зная C_0 и A_{\max} , для данного образца, можно получить функцию изменения количества тромбоцитов в агрегатах по результатам измерения величины изменения оптической плотности при агрегации.

Кривые агрегации значительно изменяются при разных экспериментальных температурах для всех индивидуумов. Для трех исследованных индукторов агрегации – АДФ, адреналина и тромбина зависимости степени и скорости агрегации от температуры имеют вид кривых с максимумом. Причем для каждого индуктора максимум скорости агрегации наблюдается всегда при большей температуре, чем максимум степени агрегации. Форма кривых, положение максимумов и их удаление друг от друга отличаются для разных индукторов. Так для АДФ максимум степени агрегации наблюдается при температуре 18-22°C, скорости - 30-34°C; адреналина – 18-22°C, 24-28°C; тромбина – 18-22°C, 22-26°C соответственно. Экстремальный характер зависимости параметров агрегации сохраняется при изменении скорости перемешивания суспензии тромбоцитов, количества клеток, что совпадает с результатами других исследователей [12, 13]. Вероятно, это свидетельствует о том, что частота столкновений тромбоцитов друг с другом не является лимитирующей стадией агрегации.

Наличие максимума у температурных зависимостей параметров агрегации, по-видимому, свидетельствует о существовании как минимум двух факторов, определяющих характер (форму) зависимости.

Показано, что модификация структурного состояния липидного бислоя оказывает влияние на температуру и “амплитуду” (величину) максимума температурной зависимости степени и скорости агрегации тромбоцитов [7]. Можно предположить, что увеличение степени и скорости агрегации при повышении температуры (от 4 до 20°C), по-видимому, определяется уменьшением микровязкости липидного бислоя и увеличением подвижности тромбоцитарных рецепторов. По-видимому, при этом ускоряются метаболические процессы, зависящие от текучести мембраны. Вероятно, это один из механизмов, определяющих экстремальный характер зависимости параметров агрегации тромбоцитов от температуры.

ВЫВОДЫ

1. Предложена модификация стандартного устройства для исследования агрегации тромбоцитов, позволяющая производить измерение агрегации тромбоцитов в интервале температур 4-40 °С.
2. При помощи описанной термоприставки изучена температурная зависимость агрегации тромбоцитов человека, индуцированная различными физиологическими агонистами. Сделано предположение о возможном механизме влияния температуры на агрегацию тромбоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Harrison P. Assessment of platelet function in the laboratory // *Haemostaseologie*. – 2009. - 29(1). – P. 25-31.
2. Collet J.P., Montalescot G. Platelet function testing and implications for clinical practice // *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* – 2009. - 14(3). – P. 157-69.
3. Perry D.J., Fitzmaurice D.A., Kitchen S., Mackie I.J., Mallett S. Point-of-care testing in haemostasis // *Br J Haematol.* – 2010. - 150(5). – P. 501-514.
4. Cattaneo M., Hayward C.P., Moffat K.A., Pugliano M.T., Liu Y., Michelson A.D. Results of a worldwide survey on the assessment of platelet function by light transmission aggregometry: a

- report from the platelet physiology subcommittee of the SSC of the ISTH // *J Thromb Haemost.* – 2009. - V. 6. – P. 1029.
5. Hall M.W., Hopkins R.O., Long J.W., Mohammad S.F., Solen K.A. Hypothermia-induced platelet aggregation and cognitive decline in coronary artery bypass surgery: a pilot study // *Perfusion.* – 2005. - 20(3). – P. 157-167.
 6. Volkova R.I., Balezina L.V., Agranenko V.A., Kompaniets A.M., Troshina V.M. Preservation of platelet concentrates isolated from platelet-enriched donor plasma // *Gematol Transfuziol.* – 1992. - 37(4). – P. 32-35.
 7. Berest V.P., Gatash S.V. Zalezhnist' agregatsii trombositiv vid temperaturi // *Fiziologichnyi zhurnal.* – 1998. – V. 44, N 5-6. – P. 89-94.
 8. Trenchard P.M., Jeffery D.M. Platelet thermophysiology: a new field of investigation dependent upon an improved sub-ambient platelet-aggregometer // *Clin. Phys. Physiol. Meas.* – 1989. - V. 10, N 1. - P. 65 - 74.
 9. Trenchard P.M. Sub-ambient measurement of platelet function: the requirements for modification of a standard platelet aggregometer // *J Med Eng Technol.* – 1988. -12(2). – P. 47-53.
 10. Booth T., Hayward M.M., Brewer M.D., Priday C., Trenchard P.M. Preparation of platelet concentrates after overnight hold at 20°C // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 1992. - 3(5). – P. 621-623.
 11. Samal' A.B., Cherenkevich S.N., Hmara N.F. Agregatsiya trombositov: Metody izucheniya i mehanizmy. - Minsk: Universitetskoe, 1990. - 104 p.
 12. Latimer P., Born G.V.R., Michal F. Application of light-scattering theory to the optical effects associated with the morphology of blood platelets // *Arch. Biochem. Biophys.* -1977-V.180. - P.151-159.
 13. Holme S., Murphy S. Quantative measurement of platelet shape by light transmission studies application to storage of platelets for transfusion // *J.Lab.Clin.Med.* – 1978 -V.92(1). - P. 53-64.
 14. Vrzhesch P.V., Verhusha V.V., Varfolomeev S.D. Uravnenie skorosti agregatsii trombositov // *Biofizika.* - 1990. - V. 35, vyp. 4. - P. 637-641.