

МОРФОЛОГИЯ ТРОМБОЦИТОВ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ, ПО ДАННЫМ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

© Леонтьев М.А.¹, Пылаев Т.Е.², Поливода Е.А.², Буров А.М.², Леонтьева А.В.³, Масляков В.В.¹, Водова А.В.⁴

¹ Медицинский университет «Реавиз» (Реавиз)

Россия, 410012, Саратовская обл., г. Саратов, ул. Верхний рынок, корп. 10

² Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук (ИБФРМ РАН)

Россия, 410049, Саратовская обл., г. Саратов, проспект Энтузиастов, д. 13

³ Клинический перинатальный центр Саратовской области (КПЦ Саратовской обл.)

Россия, 410047, Саратовская обл., г. Саратов, ул. Зерновая, д. 33

⁴ Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова (РНИМУ им. Н.И. Пирогова)

Россия, 117997, Московская обл., г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

Цель: изучить морфологические особенности тромбоцитов новорожденных детей при помощи электронной микроскопии.

Материалы и методы. Изучались тромбоциты периферической крови здоровых новорожденных методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). В выборку вошли 50 здоровых детей из клинического перинатального центра Саратовской области, родившихся на сроке гестации 37-42 недели с оценкой по шкале В. Апгар (1952) на первой минуте не менее 7 баллов. После забора крови получали богатую тромбоцитами плазму (БТП) путем центрифугирования.

Результаты. В результате проведенного исследования были выявлены три формы тромбоцитов: 1. Неактивные, округлой или чаще овальной формы, в которых различимы практически все внутриклеточные структуры, характерные для тромбоцитов; 2. Активированные формы, имеющие длинные отростки (псевдоподии) и обычно не содержащие гранул; 3. Переходные формы – по-видимому, тромбоциты на начальных стадиях активации: в них происходит расширение элементов открытой канальцевой системы (ОКС), что приводит к образованию вакуолей. Однако у них еще нет выраженной перестройки цитоскелета и, соответственно, длинных отростков и значимого изменения формы. Тромбоциты новорожденных гетерогенны по морфофункциональному состоянию: большинство представлено неактивными формами 82(80-85)%, меньшая часть включает активированные 15(13-17)% и переходные формы 3(2-4)%. Тромбоцитарные микрочастицы (ТМ) являются производными тромбоцитов и также различаются по размеру и структуре. Они могут быть представлены простыми везикулами без внутреннего содержимого, а могут иметь секреторные гранулы, участвующие в передаче сигнальной информации другим тромбоцитам и эндотелиальным клеткам. В нашем исследовании было обнаружено несколько механизмов образования и отделения ТМ от "тромбоцитов-предшественников", но их смысл еще до конца не понят и требует дальнейшего изучения.

Заключение. Продемонстрирована неоднородность популяции тромбоцитов новорожденных, связанная с их морфофункциональным состоянием, для удобства описания выделено три морфологических класса тромбоцитов. Сформулировано предположение о возможных механизмах образования ТМ.

Ключевые слова: тромбоциты; новорожденные; морфология; трансмиссионная электронная микроскопия.

Леонтьев Михаил Александрович – аспирант кафедры морфологии и патологии, Реавиз, г. Саратов. ORCID iD: 0000-0003-1715-6944. E-mail: miwa_leontev@mail.ru

Пылаев Тимофей Евгеньевич – канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии, ИБФРМ РАН, г. Саратов. ORCID iD: 0000-0001-7368-9089. E-mail: pylaevte@gmail.com

Поливода Елена Александровна – науч. сотрудник лаборатории нанобиотехнологии, ИБФРМ РАН, г. Саратов. ORCID iD: 0000-0002-8358-4480. E-mail: mail@ibppm.ru

Буров Андрей Михайлович – канд. хим. наук, ведущий инженер лаборатории иммунохимии, ИБФРМ РАН, г. Саратов. ORCID iD: 0000-0002-3067-3754. E-mail: guliy_olga@mail.ru

