**Департамент образования города Москвы**

**Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение города**

**Москвы «Школа №1505 «Преображенская»**

**Сравнительный анализ морфологических особенностей тромбоцитов при разных типах клеточной гибели.**

дипломная работа

ВЫПОЛНИЛА

ученик/ца \_\_\_\_\_\_\_\_\_10 “В”\_\_\_\_\_класса

Поликарпова София Павловна

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

Подоплелова Надежда Александровна

РЕЦЕНЗЕНТ

Ан Ольга Ильинична

Москва, 2019/2020 г.

**СОДЕРЖАНИЕ**

|  |  |
| --- | --- |
| ВВЕДЕНИЕ | **2** |
| ГЛАВА 1. Литературный обзор | **3** |
| 1.1. Строение тромбоцита | **3** |
| 1.2. Активация тромбоцита | 4 |
| 1.3. Адгезия и агрегация. Формирование тромба.  1.4.Некроз и апоптоз | 5  5 |
| ГЛАВА 2. Исследование | 7 |
| 2.1. Материалы и методы | 7 |
| 2.2. Результаты и обсуждение | 8 |
| 2.3. Выводы | 17 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 18 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | 19 |

**ВВЕДЕНИЕ**

Существуют разные типы клеточной гибели: апоптоз и некроз. Апоптоз – это регулируемый процесс программируемой клеточной гибели, в результате которого клетка распадается на отдельные апоптотические тельца, ограниченные плазматической мембраной. Второй по распространенности тип клеточной гибели - это некроз. Некроз характеризуется быстрым разбуханием клеток, разрывом плазматической мембраны и повреждением органелл. Несмотря на то, что тромбоциты - это безъядерные клетки, образованные от мегакариоцитов, для них также характерны эти два вида клеточной гибели, но при разных физиологических условиях. Физиологическая гибель тромбоцитов в организме происходит в двух основных случаях: при удалении клеток из кровотока из-за гибели в процессе старения, либо в процессе сверхактивации при формировании тромба. Кроме того, апоптоз может наблюдаться у клеток в тромбоконцентратах при хранении или у пациентов при химиотерапии

Проблема

Механизмы клеточной гибели тромбоцитов до конца не ясны. Несмотря на то, что изучением некроза и апоптоза занимаются уже более 30 лет до сих пор не определено точно, какой вид клеточной гибели относится к тромбоцитам.

Актуальность

Важно понимать механизм клеточной гибели и то, что происходит в тромбе во время его образования.

Это может понадобиться для:

1. разработки лекарств против тромбоза.

2. разработки лекарств для улучшения свертывания крови

3. увеличения срока хранения тромбоцитов в тромбоконцентрате

4. уменьшения количества погибших тромбоцитов при использовании химиотерапии.

На основании изложенного была сформулирована цель работы - сравнить внешний вид тромбоцитов, которые погибли с помощью некроза или апоптоза.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Научиться выделять тромбоциты из крови здорового донора

2. Научиться получать тромбоциты, погибшие с помощью некроза и апоптоза

3. Сравнить внешний вид тромбоцитов, которые погибли с помощью некроза от внешнего вида тромбоцитов, которые погибли с помощью апоптоза

Рабочая гипотеза: Тромбоциты, которые погибли с помощью апоптоза отличаются от тромбоцитов, которые погибли с помощью некроза или нет.

**Глава 1.**

**1.1. Строение тромбоцита**

Тромбоциты (от греческого θρόμβος, сгусток и κύτος, клетка) - специализированные безъядерные клетки крови, имеющие форму диска. В среднем, диаметр тромбоцита равен 3 мкм, а толщина около 0.5 мкм. Тромбоциты образуются в результате фрагментации мегакариоцитов. Продолжительность жизни тромбоцитов от 5 до 9 дней, после чего тромбоциты разрушаются в селезенке и печени. (рис. 1)

Строение тромбоцита.

1. Цитоплазматическая мембрана.

