

## КОАГУЛОЛОГИЯ

© А. И. МИНИНКОВА, 2012

УДК 615.471.03:616.155.25-074

А. И. Мининкова

**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ В ОЦЕНКЕ ТРОМБОЦИТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Кафедра клинической лабораторной диагностики РМАПО, Москва

*В статье обсуждены параметры оценки активности тромбоцитов, определяемые на гематологических анализаторах. Представлены методы их определения на таких приборах, как XE-5000, XE-2100 ("Sysmex"), LH750, 780, UniCel® DxH™ 800 ("Beckman Coulter"), Advia 120, 2120 ("Siemens"). Обсуждается зависимость нормальных значений данных показателей от возраста и пола. Отдельная часть посвящена особенностям преаналитического этапа, таким как влияние различных антикоагулянтов, используемых для стабилизации крови, времени и условий хранения проб до начала исследования на результаты анализа. Подробно изложена клиническая значимость каждого тромбоцитарного параметра в отдельности (MPV, PDW, PCT, MPC, MPM, L-PLT, IPF, PCDW, PMDW). Отмечена актуальность данных методов для оценки тромбоцитов в настоящее время.*

**Ключевые слова:** тромбоциты, гематологические анализаторы, тромбоцитарные параметры

A.I. Mininkova

## THE ANALYTICAL POSSIBILITIES OF HEMATOLOGIC ANALYZERS IN EVALUATION OF THROMBOCYTES: A LITERATURE REVIEW

*The article discusses the parameters of evaluation of thrombocytes activity detected by hematologic analyzers. The techniques of parameters detection are presented using such devices as XE-5000, XE-2100 (Sysmex), LH750, 780, UniCel® DxH™ 800 (Beckman Coulter), Advia 120, 2120 (Siemens). The dependence of normal values of these indicators from age and gender are discussed. A single part is dedicated to such characteristics of pre-analytical stage as impact of different anticoagulants used to stabilize blood, time and conditions of storage of samples before beginning of study of analysis results. The clinical significance of every thrombocytes parameter in particular (MPV, PDW, PCT, MPC, MPM, L-PLT, IPF, PCDW, PMDW) is discussed. The actuality of application of these techniques in assessing thrombocytes nowadays is emphasized.*

**Key words:** thrombocyte, hematologic analyzer, thrombocyte parameters

Развитие автоматических гематологических анализаторов началось в 1960-х годах, и с тех пор они претерпели существенные изменения как в конструктивном плане, так и в отношении возможности анализа клеточных популяций. В настоящее время существуют высокотехнологичные гематологические анализаторы, к которым относятся XE-5000, XE-2100 ("Sysmex"), LH750, 780, UniCel® DxH™ 800 ("Beckman Coulter"), Advia 120, 2120 ("Siemens"). Среди параметров общего анализа крови тромбоциты являются одними из важных и в то же время сложных для анализа клеточных элементов [3, 4, 9]. Все гематологические анализаторы от самых простых до сложных систем оценивают такие параметры, как средний объем тромбоцитов (MPV, фл), ширина распределения тромбоцитов по объему (PDW, %), тромбокрит (PCT, %). В то же время гематологические анализаторы различных фирм отличаются по набору дополнительных критериев оценки тромбоцитарного звена гемостаза. Так, в приборах фирмы "Sysmex" для оценки тромбоцитов используют следующие параметры: отношение объема крупных тромбоцитов (более 12 фл) ко всему объему тромбоцитов, выраженное в процентах (P-LCR), и показатель фракции незрелых тромбоцитов (IPF), анализируемый в крупных аналитических системах (XE-5000, XE-2100) [3]. В приборах фирмы "Siemens"

(Advia 120, 2120) это средняя концентрация компонентов тромбоцитов (MPC, г/дл), средняя сухая масса тромбоцитов (MPM, пг), ширина распределения тромбоцитов по концентрации компонентов (PCDW, г/дл), ширина распределения тромбоцитов по сухой массе (PMDW, пг) и количество больших тромбоцитов (L-PLT).

На гематологических анализаторах фирмы "Sysmex" (XE-5000, XE-2100) производится точный подсчет тромбоцитов на основе кондуктометрического метода с гидродинамическим фокусированием и дополнительный оптический подсчет тромбоцитов на основе проточной цитофлуориметрии для проверки результата. Клетки выстраиваются друг за другом за счет гидродинамического фокусирования струя в струе. При прохождении измерительного канала клетки крови генерируют электрические импульсы разной амплитуды, пропорциональной их размерам. Импульсы, соответствующие частицам, размером от 1,8 до 25–30 фл, относятся к тромбоцитам [1]. Число импульсов низкой амплитуды соответствует количеству тромбоцитов (PLT). При суммировании амплитуд импульсов в результате подсчета количества тромбоцитов получается величина, отражающая общий объем, занимаемый тромбоцитами, т. е. тромбокрит (PCT). Разделив гематокритную величину на концентрацию тромбоцитов (PLT), определяют средний объем тромбоцитов MPV. Вторым способом подсчета количества тромбоцитов на XE-2100 является метод проточной цитофлуориметрии. В момент пересечения клеткой лазерного луча детекторы фиксируют отклонение лазерного луча под малым углом 2–3° (прямое светорассеяние FSC), по которому оценивается размер клетки, отклонение лазерного луча под углом

Для корреспонденции:

Мининкова Анна Игоревна, аспирант  
Адрес: 119261, Москва, Ленинский пр-т, 70/581  
Телефон: 930-18-42  
E-mail: koann@mail.ru

5–15° (боковое светорассеяние SSC), характеризующее плотность внутриклеточных структур, и интенсивность флуоресцентного сигнала от красителя полиметина, связывающегося с ДНК и РНК неизмененных клеток. Все клетки крови имеют уникальное распределение по данным показателям. Тромбоциты, содержащие РНК, локализуются ниже эритроцитов и также метятся полиметином. В данной области подсчитывается их количество.

На анализаторах фирмы "Beckman Coulter" (LH750, 780, UniCel® DxH™ 800) выполняются трехмерный анализ тромбоцитов, который включает одновременный компьютерный анализ клеток по объему, удельной электропроводности и рассеянию лазерного луча. Полученные по трем каналам данные комбинируют и анализируют с помощью электроники. В результате на скатерограмме тромбоциты имеют уникальную зону расположения. На анализаторе UniCel® DxH™ 800 благодаря технологии регистрации светорассеяния под несколькими углами (0–0,5°, 5,1°, 9–19° и 20–43°) и новым улучшенным алгоритмам анализа данных обеспечивается более четкое разграничение популяций клеток.

На приборах фирмы "Siemens" (Advia 120, 2120) тромбоциты подсчитываются вместе с эритроцитами в одном канале. В основе работы гематологических анализаторов лежит принцип проточной цитометрии. Сначала эритроциты и тромбоциты подвергаются изовольтметрическому сферингу под действием SDS (двойной сульфат натрия) и глутаральдегида. Далее клеточная суспензия с постоянным объемом пропускается через проточную кювету. Клетки пересекаются лучом полупроводникового лазера с длиной волны 670 ± 10 нм. При контакте с клеткой происходит рассеяние луча под разными углами. При анализе полученных сигналов измеряется прямое светорассеяние FSC, по которому оценивается размер клетки, и боковое светорассеяние SSC, характеризующее плотность внутриклеточных структур. Основу дальнейшего анализа клеток составляет Мие-теория о светорассеянии [66]. Результаты измерения прямого светорассеяния отображаются в виде тромбоцитарного объема, а бокового рассеяния – в индексе преломления. Индекс преломления (ИП) конвертируется в концентрацию компонентов тромбоцита (PC) путем вычитания индекса преломления воды (1,333) и деления полученной разницы на константу среднего прироста ИП (0,0018 дл/г). Эта константа выводится из усредненного прироста ИП для большинства компонентов тромбоцитов – белков, жиров и углеводов. Таким образом, расчетная формула для концентрации компонентов тромбоцитов будет следующей: PC (г/дл) = [(ИП - 1,333)/0,0018 дл/г].