Леонтьева Анастасия Владимировна – врач анестезиолог-реаниматолог, КПЦ Саратовской обл., г. Саратов. ORCID iD: 0000-0002-1785-1958. E-mail: zobeida2007@yandex.ru

Масляков Владимир Владимирович – д-р мед. наук, зав. кафедрой клинической медицины, Реавиз, г. Саратов. ORCID iD: 0000-0002-1788-0230. E-mail: maslyakov@inbox.ru (автор, ответственный за переписку)

Водова Анастасия Васильевна – студентка, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва. ORCID iD: 0000-0001-9395-9699. E-mail: petjjiji@mail.ru

На сегодняшний день имеется ограниченное количество работ, касающихся изучения морфологии тромбоцитов на электронно-микроскопическом уровне, а подобных исследований у но-

ворожденных до настоящего времени не проведено. Метод трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) позволяет визуализировать ультраструктуру тромбоцита, выявить маркеры

его активации, изучить процессы адгезии, агрегации и дегрануляции. С его помощью возможно произвести разделение тромбоцитов новорожденных на классы, а также подробнее изучить такие структуры, как тромбоцитарные микрочастицы (ТМ).

Целью данной работы является изучение морфологии тромбоцитов новорожденных детей при помощи трансмиссионной электронной микроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено обследование 50 детей, рожденных без патологии на сроке гестации от 37 до 42 недель. Новорожденные находились в Клиническом перинатальном центре Саратовской области, их оценку при рождении проводили с использованием шкалы, предложенной В. Апгар (1952). В выборку были включены новорожденные, оценка которых на первой минуте после рождения составляла не менее чем семь баллов. Исследование выполнено в соответствии с «Основами законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан» от 22.07.1993 № 5487-1 (с изменениями от 02.02.2006), приказом ФМБА РФ от 30.03.2007 № 88 и ст. 20 Федерального закона РФ от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Для исследования осуществлялся забор тромбоцитов из периферической крови.

Взятие венозной крови производили по рекомендациям, данным международным комитетом по стандартизации в гематологии (ICSH). Для этого стандартным способом выполняли венепункцию. Биологический материал собирался в вакуумную пробирку, содержащую определенное количество калиевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА КЗ). Богатую тромбоцитами плазму (БТП) получали следующим образом: собранную кровь в течение пяти минут центрифугировали на скорости 1200 оборотов в минуту, после чего производился забор надосадка. Полученный в результате этой манипуляции материал готовили для проведения исследования с использованием электронного микроскопа, процедура подготовки проходила в несколько этапов. На первом этапе пробоподготовки БТП в количестве 1 мл осаждалась путем центрифугирования в течение пяти минут на скорости 200 оборотов в минуту. Затем полученный материал фиксировался с применением 0,1% раствора глутарового альдегида (ГА), приготовленного на основе коммерческого 0,02% раствора Версена (Биолот, Россия, арт. 1.2.3.). Время, затраченное на приготовление

раствора, составляло 1 час при комнатной температуре. После этого полученный препарат фиксировали с применением уже 3% раствора ГА, который был приготовлен с использованием того же буфера, при этом время на приготовление раствора составляло двенадцать часов, а температура – плюс четыре градуса Цельсия. Затем промывали буфером от ГА три раза, выдержка составляла 10-15 мин. После промывки проводилась постфиксация, которая занимала 3-4 часа в растворе 1% OsO₄ в условиях комнатной температуры.