Цитоплазматическая мембрана представляет собой двойной слой из фосфолипидов. В цитоплазматической мембране находится открытая канальцевая система (многочисленные впячивания) она обеспечивает запас поверхности для изменения формы клетки.

1. Цитоскелет тромбоцитов представлен кольцом из тубулиновых микротрубочек, которое расположено на периферии клетки и разрушается в процессе активации, а также спектрином, который придает тромбоцитарной оболочке упругость
2. Эндоплазматический ретикулум

ЭПР-внутриклеточное депо свободный ионов кальция, которые необходимы тромбоцитам для выполнения их функций.

Строение ЭПР.

Выделяют два вида ЭПР:

1. Гранулярный (шероховатый) эндоплазматический ретикулум.
2. Агранулярный (гладкий) эндоплазматический ретикулум.

На поверхности гранулярного эндоплазматического ретикулума находится большое количество рибосом, которые отсутствуют на поверхности шероховатого ЭПР.

1. Митохондрии

Митохондрии отвечают за клеточное дыхание.

1. Плотная трубчатая система

Плотная трубчатая система выборочно связывает двухвалентные катионы, служит резервуаром кальция, местом синтеза тромбоцитарной циклооксигеназы и простагландинов.

1. Гликоген
2. Плотные гранулы и α-гранул

Гранулы содержат различные вещества, которые секретируются при активации тромбоцитов и необходимы для их агрегации. Плотные гранулы – электронно-микроскопически плотные частицы, которые содержат высококонцентрированный аденозин дифосфат (АДФ) и Ca2+, а также серотонин и другие медиаторы. α-гранулы являются самыми крупными (200-500 нм) и наиболее распространенными (50-80 штук на тромбоцит) гранулами. В α-гранулах содержатся факторы свертывания (фактор V, фактор Веллебранда), адгезионные белки (тромбоспондин, Р-селектин, фибриноген, фибронектин, витронектин), медиаторы воспаления и ангиогенеза (тромбоцитарный фактор 4, интерлейкин-8, тромбоцитарный фактор роста, трансформирующий фактор роста и фактор роста эндотелия сосудов). Кроме того, некоторые α-гранулы имеют небольшие пузырьки или экзосомы, которые содержат белок CD63

В тромбоцитах обычно содержится от 3 до 7 плотных гранул, что значительно меньше чем α-гранул.  В основном в плотных гранулах содержатся низкомолекулярные вещества. Например: АДФ, АТФ, кальция, магния серотонин. Из-за высокой концентрации этих веществ на электронномикроскопических фотографиях они имеют темный цвет.

Плотные гранулы играют важную роль в гемостазе, так как обеспечивают положительную обратную связь: АДФ, высвобождаемый из плотных гранул стимулирует рецептор P2Y12 и приводит к дополнительной активации тромбоцитов.

1. Лизосомы

В лизосомах содержатся кислые гидролазы (ферменты). Например: катепсины, галактозидаза, арилсульфатаза, кислая фосфатаза.  также там содержатся CD63, LAMP1 и LAMP2 Функции лизосом (в тромбоцитах) точно не известны, но считается, что лизосомы важны для внеклеточных функций.



Рисунок 1. Электронная микрофотография тромбоцитов.

Функции тромбоцитов

Основная функция тромбоцитов - остановка кровотечения из раны. Чтобы осуществить остановку кровотечения тромбоцит должен перейти в активное состояние.

**1.2 Активация тромбоцита**

Схема активации:

сигнал-рецептор-внутренний сигнал-усилитель-рецептор-ответ.

Сигналом называют появление в кровотоке специальной сигнальной молекулы (агонист).

Затем агонист связывается с хвостом рецептора, который находится снаружи клеточной мембраны, что приводит к изменению внутриклеточной части рецептора. В цитозоле появляется вторичный мессенджер - инозитолтрифосфат (ИФ3) и запускает синтез еще нескольких мессенджеров, а те еще нескольких. Так в цитозоле распространяется сигнал, который приводит к комплексному ответу тромбоцита.