Показатели MPV и MPC являются среднеарифметическими значениями объемов (диапазон 0–60 фл) и ИП (диапазон 0–40 г/дл) отдельных тромбоцитов. Приборы также измеря-

ют сухую массу (PM) отдельных тромбоцитов. Показатель PM высчитывается путем перемножения значений клеточного объема и ИП для каждой клетки в отдельности. Затем, усредняя данные о всех тромбоцитах в диапазоне 0–5 пг, вычисляется MPM. Таким образом, параметры MPV, MPC и MPM измеряются параллельно с подсчетом количества тромбоцитов со скоростью несколько тысяч клеток в секунду.

По лабораторным требованиям необходимо установление референтных значений исследуемых показателей для каждого выпускаемого прибора. Производители гематологических анализаторов рекомендуют самостоятельно устанавливать диапазон нормальных значений, так как антикоагулянты, способ взятия крови, возраст и метод хранения будут влиять на значения тромбоцитарных параметров. В литературе встречается ряд работ по данной теме, касающихся гематологических анализаторов Advia 120, 2120.

Основной целью исследований D. R. Brummitt и соавт. в 2000 г. [28] был анализ временного интервала, прошедшего после взятия крови в пробирки, содержащие K<sub>3</sub>ЭДТА в качестве антикоагулянта. Данный антикоагулянт был выбран намеренно как наиболее часто используемый в рутинной практике. Были проанализированы образцы от 122 доноров (63 женщины и 59 мужчин) в возрасте от 16 до 62 лет. Установлены следующие половые различия: величина показателей количества тромбоцитов, PCT у мужчин ниже, чем у женщин, а уровни MPV, PDW, MPC и PCDW у мужчин выше, чем у женщин. Далее образцы анализировали 2 раза (через 20 мин и 3,5 ч после венопункции) при комнатной температуре). Проводили параллельное исследование на приборах Advia 120 и проточном цитофлуориметре Coulter Epics Profile II. Изучали изменение тромбоцитарных параметров гематологического анализатора и экспрессии маркера CD62p на поверхности тромбоцита – маркера активации тромбоцитов. Популяционная статистика 122 образцов крови, проанализированных через 20 мин и 3,5 ч после венопункции, представлена в табл. 1.

Анализ приведенных в таблице данных позволяет сделать вывод об увеличении с течением времени экспрессии CD62p, что свидетельствует об активации тромбоцитов в пробирках, содержащих ЭДТА в качестве антикоагулянта. Однако результаты, полученные через 3,5 ч, указывают на более нормальное распределение популяции с минимальными половыми отклонениями. Возможно, это отражает изменение тромбоцитов и позднюю стабилизацию их в антикоагулянте, что можно использовать в рутинной практике.

Основной целью исследования A. Giacomini и соавт. в 2001 г. была оценка возрастных изменений тромбоцитарных показателей [45]. Были опубликованы данные обследования 500 здоровых людей по 5 возрастным группам, в каждую из которых входили 50 мужчин и 50 женщин. Кровь брали в

Таблица 1

**Популяционная статистика 122 образцов крови, проанализированных через 20 мин и 3,5 ч после венопункции (цит. Brummitt D. R. и др., 2000) [28]**

Тромбоцитарные значения	p	Через 20 мин		Через 3,5 ч	
		среднее ± SD	95% CI	среднее ± SD	95% CI
PLT, 10 <sup>9</sup> /л	0,53	237 ± 49	140–343	242 ± 51	146–344
MPV, фл	< 0,01	8,0 ± 0,85	6,6–10,4	8,6 ± 0,9	7,3–10,5
PDW, %	0,38	52,8 ± 6,8	40,1–65,8	52,3 ± 7,4	39,7–66,9
PCT, %	< 0,01	0,19 ± 0,035	0,12–0,25	0,20 ± 0,04	0,12–0,29
MPC, г/дл	< 0,01	27,2 ± 1,3	24,5–29,6	25,4 ± 1,1	23,0–27,5
PCDW, г/дл	< 0,01	5,3 ± 0,5	4,5–6,6	4,9 ± 0,4	4,2–5,9
MPM, пг	0,286	2,1 ± 0,19	1,7–2,5	2,1 ± 0,19	1,7–2,5
PMDW, пг	0,16	0,86 ± 0,11	0,68–1,08	0,85 ± 0,11	0,66–1,06
CD62p, %	< 0,01	0,4 ± 0,7	0,0–3,5	4,6 ± 4,5	0,1–15,9

Примечание. Здесь и в табл. 2: SD – стандартное отклонение; CI – доверительный интервал.

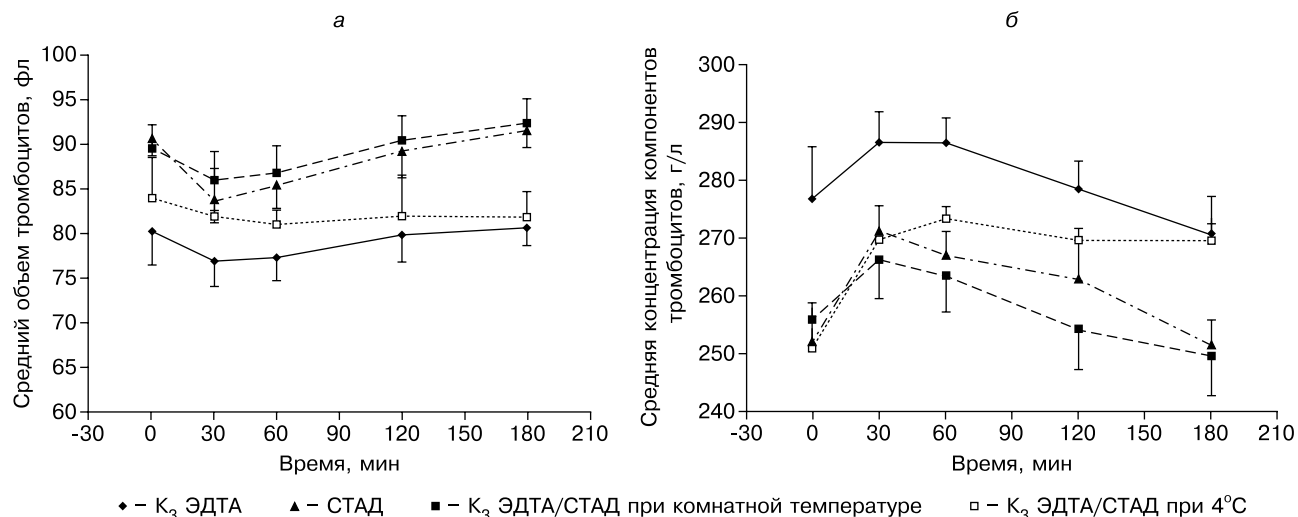


Рис. 1. Изменения MPV (а) и MPC (б) в зависимости от временного промежутка после венопункции при использовании различных антикоагулянтов (цит. Масеу и др., 2002) [78].

пробирки, содержащие антикоагулянт K<sub>3</sub>ЭДТА. Анализ проводили в течение 1 ч после венопункции при комнатной температуре. Референтные значения тромбоцитарных индексов (при 95% CI) приведены в табл. 2.

Большинство показателей, кроме PCDW, достоверно различались между возрастными группами ( $p < 0,001$ ). PLT и PCT уменьшаются по мере увеличения возраста. Изменения MPV носят обратный характер. MPC и MPM увеличиваются с возрастом, достигая максимума к 45–65 годам, и впоследствии снижаются.