Для дегидратации использовался этанол в увеличивающихся концентрациях: 30% раствор для ополаскивания несколько раз, затем 50% – для двукратного выдерживания с экспозицией 15 мин, после этого аналогичным образом препарат выдерживался в 70% и 90% растворах по 2 раза в течение 15 минут в каждом. На последнем этапе использовался 100% раствор этанола, в котором также выдерживали препарат дважды по 15 мин. После этанола образец три раза помещался в ацетон, время экспозиции составляло 20 мин, а затем – два раза на 30 мин в окись пропилен. Одновременно с этим проводили приготовление смолы: Епон 812 – 15 мл, DDSA – 6 мл, MNA – 9 мл, DMP 30 – 0,6 мл. В дальнейшем препарат пропитывался приготовленной смолой и окисью пропилена (ОП) по 12 часов. Соотношение составляло: 2:1 (ОП-смола) – день, 1:1 (ОП-смола) – ночь, 1:2 (ОП-смола) – день, затем в течение ночи использовалась только смола. Обработанный таким образом препарат заливался в специальную формочку для последующей полимеризации. Она проводилась следующим образом: 24 часа при температуре 37°C, 24 часа при температуре 45°C, 24 часа при температуре 57°C. В дальнейшем осуществляли подготовку срезов образцов, толщина которых составляла 50-70 нм. Для этого использовался ультрамикротом Reichert-jung UltraCut E Ultramicrotome. Готовые срезы помещались на сеточки, предназначенные для исследования образцов на просвечивающем электронном микроскопе (50-100 Mesh с формваровой подложкой и без нее). По окончании манипуляций препарат подсушивался на воздухе.

Электронно-микроскопическая визуализация ультраструктуры тромбоцитов проводилась на научном оборудовании в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии в «Симбиоз» ИБФРМ РАН. Для этого использовался электронный микроскоп Libra 120 фирмы Carl Zeiss, производства Германия, при напряжении 120 кВ и диапазоне увеличений x2500-10000.

Математический и статистический анализы результатов обследования пациентов проведены с использованием пакетов прикладных про-

грамм Statistica 7.0 for Windows корпорации StatSoft-Russia, Microsoft Office Excel 2016, результаты представлены в виде медианы и квартилей (Me, Q25, Q75).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе данного исследования получены высококачественные микрофотографии тромбоцитов новорожденных. Проведен их анализ, в результате которого обнаружено, что, несмотря на большое разнообразие морфологических форм среди тромбоцитов, существуют определенные признаки, которые дают возможность отнести их к одному из выделенных нами классов, характеристика каждого из которых будет представлена в дальнейшем.

К первому классу были отнесены неактивные тромбоциты, обнаруженные у здоровых новорожденных. Они имеют округлую или дисковидную форму, средний размер составляет от 2 мкм до 3 мкм. При этом большинство ана-

лизируемых тромбоцитов, которые были отнесены к данному классу, преимущественно содержали α -гранулы, размером 300-500 нм, реже – плотные β -гранулы, размер которых составлял 200-350 нм. Помимо этого, были обнаружены образования, плотность которых сопоставима с β -гранулами, но их размер был гораздо меньше и составлял 100-200 нм – данные образования, вероятнее всего, являются γ -гранулами. При исследовании ряда препаратов были выявлены лизосомы и микропероксисомы, встречались единичные митохондрии. Гликоген был представлен в виде гранул, которые в некоторых случаях были диффузно «рассыпаны» по всей площади тромбоцита, а в других – концентрировались в небольшие скопления. Отдельного внимания заслуживает открытая канальцевая система (ОКС): она состоит из извитых канальцев и вакуолей разных размеров, при этом извитые канальцы в большинстве наблюдений имели контакты с цитолеммой. В данных формах тромбоцитов вакуоли и элементы ОКС различались нечетко (рис. 1).