Как активация происходит в организме человека

В сосудах тромбоциты движутся вдоль их стенок (так как их выталкивают эритроциты). Это дает тромбоцитам возможность проводить постоянную проверку состояния сосудистой стенки. Для того чтобы  активироваться тромбоцит должен получить определенный сигнал. Одним из таких сигналов (а точнее одним из первых сигналов) является коллаген, который является основным белком соединительной ткани. Тромбоциты прикрепляются только к месту повреждения из-за того, что кровь изолирована от коллагена эндотелием кровеносных сосудов, а при повреждении стенки сосуда происходить попадание коллагена в кровь и его обнаружение тромбоцитами. Существует несколько типов коллагена, но не все из них способны приводить к активации тромбоцитов. Стоит отметить, что не все типы коллагена при взаимодействии с тромбоцитами приводят к их активации.

В основном активация тромбоцита происходит из-за коллагена первого и второго типов. Существует три рецептора, которые отвечают за связывание с коллагеном.

1. интегрин α2β1 (отвечает за адгезию тромбоцитов, является сигнальным рецептором и участвует в активации клеток)
2. Гликопротеин VI (при взаимодействии с коллагеном, внутри клетки увеличивается концентрация кальция, происходит секреция гранул и на внешнем слое мембраны появляется фосфатидилсерин)
3. Гликопротеином Ib-V-IX, с которым коллаген взаимодействует через фактор Виллебранда

Вторым активатором тромбоцитов является тромбин. Тромбин-фермент, вызывающий тромбоз.

Тромбин играет важную роль не только в активации тромбоцитов, но и в свертывании крови так, как тромбин превращает фибриноген в фибрин. На мембране тромбоцита есть два рецептора для взаимодействия с тромбином: PAR1 и PAR4. Их активация происходит после отщепления фрагмента от N-конца. PAR1 реагирует быстрее чем PAR4 так как активируется более низкой концентрацией тромбина. Активация тромбоцитов тромбинов приводит к выбросу АТФ и АДФ, синтезу тромбоксана А2 и появлению фосфатидилсерина на внешнем слое мембраны.

Третьим активатором тромбоцитов является АДФ.

АДФ является слабым активатором, поэтому не приводит к появлению фосфатидилсерина на внешнем слое мембраны, но способствует синтезу и выбросу тромбоксана А2, а также выбросу плотных гранул (примерно 6%). Далее при попадании в плазму крови АДФ при помощи АДФазы или эритроцитов превращается в АМФ.

Четвертым активатором является АТФ, содержание которой ,в плотных гранулах, почти в два раза больше. АТФ является вспомогательной частицей при активации тромбоцита другими агонистами, но при этом АТФ может способствовать изменению формы тромбоцита, но не способна привести к агрегации.

Пятым активатором является тромбоксан А2

Тромбоксан А2 имеет вспомогательную функцию для более сильных активаторов. Из рецепторов тромбоксану А2 нужет лишь ТР-рецепров. При активации тромбоксаном А2 тромбоциты меняют свою форму, становятся способны к агрегации, повышается уровень внутриклеточного кальция, а также происходит фофсорилирование белков.

Обнаружив коллаген, тромбоцит связывается с ним через специальный рецептор, активируется и прикрепляется к месту повреждения сосуда. При этом взаимодействии в цитозоле появляется вторичный мессенджер. ИФ3 – это маленькая водорастворимая молекула, которая быстро передвигаясь в цитозоле, служит сигналом для выхода ионов кальция (ионы кальция находятся в внутриклеточных хранилищах). Повышенная концентрация ионов кальция может привести к различным ответам тромбоцита:

1. Выплескивание содержимого гранул (секреция)
2. Изменение формы
3. Прикрепление к стенке сосуда (адгезия)
4. Скрепление с другими тромбоцитами (агрегация)
5. Появление фосфатидилсерина на внешнем слое мембраны