Время после венопункции является критическим для определения параметров активации тромбоцитов *in vivo*. Тромбоциты крови могут быть спонтанно активированы *in vitro*, что доказано зависимыми от времени изменениями тромбоцитарных индексов [77, 78, 80, 95–97]. В случае хранения образцов крови в ЭДТА-пробирках при комнатной температуре в течение 2 ч наблюдается ступенчатое увеличение MPV, уменьшение MPC, увеличение MPM и снижение PCDW. Эти колебания не зависят от тяжести сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний [25]. Наибольшие изменения MPV и MPC наблюдаются между 30 и 60 мин после венопункции при хранении крови при комнатной температуре [78]. По данным М. D. Lancé и соавт. за 2010 г. [73], оптимальным временем для исследования MPV в пробирках с ЭДТА можно считать 2 ч после взятия крови. М. Масеу и соавт. в 2002, 2003 гг. показали, что активация тромбоцитов в случае хранения крови в течение 3 ч при комнатной температуре происходит при наличии таких антикоагулянтов, как K<sub>3</sub>ЭДТА, СТАД (цитрат-теофиллин-аденозин-дипирамидол), комбинация K<sub>3</sub>ЭДТА/СТАД или цитрат натрия [45, 46]. При 4°C активацию тромбоцитов наблюдали только при наличии антикоагулянта цитрата

натрия. По данным М. Масеу и соавт. (2002, 2003), в случае хранения крови в течение 3 ч при комнатной температуре при наличии таких антикоагулянтов, как K<sub>3</sub>ЭДТА, СТАД, комбинация K<sub>3</sub>ЭДТА/СТАД или цитрат натрия, MPV сначала уменьшается ( $p < 0,04$ ), а потом увеличивается ( $p < 0,02$ ), а MPC подвергается обратным изменениям (рис. 1) [78, 79].

По мнению М. Масеу и соавт. (2002), для изучения тромбоцитарной активации *in vitro* необходимо использовать пробирку с комбинацией двух антикоагулянтов K<sub>3</sub>ЭДТА/СТАД, хранить ее при 4°C и исследовать в промежутке 60–180 мин после венопункции. Это состояние обеспечивает максимальную тромбоцитарную сферичность без активации тромбоцитов. По данным М. Масеу (2003), интервал до проведения исследования может быть увеличен до 320 мин [79]. Однако позже С. Е. Ahnadi и соавт. в 2003 г. установили, что после добавления тромбина в пробирку как с K<sub>3</sub>ЭДТА, так и с цитратом происходит резкое увеличение активации тромбоцитов [12], в то время как в пробирке со СТАД никаких изменений не происходит. Таким образом, СТАД ингибирует активацию тромбоцитов, и именно этот антикоагулянт больше всего подходит для изучения тромбоцитов.

Транспортировка крови в центральную лабораторию с помощью Pneumatic Tube System (PTS) не влияет на MPC [71]. Вместе с тем отмечено влияние PTS на активность тромбоцитов у людей, принимающих антитромбоцитарные препараты или имеющих первичную тромбоцитарную дисфункцию [43].

В литературе встречается ряд работ, посвященных изучению изменений тромбоцитарных индексов при различных заболеваниях, однако не всегда имеется возможность адекватного анализа тромбоцитарных показателей. При тяжелых

Таблица 2

#### Референтные значения тромбоцитарных индексов (при 95% CI).

Возраст, годы	PLT, 10 <sup>9</sup> /л	MPV, фл	PDW, %	PCT, %	MPC, г/дл	PCDW, г/дл	MPM, пг	PMDW, пг
1–10	220–422	8,3–10,9	30,5–48,8	0,19–0,41	17,1–24,1	4,2–5,7	1,7–2,2	0,6–0,9
10–18	165–396	8,6–12,1	30,9–54,7	0,16–0,39	18,9–24,6	4,2–5,5	1,8–2,4	0,6–1,0
18–45	159–376	8,5–12,8	35,6–56,1	0,17–0,38	20,2–25,0	4,4–5,5	1,9–2,6	0,7–1,1
45–65, М	156–300	8,6–12,0	37,6–55,1	0,15–0,30	20,8–25,1	4,3–5,6	1,8–2,7	0,7–1,0
45–65, Ж	156–351	9,0–12,9	36,6–56,4	0,17–0,34	18,6–24,5	4,3–5,5	1,8–2,6	0,7–1,1
> 65	139–363	8,8–12,4	36,4–55,5	0,15–0,35	17,8–23,5	4,1–5,6	1,8–2,4	0,7–1,0

Примечание. Возрастная группа 45–65 лет представлена отдельно для обоих полов, так как имеются значимые различия ( $p < 0,001$ ) показателей PLT, PCT и MPC (цит. Giacomini и др., 2001) [45].



тромбоцитопениях ( $\leq 20 \cdot 10^9/\text{л}$ ) или наличии большого числа фрагментов эритроцитов, микроцитов, шизоцитов, фрагментов цитоплазмы лейкоцитов измерение тромбоцитарных параметров затруднено.

Исследование MPV стало доступно с 1970-х годов и в настоящее время является рутинным в клинической практике [7, 9]. Параметр MPV определяет размер тромбоцитов и реагирует на стимуляцию тромбоцитов или изменение скорости их образования [17, 78]. По мнению некоторых авторов, MPV не имеет одного интервала нормальных значений. Доказано существование нелинейной, обратной зависимости между MPV и количеством тромбоцитов у здоровых лиц с нормальным их числом [20, 47, 74]. Поэтому при решении вопроса, соответствует ли величина MPV нормальным значениям, J. D. Bessman и соавт. (1981) рекомендуют вместо одного интервала значений применять нормограмму, которая отражает указанную нелинейную, обратную зависимость, причем для каждого прибора необходимо разработать свою нормограмму. Такое соотношение определяет постоянство тромбоцитарной массы в циркулирующей крови.

При использовании в качестве антикоагулянта крови цитрата натрия уровень MPV ниже, чем в случае антикоагулянта ЭДТА. По данным M. Lancé и соавт. [73], референсные пределы для MPV в цитратной крови составляют 6,1–9,5 фл, а в крови с ЭДТА – 7,2–10,8 фл. Параметр увеличивается с возрастом: у мужчин MPV несколько выше, чем у женщин [2, 28]. Размер тромбоцита определяется уровнем зрелости мегакариоцита и прямо пропорционален степени его плоидности [22].

Известно, что MPV увеличивается при активации тромбоцитов и превращении их из неактивных дисков в разбухшие сферы с псевдоподиями на начальных этапах агрегации [58, 86]. Данный показатель является индикатором крупных, более реактивных тромбоцитов. Уровень MPV коррелирует с такими маркерами активации, как тромбосан, бета-тромбоглобулин, адгезионные молекулы экспрессии [18]. По литературным данным, увеличение MPV в плазме, богатой тромбоцитами, происходит в ответ на различные агонисты: 5-гидрокситриптамиин, U46619-ТХА2-аналог, АДФ, коллаген, арахидоновая кислота, тромбоцитарноактивирующий фактор [61]. У беременных женщин уровень MPV независимо от триместра остается нормальным и неизменным [11, 53, 72]. У новорожденных в неонатальный период MPV с возрастом увеличивается [15]. Кроме того, показано, что параметр MPV больше у доношенных новорожденных по сравнению с недоношенными и прямо коррелирует с возрастом гестации ( $p < 0,001$ ) [88].

MPV является хорошим маркером дифференциальной диагностики тромбоцитопений. При гипердеструктивной форме наблюдают его увеличение [27, 64, 84, 85]. Так, значения MPV при гипердеструктивной тромбоцитопении (идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура) выше по сравнению со значениями при гипопродуктивной форме (апластическая анемия) [64]. По данным T. Numbenjaron и соавт. (2008), уровень MPV более 7,9 фл свидетельствует о наличии гипердеструктивной тромбоцитопении с чувствительностью 82,3% и специфичностью 92,5%. В работе S. Aksoy и соавт. (2008) показано, что уровень MPV ниже 7,4 фл позволяет прогнозировать развитие метастазов в костном мозге с чувствительностью 82,7% и специфичностью 89,6% [13].

По литературным данным, при прогрессировании ХМЛ наблюдают достоверное увеличение MPV (контроль  $8,6 \pm 0,2$  (7,1–9,4); хроническая фаза до лечения  $8,9 \pm 0,3$  (6,7–11,3); терминальная фаза  $10,2 \pm 0,4$  (7,1–12,9,  $p < 0,005$ ) [6].

По данным A. Giacomini, при тромбоцитопении, возникшей вследствие цирроза печени, отмечено значимое повышение MPV ( $p < 0,0001$ ) [45].

Увеличение MPV выявлено при инфекциях верхних мочеполовых путей [32], причем в группе больных, инфицированных грамположительными бактериями, MPV был выше.

Изменения MPV были изучены у детей с врожденными

пороками сердца (ВПС). Для больных с ВПС "синего типа" характерен большой объем тромбоцитов по сравнению с группой больных с ВПС "бледного типа". Это может быть обусловлено влиянием длительной гипоксемии на работу костного мозга [5].