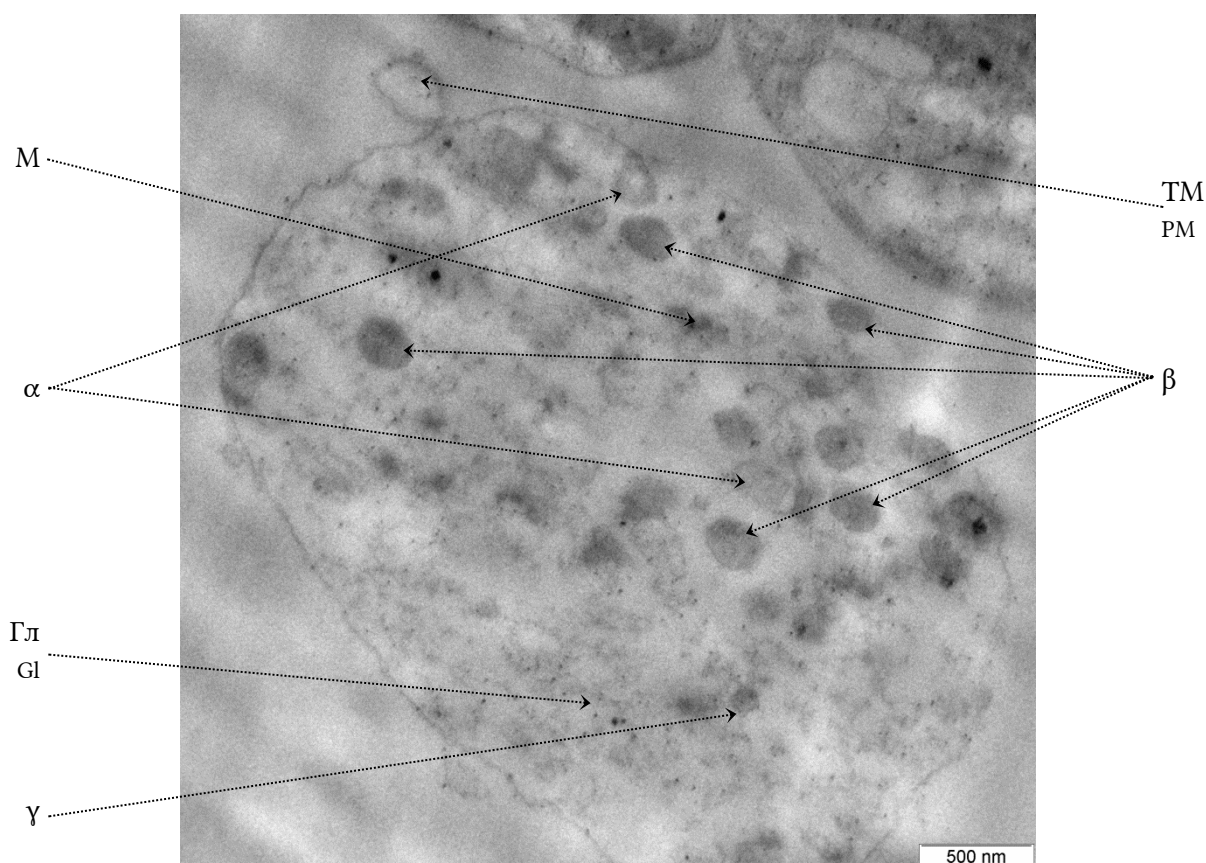


Рис. 1. Неактивный тромбоцит. Микрофотография тромбоцита, выполненная с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, $\times 10000$. Заметны многочисленные α -гранулы (α), β -гранулы (β), γ -гранулы (γ), гранулы гликогена (Гл), диффузно расположенные по всей площади тромбоцита, а также малочисленные митохондрии (М). В верхнем левом углу представлена тромбоцитарная микрочастица (ТМ).

Fig. 1. Inactive platelet. Platelet microphotography performed by transmission electron microscopy, $\times 10,000$. There are numerous α -granules (α), β -granules (β), γ -granules (γ), glycogen granules (Gl), diffusely located throughout the platelet area, and low-number mitochondria (M). In the upper-left corner there is a platelet microparticle (PM).



Рис. 2. Переходная форма тромбоцита. Микрофотография препарата тромбоцитов здоровых новорожденных, выполненная с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, x10000.

Примечание: представлена переходная форма тромбоцита, заметна хорошо развитая открытая канальцевая система (ОКС), имеющая контакт с наружной поверхностью цитолеммы, многочисленные вакуоли, единичные α -гранулы (α), смещенные к периферической части клетки, гликоген (Гл), расположенный глыбками

Fig. 2. Transitional form of a platelet. Microphotography of platelet preparation of healthy newborns performed by transmission electron microscopy, x10,000.

Note: there is the transitional form of the platelet, it's easy to see a well-developed open tubular system (OTS) that has contact with the outer surface of the cytolemma, numerous vacuoles, single α -granules (α) displaced to the peripheral part of the cell, and glycogen (GL) arranged in lumps.