Как только кровеносная система распознает повреждение сосуда, в крови появляется еще три активатора-тромбин (образуется из протромбина в плазме крови, но массово, только на мембранах уже активированных  тромбоцитов), АДФ (маленькая молекула, выполняющая в основном энергетическую функцию. Основная часть появляется при секреции из плотных гранул), тромбоксан А2(синтезируется из арахидиновой кислоты, появляется после активации тромбоцитов). При связывании этих активатором с рецепторами в цитозоле появляется ИФ3 (также, как и при активации коллагеном) и повышается концентрация кальция. Все эти растворимые активаторы и коллаген проходят по одному пути, но и итоге получаются разные тромбоцитарные ответы.

**1.3 Адгезия и агрегация. Формирование тромба**.

Адгезия- способность тромбоцитов прилипать к поврежденной стенке сосуда.

Агрегация- свойство тромбоцитов соединятся друг с другом.

Чтобы закрыть повреждение сосуда, тромбоцитам нужно прикрепиться к повреждению (адгезия), а затем соединиться друг с другом (агрегация). Тромбоциты, которые первыми прибыли к месту повреждения активируются и образуют первый слой тромба. К первому слою тромба присоединятся остальные тромбоциты, а щели между ними заполняются плазмой крови, которая желируется в результате реакции между факторами свертывания.

**1.4 Апоптоз и некроз**

Апоптоз – это совокупность типов клеточной смерти, объединенных морфологическими признаками и зависящих от специальных ферментов - каспаз. Апоптоз может запускаться снаружи с помощью рецепторов (внешний сигнал) и изнутри клетки с помощью подавления функционирования митохондрий (внутренний сигнал).

Апоптоз может запускаться снаружи если произошло воздействие на клетку с помощью факторов некроза опухолей альфа. Они связываются со специальными рецепторами на мембране клетки. Из-за этого начинается взаимодействие между адаптерами молекул с цитоплазматической частью соответствующего рецептора и это дает начало действиям внутриклеточных сигналов, главной частью которых является активация каспаз.

Апоптоз может пойти изнутри клетки если был ряд различных воздействий на клетку. Этот процесс регулируется через митохондрии. В результате подавления функций митохондрий, начинает происходить определенный ряд событий, который в итоге приводит к открытию митохондриальных пор. Из-за этого происходит выход белков, регулирующих апоптоз, из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль. Эта реакция приводит к активации каспаз, а в результате и к гибели клетки.

Некроз

Существует два виде некроза

1. Непрограммируемый некроз

Непрограммируемый некроз не является естественным путем гибели клеток. Для некроза характерно: быстрое разбухание клетки. Также некроз описывали, как результат сильного физико-химического воздействия на клетку. Имеются ввиду такие взаимодействия, как

* Нагревание
* Осмотический шок
* Механический стресс
* Замораживание и оттаивание
* Высокая концентрация перекиси водорода и др

Из-за таких условий клетка погибает очень быстро, что и позволило назвать данный процесс неконтролируемым.

       2. Программируемый некроз.

Программируемый некроз очень похож на апоптоз, но в программируемом некрозе отсутствуют цистеиновые протеиназы каспазы. Основным регулятором являются кеназы семейства RIP, которые, помимо некроптоза, могут встретиться в апоптозе.

Запуск программируемого некроза после активации рецептора его лигандом, RIP1-киназы связываются со специальными доменами активного рецептора и происходит фосфорилирование и запуск программы некроптоза.

**Глава 2 Исследование**

**Глава 2.1 Материалы и методы**

Методы

1. Выделение тромбоцитов из цельной крови

Цельная кровь отбиралась у здоровых доноров в вакуумные пробирки Vacuette, содержащие 3,2% цитрат натрия, после взятия пробирка аккуратно переворачивалась несколько раз для смешивания крови с цитратом. Сразу после в кровь добавляли простагландин Е1 (PGE1) (1 мкM) и апиразу (0,1 ед./мл), и центрифугировали при 100g в течение 8 минут при комнатной температуре.