По литературным данным, увеличение MPV наблюдают у новорожденных при развитии респираторного дистресс-синдрома. Вероятно, это связано с увеличением продукции более молодых тромбоцитов вследствие повышения потребления тромбоцитов из-за развития легочной недостаточности [31].

По MPV можно выявить риск преэклампсии в поздние сроки беременности. У таких пациенток происходит увеличение MPV более чем на 0,8 фл между 24-й и 38-й неделей гестации по сравнению с пациентками с нормально протекающей беременностью [11]. Чувствительность этого метода составляет 90% (27 пациенток из 30), специфичность – 83,3% [53].

При развитии эндотоксемии наблюдают увеличение MPV на 28% относительно исходного уровня, которое сохраняется в течение 24 ч (данные получены на собаках) [102]. N. Dastugue и соавт. (1982) по результатам ретроспективных исследований сообщают об увеличении MPV у пациентов с септическим шоком [40]. По данным J. Van der Lelie и соавт. (1983), более высокие значения MPV наблюдают у пациентов с развившимся сепсисом, чем у больных с локализованной бактериальной инфекцией [99]. Развитие более инвазивной инфекции или инфекции, не отвечающей на антибактериальную терапию, может выражаться в увеличении MPV. При развитии сепсиса отмечена обратная корреляция между MPV и количеством тромбоцитов. При выздоровлении происходит снижение MPV и увеличение количества тромбоцитов, а в случае смертельного исхода восстанавливают обратную зависимость. При значениях MPV в период выздоровления ниже 9,7 фл риск смертельного исхода увеличивается в 3 раза [19]. Увеличение продукции тромбоцитов больших размеров может быть компенсаторной реакцией костного мозга при развитии сепсиса [95]. На моделях животных с развившимся сепсисом подтверждено наличие гетерогенности популяции тромбоцитов, присутствие тромбоцитов крупных размеров [18, 94]. Увеличение MPV выявлено также у новорожденных с малым весом ( $< 1500$  г) при развитии сепсиса [49]. Показана высокая специфичность подъема MPV при диагностировании бактериемии (95%) у новорожденных с сепсисом. Если новорожденные с положительным культуральным посевом крови сразу после рождения (раннее инфицирование) имеют тенденцию к нормальному тромбоцитарному объему, при развитии позднего инфицирования (через 3 дня после рождения) наблюдают увеличение MPV [89].

Ряд авторов [33, 35, 101] считают, что параметр MPV следует использовать в рутинной практике для выявления лиц, подверженных высокому риску развития сердечно-сосудистых заболеваний. В ходе исследования A. Muscarì (2008) было установлено, что увеличение MPV до уровня более 8,4 фл у пожилых людей (группа лиц со средним возрастом  $72,9 \pm 5,5$  года) может свидетельствовать об ишемических изменениях на ЭКГ и увеличении уровня глюкозы крови натощак [82]. При уровне MPV более 8,4 фл риск наличия ишемических изменений на ЭКГ в 4,2 раза больше, чем при низких значениях MPV. У людей с сердечно-сосудистыми заболеваниями увеличение MPV прямо коррелирует с повышением степени агрегации тромбоцитов, уровнем глюкозы натощак и увеличением числа незрелых тромбоцитов, что свидетельствует о высокой скорости обновления популяции тромбоцитов [33]. Повышение MPV наблюдают у лиц с начальными явлениями артериальной гипертензии. Изменение стиля жизни при данном заболевании (снижение массы тела, потребления сахара, физическая активность, ограничение потребления алкоголя, диета) в течение 20 нед способствует снижению MPV [100]. В группе больных с артериальной гипертензией уровень MPV был выше у имевших повреждение органов-мишеней (инсульты, инфаркты и т. д.)

[24, 83]. У лиц с ожирением (ИМ = 36,2) только одна диета в течение 3 мес способствовала снижению MPV с 8,18 +/- 1,09 фл до 8,08 +/- 1,02 фл,  $p = 0,013$  [37]. Пароксизмальная тахикардия также сопровождается повышением MPV [38]. При нестабильной ИБС, остром инфаркте миокарда отмечены более высокие цифры MPV по сравнению с регистрируемыми при стабильной ИБС [67, 90]. По данным G. Endler и соавт., лица со стабильной ИБС, но имеющие показатель MPV более 11,6 фл, подвержены высокому риску развития инфаркта [44]. Как свидетельствуют литературные данные, высокий уровень MPV (более 12 фл) имеет 87% специфичность при постановке диагноза инфаркта миокарда и 98% специфичность в случае диагностики атеросклероза сосудов (ИБС) [68]. Острая коронарная недостаточность без подъема ST-сегмента при высоких цифрах MPV (более 10 фл) может указывать на развитие инфаркта миокарда без подъема ST-сегмента или других ишемических осложнений [103]. Повышение MPV является независимым фактором риска развития нестабильной ИБС у пациентов, находящихся на хроническом гемодиализе [52]. Увеличение MPV наблюдают при остром ишемическом инсульте, причем в большей степени в случае кортикальной его локализации ( $7,46 \pm 1,0$  фл при кортикальной локализации,  $p = 0,039$ ;  $7,14 \pm 1,16$  фл при лакунарной локализации,  $p = 1,0$ ; в контроле  $7,09 \pm 0,74$  фл) [30]. Подъем показателя сохраняется в течение 3 мес. Чем больше значение MPV, тем выше риск более тяжелого инсульта [48].

При сахарном диабете 2-го типа наблюдают увеличение MPV [41, 51, 91]. Отмечена положительная корреляция между уровнем MPV и уровнем HbA1c. MPV повышается при увеличении уровня глюкозы [41]. По литературным данным, преддиабетическое состояние – нарушение толерантности к глюкозе – сопровождается повышением MPV, выявлена прямая корреляция между уровнем MPV и 2-часовым уровнем глюкозы в ходе стандартного глюкозотолерантного теста [36].

Уменьшение MPV наблюдают при железодефицитной анемии [63]. При аневризме аорты выявлено снижение MPV [55].

Параметр MPV может быть использован как активационный маркер воспалительных заболеваний кишечника. A. N. Kapsoritakis и соавт. (2001); T. Douda и соавт. (2006) установили, что MPV уменьшается при клиническом рецидиве болезни Крона и язвенном колите (до менее 7,8 фл) по сравнению с периодом ремиссии ( $M = 8,333$  фл; 95% CI: 7,935–8,731 фл) и негативно коррелирует с такими маркерами активации воспалительных заболеваний кишечника, как общее число лейкоцитов, СРБ, СОЭ ( $p = 0,003$ ) [42, 65].

В литературе имеется ряд работ, посвященных влиянию лекарственных препаратов на MPV. Показано, что прием аспирина не влияет на размер тромбоцитов [61]. В 2003 г. I. Jagroor и D. Mikhailidis сообщили о том, что назначение клопидогреля лицам с сердечно-сосудистыми заболеваниями ингибирует АДФ-индуцированное увеличение MPV in vitro. Увеличение усиливалось, когда аспирин назначали вместе с клопидогрелем. В рутинной практике таким методом можно определить эффект действия антитромбоцитарных препаратов. Так, тирофебан (потенциальный антагонист ГП IIb/IIIa-рецептора) не оказывает влияние на объем тромбоцита, т. е. на начальную фазу агрегации. Он действует на дальнейших этапах этого процесса [62]. В литературе описано влияние ряда антигипертензивных препаратов на показатель MPV. Доксазозин, используемый при лечении эссенциальной гипертензии, блокирует серотонининдуцированное изменение формы тромбоцитов на начальных этапах агрегации. Количество серотонина увеличивается при сосудистых заболеваниях и сахарном диабете [60]. Лозартран (селективный антагонист ангиотензина II) ингибирует увеличение MPV, вызванное ангиотензином II [59]. Прием рекомбинантного эритропоэтина у больных с хронической почечной недостаточностью увеличивает MPV [92]. Употребление жирных кислот, входящих в состав рыбье-

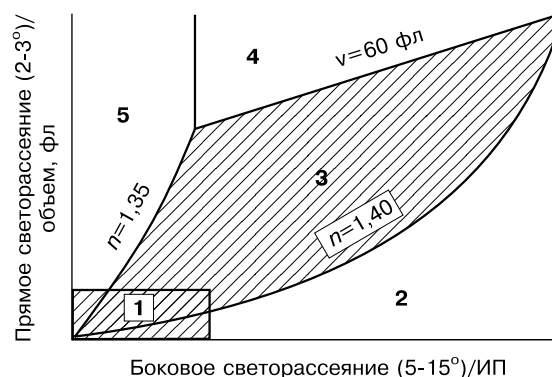


Рис. 2. Графическое изображение области, в которой подсчитывается количество больших тромбоцитов (клетки, имеющие индекс преломления между 1,35 и 1,40 и клеточный объем от 20 до 60 фл).