Следующий класс тромбоцитов новорожденных представлен переходными формами. Они имеют незначительные отличия от неактивных форм, которые обусловлены преимущественно морфометрическими характеристиками, так как их линейный размер и площадь поверхности соответствуют таковым у неактивных. Морфологически они отличаются тем, что у данных форм в наличии имеются расширенные элементы ОКС – вакуоли. Гранулярный аппарат представлен немногочисленными, смещенными к периферии α -гранулами, при этом в большинстве наблюдений β -гранулы отсутствовали. В отличие от неактивных тромбоцитов, в переходных формах гликоген характеризуется не диффузным расположением по всей площади, а концентрацией в виде «глыбок» (рис. 2).

Активированные формы тромбоцитов, в свою очередь, характеризуются как образования с выраженными морфологическими изменениями. Так, в результате происходящей реор-

ганизации цитоскелета, у них появляются отростки разнообразной длины (псевдоподии). При этом тромбоцит приобретает неправильную форму. Практически полностью отсутствуют гранулы всех видов, изредка могут встречаться единичные α -гранулы. Гликоген в таких тромбоцитах представлен в виде отдельных глыбок (рис. 3).

В ходе микроскопии было выявлено большое количество различных тромбоцитарных микрочастиц, описанных ранее многими авторами [3, 6]. Некоторые из них представляют собой простые пузырьки без внутреннего содержимого, другие же имеют гранулы; средний размер ТМ составляет 250 нм. Исходя из взаимного расположения тромбоцитов и ТМ, было высказано предположение о существовании нескольких механизмов их образования. Первый механизм основан на том, что ТМ формируются интралюминально внутри больших многовезикулярных вакуолей, а затем выходят наружу

через элементы ОКС. Второй механизм, вероятно, связан с выпячиванием и отделением участка клеточной мембраны концевой отдела тромбоцита с нарушением ее целостности. Еще один возможный механизм связан с отделением ТМ от тромбоцитов путем расслоения плазматической мембраны и отщеплением микровезикулы без разрушения цитолеммы; при этом в месте, где происходило отделение, имелаась некая вогнутость – «ложе» ТМ (рис. 4).

Сотнося результаты с работами предшествующих исследователей, которые выделяют при ТЭМ зрелые (90,87%), старые (3,82%) и дегенеративные (5,31%) формы [1], мы приходим к выводу о получении сопоставимых данных: зрелым формам соответствуют неактивные 82 (80-85)%, старым – переходные 3 (2-4)%, есть различия по содержанию активированных, или дегенеративных форм 15 (13-17)%. Они могут быть обусловлены тем, что приводимые авторами данные получены при исследовании взрослых лиц.

Также нами было обнаружено большое количество разнообразных ТМ. Вероятнее всего,

они образуются из тромбоцитов при гибели, активации или стимуляции, и представляют собой микроскопические структуры, размером от 100 до 1000 нм, возникающие в результате «расслоения» плазматической мембраны и образования «мембранных пузырей», несущие на своей поверхности антигены наследственного тромбоцита [4, 5]. Они гетерогенны как по размеру, так и по строению и могут быть представлены простыми пузырьками, без внутреннего содержания, а могут иметь секреторные гранулы, с помощью которых передается «сигнальная информация» для других тромбоцитов и клеток эндотелия. Если еще недавно их считали инертными остатками тромбоцитов, то к настоящему времени доказано, что ТМ являются важнейшими участниками практически всех известных физиологических и патологических процессов, благодаря содержанию в них нуклеиновых кислот и белков, при помощи которых они способны передавать «биологические сообщения» клеткам-мишеням [2, 7].