После центрифугирования отбирали богатую тромбоцитами плазму (PRP), и в нее, для предотвращения агрегации клеток, в соотношении плазма:цитрат – 3:1 добавляли раствор цитрата натрия (106 мМ, рН 5,5). Затем, эту богатую тромбоцитами плазму (PRP) центрифугировали при 400g в течение 5 минут при комнатной температуре. После супернатант удаляли, осадок ресуспендировали в 300 мкл буфера Тироде (20 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 1 мМ MgCl2, 0,4 мМ NaH2PO4, 5 мМ глюкозы, 0.5% бычий сывороточный альбумин, pH 7,4).

Дальнейшую очистку тромбоцитов от белков плазмы проводили методом гель-хроматографии на сефарозе CL-2B.

2. Активация апоптоза в тромбоцитах

Тромбоциты после очистки методом гель-хроматографии стимулировали ABT737 (1 мкМ), в течение 60 минут при температуре 37°С в присутствии CaCl2 (2,5 мМ).

3.Активация некроза в тромбоцитах

В тромбоциты после отчистки добавляли А23187 и CaCl2 (2,5 мМ), перемешали и инкубировали в течении 5 минут при температуре 37°С.

4.Неактивированные тромбоциты

В тромбоциты после очистки добавляли CaCl2, перемешали и инкубировали в течении 5 минут при температуре 37°С.

После стимуляции к тромбоцитам добавляли Annexin V-Alexa647 (30 нМ), перемешивали и закачивали в проточную камеру. После этого, следовала 10 минутная инкубация. Несвязавшиеся клетки удаляли промыванием камеры буфером Тироде с CaCl2 (2,5 мМ). Тромбоциты фотографировали с помощью конфокального микроскопа Zeiss Axio Observer Z1.

**Глава 2.2 Результаты и обсуждение**

27-01-2020

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Апоптотические | Некротические | Неактивированные |
| 1.  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\16.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\16.2.JPG | 1.  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\04.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\04.2.JPG | 1.  E:\2020.01.27 ffff\non activ\09.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\non activ\09.2.JPG |
| 2.  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\17.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\17.2.JPG | 2.  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\05.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\05.2.JPG | 2.  E:\2020.01.27 ffff\non activ\10.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\non activ\10.2.JPG |
| 3.  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\18.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\18.2.JPG | 3.  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\06.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\06.2.JPG | 3.  E:\2020.01.27 ffff\non activ\11.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\non activ\11.2.JPG |
| 4.  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\19.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\19.2.JPG | 4.  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\07.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\07.2.JPG | 4.  E:\2020.01.27 ffff\non activ\12.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\non activ\12.2.JPG |
| 5.  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\21.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\21.2.JPG | 5.  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\08.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\necrotic\08.2.JPG | 5.  E:\2020.01.27 ffff\non activ\13.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\non activ\13.2.JPG |
| 6.  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\22.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\22.2.JPG |  | 6.  E:\2020.01.27 ffff\non activ\14.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\non activ\14.2.JPG |
| 7.  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\23.1`.JPG  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\23.2.JPG |  | 7.  E:\2020.01.27 ffff\non activ\15.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\non activ\15.2.JPG |
| 8.  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\24.1.JPG  E:\2020.01.27 ffff\apoptotic\24.2.JPG |  |  |

31-01-2020

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Апоптотические | Некротические | Неактивированные |
| 1.  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\14.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\14.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\14.3.JPG | 1.  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\03.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\03.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\03.3.JPG | 1.  E:\20.01.31 fffff\non active 1\09.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\09.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\09.3.JPG |
| 2.  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\15.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\15.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\15.3.JPG | 2.  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\04.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\04.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\04.3.JPG | 2.  E:\20.01.31 fffff\non active 1\10.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\10.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\10.3.JPG |
| 3.  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\16.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\16.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\16.3.JPG | 3.  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\05.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\05.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\05.3.JPG | 3.  E:\20.01.31 fffff\non active 1\11.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\11.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\11.3.JPG |
| 4.  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\17.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\17.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\17.3.JPG | 4.  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\06.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\06.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\06.3.JPG | 4.  E:\20.01.31 fffff\non active 1\12.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\12.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\12.3.JPG |
| 5.  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\19.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\19.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\apoptotic\19.3.JPG | 5.  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\07.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\07.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\necrotic 1\07.3.JPG | 5.  E:\20.01.31 fffff\non active 1\13.1.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\13.2.JPG  E:\20.01.31 fffff\non active 1\13.3.JPG |