1 – зона, отражаемая на тромбоцитарной скатерограмме; 2 – фрагменты эритроцитов; 3 – большие тромбоциты; 4 – эритроциты; 5 – тени эритроцитов;  $n$  – индекс преломления;  $v$  – клеточный объем.

го жира, приводит к снижению MPV [87]. Известно, что прием цитотоксических препаратов уменьшает MPV [21, 23, 76].

Одним из параметров анализаторов Advia 120, 2120, связанным с размером тромбоцитов, являются L-PLT – крупные тромбоциты. Большие тромбоциты, вероятно, являющиеся молодыми тромбоцитарными формами, дают более высокий сигнал флуоресценции. Процент L-PLT рассчитывается от общего количества тромбоцитов и предположительно является индикатором скорости тромбоцитобразования в костном мозге. Большие тромбоциты – тромбоциты, попадающие на скатерограмме в область, имеющую индекс преломления (ИП) 1,35–1,40 и тромбоцитарный объем 20–60 фл. Общий счет тромбоцитов включает суммарный счет обычных и больших тромбоцитов. Подсчет больших тромбоцитов проводится с помощью интегративного анализа. Большие тромбоциты идентифицируются на тромбоцитарной скатерограмме как клетки, имеющие ИП между 1,35 и 1,40 и тромбоцитарный объем от 20 до 30 фл. На эритроцитарной скатерограмме они попадают в область с ИП между 1,35 и 1,40 и объемом тромбоцитов менее 60 фл (рис. 2). Флаг на большие тромбоциты появляется в случае, если число крупных тромбоцитов более 10% от общего счета тромбоцитов. Анализатор отмечает количество L-PLT в плюсах:

- + – %L-PLT 10,0–11,9;
- ++ – %L-PLT 12,0–14,0;
- +++ – %L-PLT > 14,0.

При увеличении числа L-PLT возрастает риск формирования тромбов. M. M. Khandekar и соавт. показали, что нестабильная ИБС и острый инфаркт миокарда отличаются большим количеством больших тромбоцитов, чем стабильная ИБС [67]. Большое количество L-PLT продолжает циркулировать в крови в течение 48 ч после инфаркта [90]. Его увеличение может свидетельствовать о плохом прогнозе ДВС-синдрома [69]. Продукция L-PLT увеличена при сахарном диабете, особенно при ангиопатиях [98], тромбоцитопении, по сравнению со здоровыми людьми [20, 93]. При идиопатической тромбоцитопенической пурпуре (ИТП) обнаруживают гораздо больше крупных тромбоцитов (более 12 фл), чем при апластической анемии ( $42,2 \pm 1,5\%$ ,  $25,7 \pm 1,1\%$ ,  $p < 0,0001$  соответственно) [64]. В острой фазе ИТП количество L-PLT достоверно ниже, чем в хронической [93]. При лечении ИТП внутривенным введением анти-RhoD или гамма-глобулинов степень увеличения количества тромбоцитов через 24 ч прямо коррелирует с увеличением количества L-PLT ( $r = 0,689$ ,  $p = 0,0002$ ). Количество больших тромбоцитов является независимым предиктором немедленного увеличения тромбоцитов после начала лечения ИТП [81].



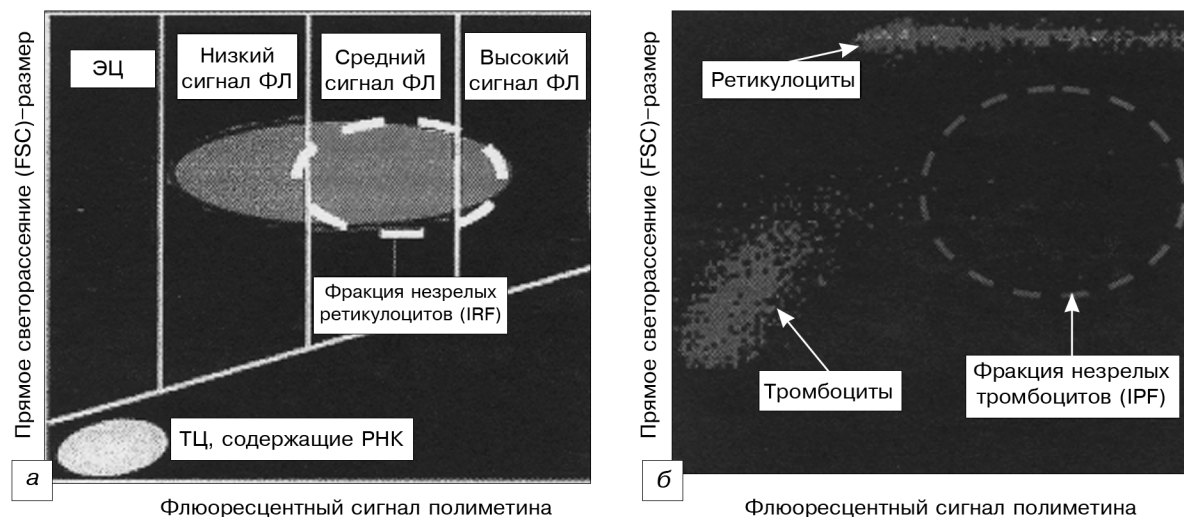


Рис. 3. Скатерограмма прибора ХЕ-2100 (график зависимости сигнала флюоресценции (ФЛ4, 675 нм) от прямого сигнала лазера (FSC) – размера).

На гистограмме *а* данные представлены в схематическом формате. Краситель полиметин метит фракции незрелых ретикулоцитов с низким, средним и высоким сигналом флюоресценции, которые сдвинуты вправо по отношению к фракции зрелых эритроцитов (ЭЦ). Область выделения (гейтирования) фракции незрелых ретикулоцитов (IRF) отмечена пунктирной линией. Тромбоциты (ТЦ), содержащие РНК, локализируются ниже эритроцитов и также метятся полиметином. Гистограмма *б* – реальная нормальная гистограмма с прибора. Фракцией незрелых тромбоцитов (IPF) является область высокофлюоресцирующих тромбоцитов с увеличенным объемом, которая помечена пунктирной линией. В верхней части скатерограммы над тромбоцитами лежат разнообразные фракции ретикулоцитов (цит. Harrison P., Goodall A., 2008) [50].

Снижение количества L-PLT описано при аневризме аорты [55], у лиц с коронарообструкцией, выявленной в ходе коронарографии [56].

В литературе описан случай, когда присутствующие в крови *Candida parapsilosis* распознавались Advia 120, 2120 как L-PLT, в результате количество тромбоцитов в общем анализе крови было резко снижено [57].

На гематологических анализаторах фирмы "Sysmex" определяется доля больших тромбоцитов (более 12 фл), выраженная в процентах (P-LCR). Нормальные значения P-LCR варьируют от 13 до 43%.

Анализаторы фирмы "Sysmax" рассчитывают уникальный показатель фракции незрелых тромбоцитов (IPF) по соотношению объема и содержанию нуклеиновых кислот в клетках, меченных полиметином (рис. 3).

Установлено, что данный метод имеет одинаковые нормы в различных лабораториях. Так, референтные значения IPF в Оксфордской гематологической клинике составляют 0,83–6,17% (в среднем 3,5%) с CV 7,3 и 11,3% у лиц с высоким (в среднем 11,9%) и нормальным (в среднем 3,3%) значением IPF [50]. Показатели L-PLT и IPF являются более чувствительными параметрами, чем MPV, так как не зависят от распределения объемов по различным значениям.