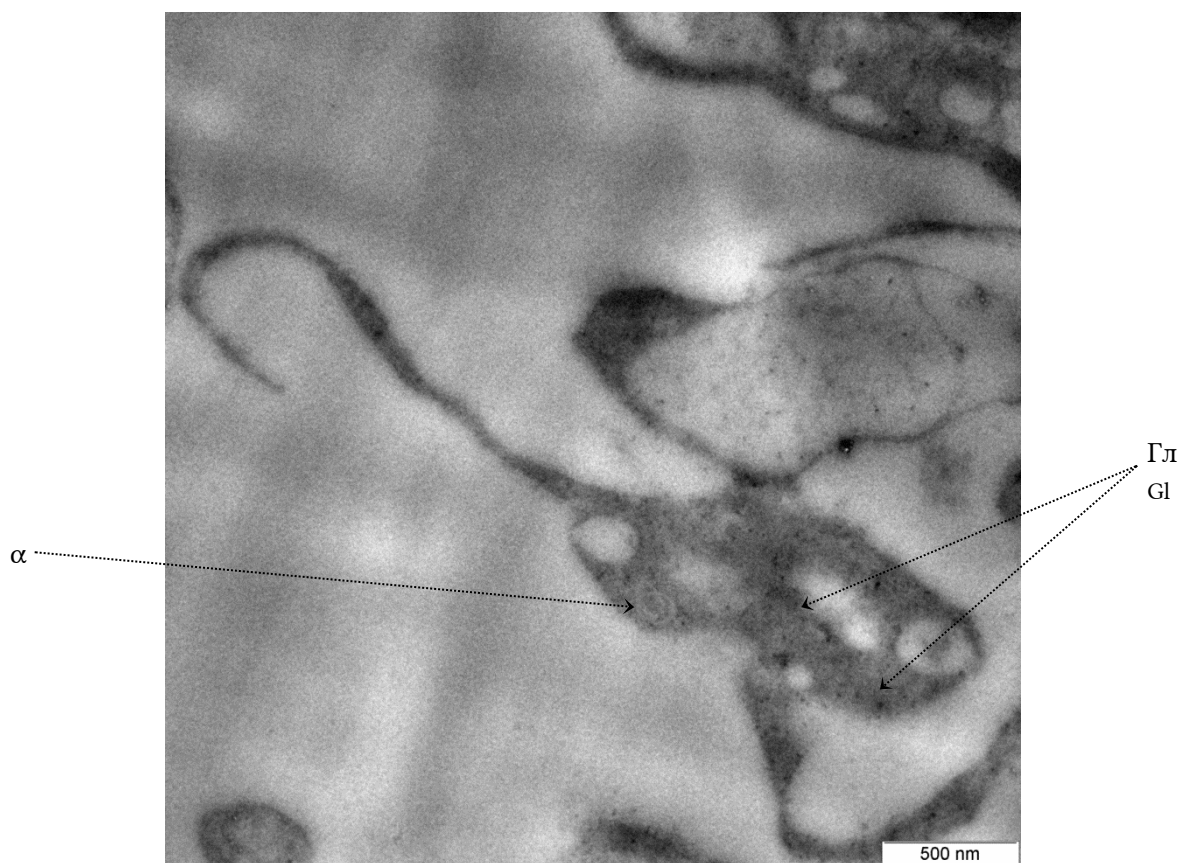


Рис. 3. Активированный тромбоцит. Микрофотография препарата тромбоцитов здоровых новорожденных, выполненная с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, $\times 10000$.

Примечание: представлен активированный тромбоцит, имеющий длинные ветвящиеся отростки, сохранены единичные α -гранулы (α), скопления глыбок гликогена (Гл).

Fig. 3. Activated platelet. Microphotography of platelet preparation of healthy newborns performed by transmission electron microscopy, $\times 10000$.

Note: there are the activated platelets with long branching processes, still remaining single α -granules (α), and clusters of glycogen lumps (Gl).