Черно-белая фотография- все тромбоциты

Зеленый цвет- неактивированные тромбоциты

Красный цвет- активированные тромбоциты

**Выводы**

Морфологическое сравнение

1 Размер клеток

Неактивированные клетки больше по размеру, чем клетки погибшие в результате некроза или апоптоза. При этом некротические и апоптотические между собой практически не отличаются.

2 Форма клеток

И некротические, и апоптотические тромбоциты представляют собой клетки сферической формы размером порядка 4 мкм, способны связывать Аннексин V анти-CD61 (антитело к интегрину αIIbβ3). Сферическая форма, по-видимому, объясняется разрушенным актиновым и тубулиновым цитоскелетом и, как следствие, не способностью поддерживать более сложную форму, в отличие от неактивированных тромбоцитов

**Заключение**

В этой работе было исследовано морфологическое различие тромбоцитов при разных типах клеточной гибели. По результатам можно увидеть, что морфологически апоптотические тромбоциты ничем не отличаются от некротических.

При этих типах клеточной гибели тромбоциты имеют сферическую форму, диаметр около 4 мкм.

Следовательно, можно сделать вывод, что некроз тромбоцита можно отличить от апоптоза только химическим путем или отличием в протекающих, во время некроза и апоптоза, реакциях.

**Список литературы**

1.«Этот загадочный тромбоцит» А.О. Якименко, А.Н. Свешникова, Е.О. Артеменко, М.А. Пантелеев. Природа №2; 2014

Ссылка: https://e.mail.ru/attach/15879227031917667723/0%3B3/?folder-id=0&x-email=polikarpova\_sofia.net%40mail.ru

2.«Программируемая клеточная смерть тромбоцитов при их сверхактивности» Е.О. Артеменко, А.Н. Свешникова, М.А. Пантелеев. Онкогематология 3; 2014

Ссылка: https://ws.studylib.ru/doc/2348553/programmiruemaya-kletochnaya-smert.\_-trombocitov-pri-ih

3.«Особенности апоптоза безъядерных клеток: тромбоцитов и эритроцитов человека.» Н.И. Рукояткина, И.В. Миндукшев, И.А. Добрылко, Е.А. Скверчинская, Е.Р. Никитина, В.В. Кривошлык, С.П. Гамбарян, А.И. Кривченко. Российский физеологический журнал им. И. М. Сеченова; 2013

Ссылка: https://e.mail.ru/attach/15879227031917667723/0%3B1/?folder-id=0&x-email=polikarpova\_sofia.net%40mail.ru

4.«Взаимодействие факторов свертывания крови с субпопуляциями активированных тромбоцитов» Н.А. Подоплелова

Ссылка:https://click.mail.ru/redir?u=https%3A%2F%2Fyadi.sk%2Fi%2FFt0r82xFcK9MGQ&c=swm&r=http&o=mail&v=2&s=6ff0eef7885097da

5.«Сравнительная характеристика апоптоза тромбоцитов, вызываемого ингибитором BCL-2 и активаторами тромбоцитов.» Н.И. Рукояткина, И.В. Миндукшев, Ю.С. Судницина, М.Ф. Баллюзек, А.И. Кривченко, С.П. Гамбарян. Российский физеологический журнал им. И. М. Сеченова; 2016

Сылка: https://e.mail.ru/attach/15879227031917667723/0%3B2/?folder-id=0&x-email=polikarpova\_sofia.net%40mail.ru