Гематологические анализаторы фирмы "Siemens" (Advia 120, 2120) имеют уникальный параметр MPC, характеризующий гранулярность тромбоцитов [7, 9, 71]. Активацию тромбоцитов наблюдают при MPC менее 26,7 г/дл. Было показано, что при увеличении экспрессии CD62 и гранулофизина на мембране тромбоцитов происходят активация тромбоцитов, снижение MPC [34, 46, 77]. При использовании трансмиссионного электронного микроскопа отмечают изменение формы тромбоцитов и уменьшение количества в них гранул [12]. D. R. Brummitt и соавт. в 2003 г. описали случай миелодисплазии, при которой кровоточивость сочеталась с низким уровнем MPC и дефицитом гранул в тромбоцитах [29]. По данным A. Giacomini (2001), при тромбоцитопении, возникшей вследствие цирроза печени, MPC не изменяется в отличие от значимо повышенных MPV и MPM. Вероятно, это связано с неэффективным тромбоцитопозом (снижение продукции гранул) и уменьшением периферической дегрануляции. Значения MPC у пациентов с диабетом ниже, чем у здоровых людей, причем

при развитии осложнений (диабетическая ретинопатия) наблюдается тенденция к уменьшению данного показателя [16]. По данным J. Cooke и соавт. (2009), MPC при стабильной ИБС не отличается от нормы [39]. В пределах группы больных с артериальной гипертензией уровень MPC был ниже у имевших повреждение органов-мишеней (инсульты, инфаркты и т. д.) [24, 83]. При отделении фракции тромбоцитов у доноров крови MPC остается нормальным [54]. Показано, что при больших физических нагрузках, таких как марафонский бег, происходит снижение MPC [70].

Еще одним уникальным тромбоцитарным параметром, оцениваемым гематологическими анализаторами Advia 120, 2120, является средняя сухая масса тромбоцитов (MPM). В пределах группы больных с артериальной гипертензией уровень MPM был выше у имевших повреждение органов-мишеней (инсульты, инфаркты и т. д.) [24, 83]. По данным A. Giacomini и соавт. (2001), при тромбоцитопении, возникшей вследствие цирроза печени, наблюдается значимое повышение MPM ( $p < 0,0001$ ). Вероятно, это связано с увеличенным тромбоцитопозом [45].

Для анализа степени однородности популяции тромбоцитов используют параметры PDW, PCDW и PMDW.

PDW – показатель, отражающий степень гетерогенности тромбоцитов по размеру (анизцитоз тромбоцитов). Он рассчитывается по формуле:

$$PDW = [SD (PV) - MPV] \cdot 100\%$$

где SD – стандартное среднеквадратичное отклонение объема тромбоцитов от среднего значения.

Величина PDW в среднем составляет 10–15% [2]. Изменения данного параметра были изучены у новорожденных. Показано, что PDW достоверно ниже у доношенных детей ( $p < 0,001$ ) и негативно коррелирует с возрастом гестации и весом ребенка при рождении [88]. Этот показатель находится в обратной зависимости от числа тромбоцитов и периода их жизни. В каждом конкретном случае важна не только величина PDW, но и ее динамика во времени, а также связь с другими тромбоцитарными показателями. Так, увеличение PDW с одновременным снижением MPV свидетельствует о преобладании микротромбоцитов в общей популяции тромбоцитов (угнетение тромбоцитопоза), а сочетание повышенного PDW с увеличением MPV отражает нарастание числа макротромбоцитов (усиление продукции

тромбоцитов). Одновременное присутствие фракций макро- и микротромбоцитов ведет к увеличению PDW, но MPV может оставаться в пределах нормы. Анизоцитоз обусловлен колебанием объема тромбоцитов и должен определяться прибором намного раньше, чем при визуальной оценке мазка, так как на размер тромбоцитов в мазке влияет ряд факторов (толщина мазка, окраска и др.). Все они уменьшают диаметр тромбоцита. Поэтому автоматический подсчет дает наиболее достоверную информацию о величине клеток, так как сохраняется их стабильность и обеспечивается воспроизводимость результатов. Однако PDW довольно часто не соответствует истинной степени анизоцитоза тромбоцитов, что можно четко проследить на тромбоцитарных гистограммах. Так, разброс MPV от 2 до 30 фл и от 2 до 15 фл дает показатель PDW 12,2 и 12,3% соответственно (гематологический анализатор Cobas Micros) [6].

Изменение PDW в ряде случаев помогает в дифференциальной диагностике различных заболеваний. Увеличение PDW является диагностическим признаком при развитии деструктивной тромбоцитопении (ИТП) ( $16,8 \pm 0,5$  фл – ИТП;  $11,6 \pm 0,3$  фл – апластическая анемия,  $p < 0,0001$ ) [64, 84]. По данным S. Borkataky и соавт. (2009), PDW достоверно выше в случае гипердеструктивной и мегалобластной гипопролиферативной тромбоцитопениях по сравнению с немегалобластной гипопролиферативной тромбоцитопенией [26]. Уменьшение PDW наблюдают при железодефицитной анемии [63]. При нестабильной ИБС и остром инфаркте миокарда PDW выше, чем при стабильной ИБС [67, 68]. При аневризме аорты отмечено снижение PDW [55]. У детей с лейкозом после химиотерапии PDW достоверно ниже [14]. Однако при дифференциальной диагностике лейкозов достоверная разница индекса PDW между двумя группами (острый лимфобластный и острый миелобластный лейкозы) не выявлена. При развитии эндотоксемии выявлено увеличение PDW на 45% относительно исходного уровня, которое сохраняется в течение 24 ч (данные получены на собаках) [102]. Показана высокая специфичность подъема PDW при диагностировании бактериемии (79%) у новорожденных с сепсисом [89].

Параметры PCDW и PMDW, определяемые на анализаторах Advia и характеризующие степень гетерогенности тромбоцитов по MPC и MPM, рассчитываются как стандартные среднеквадратичные отклонения концентрации компонентов тромбоцитов или сухой массы тромбоцитов от их средних значений.

PCDW можно использовать для контроля жизнеспособности тромбоцитарных концентратов при трансфузиях. Данный показатель постоянно снижается в течение 5-дневного хранения и прямо коррелирует с экспрессией CD62p [75]. Отмечено ступенчатое снижение PCDW при сравнении здоровых лиц, лиц с высоким риском развития эссенциальной гипертензии и пациентов с тяжелой формой гипертензии [24]. Сообщалось, что PCDW можно использовать для мониторинга изменений формы тромбоцитов при низкой концентрации тромбина [69]. По данным Н. К. Kim и соавт. (2008), при ДВС-синдроме пациенты с высоким PCDW ( $\geq 5,1$  г/дл) и/или высоким PMDW ( $\geq 0,89$  пг) подвержены риску смертельного исхода, в 3 раза превышающему риск у пациентов с низкими значениями. Обнаружено, что количество тромбоцитов и такие индексы, как PCDW и PMDW, являются наиболее значимыми при прогнозировании клинической смертности на 28-й день.

Еще один тромбоцитарный параметр – PCT – определяет процент тромбоцитарной массы в объеме крови и рассчитывается по формуле  $PCT = (MPV \cdot PLT) - 10$  000.

В начале 80-х годов прошлого века сообщалось, что циркулирующая тромбоцитарная масса может быть более важным показателем тромбоцитарного гемостаза, чем количество тромбоцитов и MPV [95]. Нормальные значения варьируют в пределах от 0,15 до 0,35% [2, 7, 9]. У здорового человека показатель стремится остаться стабильным: при уменьшении числа тромбоцитов усиливается тромбоцитопоз, в циркулирующую кровь попадает большое число молодых макро-

боцитов, что ведет к увеличению MPV. Весьма существенно, что реализация функций тромбоцитами обусловлена не только их числом, но и размером, поскольку большие тромбоциты сильнее проявляют агрегационную и секреторную активность [10]. При увеличении количества циркулирующих тромбоцитов снижается продукция их в костном мозге, в результате снижается процент макротромбоцитов и уменьшается MPV. Однако при нарушении этого равновесия происходит или уменьшение PCT, что в конечном счете приводит к патологии первичного гемостаза и риску возникновения кровотечений, или повышение PCT, что увеличивает риск тромбозов. По литературным данным, PCT является более чувствительным параметром для оценки риска возникновения кровотечений, чем число тромбоцитов. Снижение параметра PCT до уровня менее 0,1% обусловило возникновение послеоперационных кровотечений у пациентов с развивающейся тромбоцитопенией [2]. При развитии эндотоксемии наблюдают снижение PCT на 93% относительно исходного уровня, которое сохраняется в течение 24 ч (данные получены на собаках) [102].

Таким образом, оценка тромбоцитарных параметров с использованием гематологических анализаторов является дешевой и быстрым методом анализа состояния тромбоцитов. Данное исследование клинически значимо в ряде областей медицины – гематологии, неврологии, кардиологии, хирургии, урологии, гастроэнтерологии, акушерстве и гинекологии и может быть широко использовано врачами-клиницистами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Антонов В. С., Богомолова Н. В., Волков А. С. // Справочник заведующего КДЛ. – 2010. – № 4. – С. 22–25.
2. Долгов В. В., Свириш П. В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. – М., 2005. – С. 92–93.
3. Инструкция к гематологическому автоматическому анализатору ADVIA 2120 Bayer Corporation, Tarrytown, NY.
4. Клетки крови – современные технологии их анализа / Козинцев Г. И., Погорелов В. М., Шмаров Д. А. и др. – М., 2002.
5. Козар Е. Ф. // Клин. лаб. диагн. – 2002. – № 2. – С. 28–30.
6. Колодей С. В., Соколова М. А., Туркина А. Г., Хорошко Н. Д. // Клин. лаб. диагн. – 2001. – № 6. – С. 38–41.
7. Луговская С. А., Морозова В. Т., Почтарь М. Е., Долгов В. В. Лабораторная гематология. – М., 2006.
8. Луговская С. А. // Клин. лаб. диагн. – 2007. – № 2. – С. 6–9.
9. Луговская С. А., Почтарь М. Е., Долгов В. В. Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови. – М.; Тверь, 2007.
10. Шутикова А. С. Тромбоцитарный гемостаз. – СПб., 2000.
11. Ahmed Y., van Iddekinge B., Paul C. et al. // Br. J. Obstet. Gynaecol. – 1993. – Vol. 100, N 3. – P. 216–220.
12. Ahnadi C. E., Sabrinah Chapman E., Lepine M. et al. // Thromb. Haemost. – 2003. – Vol. 90, N 5. – P. 940–948.
13. Aksoy S., Kilickap S., Hayran M. et al. // Int. J. Lab. Hematol. – 2008. – Vol. 30, N 3. – P. 214–219.
14. Alswedan S. A., Al-Shurman A., Mahmoud A. S. // J. Pediatr. Hematol. Oncol. – 2008. – Vol. 30, N 12. – P. 953–955.
15. Arad I. D., Alpan G., Sznajderman S. D., Eldor A. // Am. J. Perinatol. – 1986. – Vol. 3, N 1. – P. 1–3.
16. Bae S. H., Lee J., Roh K. H., Kim J. // Korean J. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 17, N 2. – P. 140–144.
17. Bancroft A. J., Abel E. W., McLaren M. Belch J. J. // Platelets. – 2002. – Vol. 11. – P. 379–387.
18. Bath P. M., Butterworth R. J. // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 1996. – Vol. 7, N 2. – P. 157–161.
19. Becchi C., Al Malyan M., Fabbri L. P. et al. // Minerva Anestesiol. – 2006. – Vol. 72, N 9. – P. 749–756.
20. Bessman J. D., Williams L. J., Gilmer P. R. Jr. // Am. J. Clin. Pathol. – 1981. – Vol. 76. – P. 289–293.
21. Bessman J. D., Gardner F. H. // Surg. Gynecol. Obstet. – 1983. – Vol. 156, N 2. – P. 177–180.
22. Bessman J. D. // Am. J. Hematol. – 1984. – Vol. 16, N 2. – P. 161–170.
23. Bessman J. D., Gilmer P. R., Gardner F. H. // Blood Cells. – 1985. – Vol. 11, N 1. – P. 127–135.
24. Boos C. J., Beevers G. D., Lip G. Y. // Ann. Med. – 2007. – Vol. 39, N 1. – P. 72–78.



25. Boos C. J., Balakrishnan B., Lip G. Y. // J. Thromb. Thrombolysis. – 2008. – Vol. 25, N 2. – P. 135–140.
26. Borkatoky S., Jain R., Gupta R. et al. // Hematology. – 2009. – Vol. 14, N 3. – P. 182–186.
27. Bowles K. M., Cooke L. J., Richards E. M., Baglin T. P. // Clin. Lab. Haematol. – 2005. – Vol. 27, N 6. – P. 370–373.
28. Brummitt D. R., Barker H. F. // Clin. Lab. Haematol. – 2000. – Vol. 22, N 2. – P. 103–107.
29. Brummitt D. R., Barker H. F., Pujol-Moix N. // Clin. Lab. Haematol. – 2003. – Vol. 25, N 1. – P. 59–62.
30. Butterworth R. J., Bath P. M. // Platelets. – 1998. – Vol. 9, N 6. – P. 359–364.
31. Canpolat F. E., Yurdakok M., Armangil D., Yigit S. // Pediatr. Int. – 2009. – Vol. 51, N 2. – P. 314–316.
32. Catal F., Baybek N., Bayrak O. et al. // Ren. Failure. – 2008. – Vol. 30, N 4. – P. 377–381.
33. Cesari E., Marcucci R., Caporale R. et al. // Thromb. Haemost. – 2008. – Vol. 99, N 5. – P. 930–935.
34. Chapman E. S., Sorette M., Hetherington E. et al. // Thromb. Haemost. – 2003. – Vol. 89, N 6. – P. 1004–1015.
35. Coban E., Ozdogan M., Yazicioglu G., Akcit F. // Int. J. Clin. Pract. – 2005. – Vol. 59, N 8. – P. 981–982.
36. Coban E., Kucuktag S., Basyigit S. // Platelets. – 2007. – Vol. 18, N 8. – P. 591–594.
37. Coban E., Yilmaz A., Sari R. // Platelets. – 2007. – Vol. 18, N 3. – P. 212–216.
38. Colkesen Y., Acil T., Abayli B. et al. // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 2008. – Vol. 19, N 5. – P. 411–414.
39. Cooke J., Murphy T., McFadden E. et al. // Hematology. – 2009. – Vol. 14, N 2. – P. 111–114.
40. Dastugue N., Picheloup F., Sie P. et al. // Nouv. Presse Med. – 1982. – Vol. 11, N 39. – P. 2899–2901.
41. Demirtunc R., Duman D., Basar M. et al. // J. Diabet. Compl. – 2009. – Vol. 23, N 2. – P. 89–94.
42. Doua T., Bures J., Rejchrt S. et al. // Cas. Lek. Cesk. – 2006. – Vol. 145, N 11. – P. 870–873.
43. Dyszkiewicz-Korpany, Quinton R., Yassine J., Sarode R. // J. Thromb. Haemost. – 2004. – Vol. 2, N 2. – P. 354–356.
44. Endler G., Klimesch A., Sunder-Plassmann H. et al. // Br. J. Haematol. – 2002. – Vol. 117. – P. 399–404.
45. Giacomini A., Legovini P., Gessoni G. et al. // Clin. Lab. Haematol. – 2001. – Vol. 23, N 3. – P. 181–186.
46. Giacomini A., Legovini P., Antico F. et al. // Lab. Hematol. – 2003. – Vol. 9, N 3. – P. 132–137.
47. Giles C. // Br. J. Haematol. – 1981. – Vol. 48, N 1. – P. 31–37.
48. Greisenegger S., Endler G., Hsieh K. et al. // Stroke. – 2004. – Vol. 35. – P. 1688–1691.
49. Guida J. D., Kunig A. M., Leef K. H. et al. // Pediatrics. – 2003. – Vol. 111, N 6, Pt 1. – P. 1411–1415.
50. Harrison P., Goodall A. H. // Platelets. – 2008. – Vol. 19, N 6. – P. 395–404.
51. Hekimsoy Z., Payzin B., Ornek T., Kandogan G. // J. Diabet. Compl. – 2004. – Vol. 18, N 3. – P. 173–176.
52. Henning B. F., Zidek W., Linder B., Tepel M. // Kidney Blood Press Res. – 2002. – Vol. 25, N 2. – P. 103–108.
53. Howarth S., Marshall L. R., Barr A. L., Evans S. // Br. J. Biomed. Sci. – 1999.
54. Ifran A., Hasimi A., Kaptan K. et al. // Transfus. Apher. Sci. – 2005. – Vol. 33, N 2. – P. 87–90.
55. Ihara A., Matsumoto K., Kawamoto T. et al. // Pathophysiol. Haemost. Thromb. – 2005. – Vol. 34, N 6. – P. 269–273.
56. Ihara A., Kawamoto T., Matsumoto K. et al. // Pathophysiol. Haemost. Thromb. – 2006. – Vol. 35, N 5. – P. 376–379.
57. Jeon D., Ryoo N., Ha J. et al. // Int. J. Lab. Hematol. – 2008. – Vol. 30, N 1. – P. 144.
58. Jagroop I. A., Clatworthy I., Lewin J., Mikhailidis D. P. // Platelets. – 2000. – Vol. 11, N 1. – P. 28–32.
59. Jagroop I. A., Mikhailidis D. P. // J. Hum. Hypertens. – 2000. – Vol. 14, N 9. – P. 581–585.
60. Jagroop I. A., Mikhailidis D. P. // J. Hum. Hypertens. – 2001. – Vol. 15, N 3. – P. 203–207.
61. Jagroop I. A., Tsiara S., Mikhailidis D. P. // Platelets. – 2003. – Vol. 14, N 5. – P. 335–336.
62. Jagroop I. A., Mikhailidis D. P. // Clin. Appl. Thromb. Hemost. – 2008. – Vol. 14, N 3. – P. 295–302.
63. Kadikoylu G., Yavasoglu I., Bolaman Z., Senturk T. // J. Natl. Med. Assoc. – 2006. – Vol. 98, N 3.
64. Kaito K., Otsubo H., Usui N. et al. // Br. J. Haematol. – 2005. – Vol. 128. – P. 698–702.
65. Kapsoritakis A. N., Koukourakis M. I., Sfridakis A. et al. // Am. J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 96, N 3. – P. 776–781.
66. Kerker M. The scattering of light and other electromagnetic radiation. – New York, 1969. – P. 54–59.
67. Khandekar M. M., Khurana A. S., Deshmukh S. D. et al. // J. Clin. Pathol. – 2006. – Vol. 59, N 2. – P. 146–149.
68. Kilicli-Camur N., Demirtunc R., Konuralp C. et al. // Med. Sci. Monit. – 2005. – Vol. 11, N 8. – P. CR387–CR392.
69. Kim H. K., Kim J. E., Ham C. K. et al. // Int. J. Lab. Hematol. – 2008. – Vol. 30, N 2. – P. 117–123.
70. Kratz A., Wood M. J., Siegel A. J. et al. // Am. J. Clin. Pathol. – 2006. – Vol. 125, N 2. – P. 296–300.
71. Kratz A., Salem R., Van Cott E. // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2007. – Vol. 131, N 2. – P. 293–296.
72. Lamparelli R. D., Baynes R. D., Atkinson P. et al. // S. Afr. Med. J. – 1988. – Vol. 73, N 1. – P. 36–39.
73. Lance M. D., van Oerle R., Henskens Y. M., Marcus M. A. // Lab. Hematol. – 2010. – Vol. 16, N 3. – P. 28–31.
74. Levin J., Bessman J. D. // J. Lab. Clin. Med. – 1983. – Vol. 101, N 2. – P. 295–307.
75. Lim Y. A., Hyun B. H. // Clin. Lab. Haematol. – 2002. – Vol. 24, N 6. – P. 377–384.
76. Macchi I., Chamlian V., Sadoun A. et al. // Eur. J. Haematol. – 2002. – Vol. 69, N 3. – P. 152–157.
77. Macey M. G., Carty E., Webb L. et al. // Cytometry. – 1999. – Vol. 38, N 5. – P. 250–255.
78. Macey M., Azam U., McCarthy D. et al. // Clin. Chem. – 2002. – Vol. 48, N 6, Pt 1. – P. 891–899.
79. Macey M., McCarthy D., Azam U. et al. // Cytometry B. Clin. Cytom. – 2003. – Vol. 51, N 1. – P. 30–40.
80. McShine R. L., Sibinga S., Brozovic B. // Clin. Lab. Haematol. – 1990. – Vol. 12, N 3. – P. 277–285.
81. Michel M., Kreidel F., Chapman E. S. et al. // Haematologica. – 2005. – Vol. 90. – P. 1715–1716.
82. Muscari A., De Pascalis S., Cenni A. et al. // Thromb. Haemost. – 2008. – Vol. 99, N 6. – P. 1079–1084.
83. Nadar S. K., Blann A. D., Kamath S. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2004. – Vol. 44, N 2. – P. 415–422.
84. Ntaios G., Papadopoulos A., Chatzinikolaou A. et al. // Acta Haematol. – 2008. – Vol. 119. – P. 173–177.
85. Numbenjapon T., Mahapo N., Pornvipavee R. et al. // Int. J. Lab. Hematol. – 2008. – Vol. 30, N 5. – P. 408–414.
86. Park Y., Schoene N., Harris W. // Platelets. – 2002. – Vol. 13, N 5–6. – P. 301–306.
87. Park Y., Harris W. // Lipids. – 2002. – Vol. 37, N 10. – P. 941–946.
88. Patrick C. H., Lazarchick J., Stubbs T., Pittard W. B. // Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol. – 1987. – Vol. 9, N 2. – P. 130–132.
89. Patrick C. H., Lazarchick J. // Am. J. Clin. Pathol. – 1990. – Vol. 93, N 3. – P. 391–394.
90. Schultheiss H. P., Tschoepe D., Esser J. et al. // Eur. J. Clin. Invest. – 1994. – Vol. 24, N 4. – P. 243–247.
91. Sharpe P. C., Trinick T. // Quart. J. Med. – 1993. – Vol. 86, N 11. – P. 739–742.
92. Sharpe P. C., Desai Z. R., Morris T. C. // J. Clin. Pathol. – 1994. – Vol. 47, N 2. – P. 159–161.
93. Takubo T., Yamane T., Hino M. et al. // Haematologia (Budap.). – 2000. – Vol. 30, N 3. – P. 183–192.
94. Taniguchi T., Takagi D., Takeyama N. et al. // J. Surg. Res. – 1990. – Vol. 49, N 5. – P. 400–407.
95. Thompson C. B., Jakubowski J. A., Quinn P. G. et al. // J. Lab. Clin. Med. – 1983. – Vol. 101, N 2. – P. 205–213.
96. Thompson C. B., Love D. G., Quinn P. G., Valeri C. R. // Blood. – 1983. – Vol. 62, N 2. – P. 487–494.
97. Thompson C. B., Diaz D. D., Quinn P. G. et al. // Am. J. Clin. Pathol. – 1983. – Vol. 80, N 3. – P. 327–332.
98. Tschoepe D., Roosen P., Esser J. et al. // Semin. Thromb. Hemost. – 1991. – Vol. 17, N 4. – P. 433–438.
99. Van der Lelie J., Von dem Borne A. K. // J. Clin. Pathol. – 1983. – Vol. 36, N 6. – P. 693–696.
100. Yazici M., Kaya A., Kaya Y. et al. // Platelets. – 2009. – Vol. 20, N 1. – P. 58–63.
101. Yetkin E. // Thromb. Haemost. – 2008. – Vol. 100, N 1. – P. 3–4.
102. Yilmaz Z., Eralp O., Ilcol Y. O. // Vet. Clin. Pathol. – 2008. – Vol. 37, N 2. – P. 159–163.
103. Yilmaz M. B., Cihan G., Guray Y. et al. // J. Thromb. Thrombolysis. – 2008. – Vol. 26, N 1. – P. 49–54.