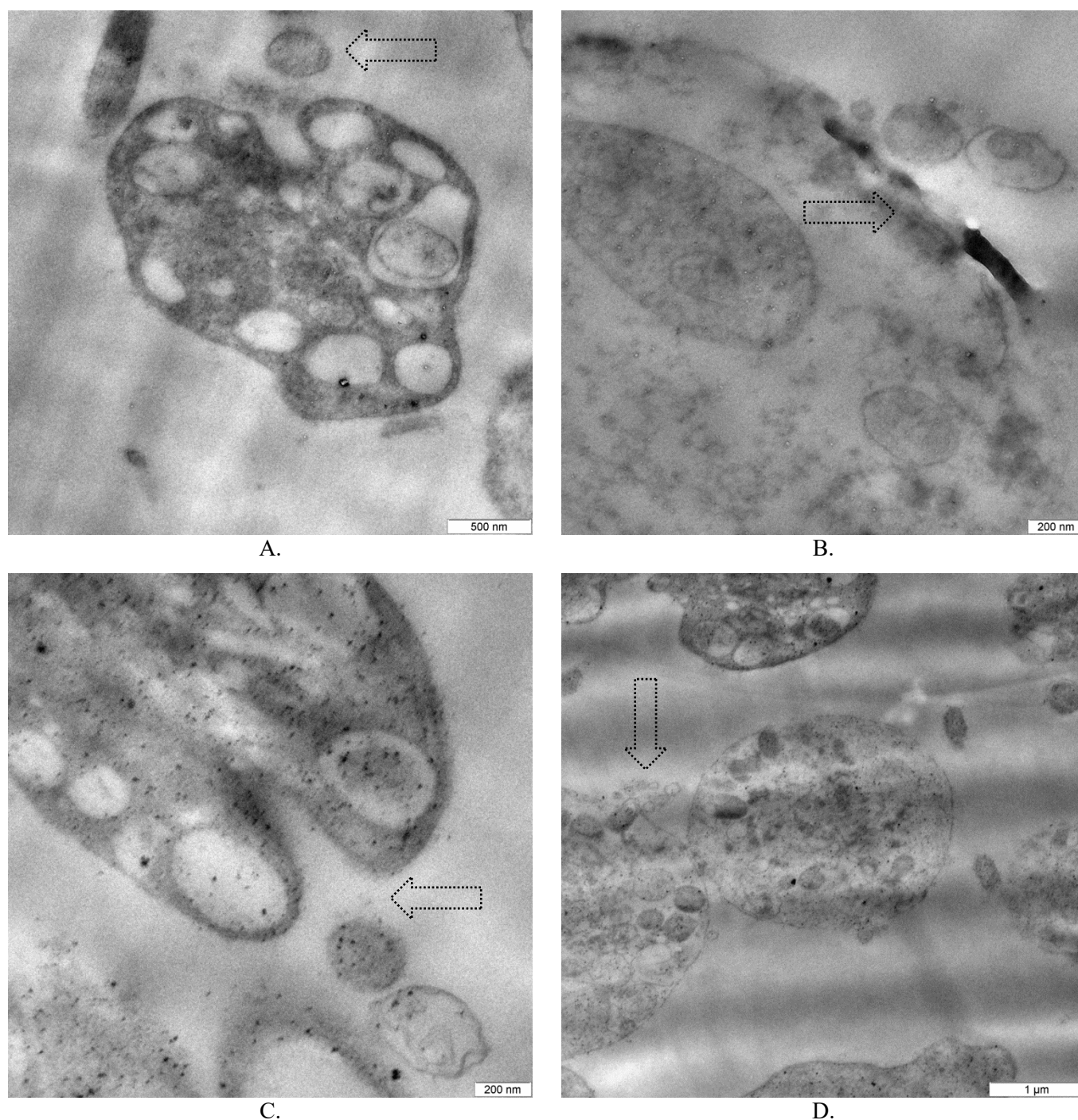


Рис. 4. Образование тромбоцитарных микрочастиц. Микрофотографии препаратов тромбоцитов новорожденных, выполненные с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, x10000.

Примечание: на рисунке А и С представлен процесс отделения тромбоцитарных микрочастиц от тромбоцита без нарушения целостности цитоплазматической мембраны; на рисунке В заметен дефект цитолеммы в месте отделения тромбоцитарных микрочастиц; на рисунке D показана секреция тромбоцитом мелких тромбоцитарных микрочастиц в виде пузырьков.

Fig. 4. Formation of platelet microparticles. Microphotography of platelet preparation of newborns performed by transmission electron microscopy, x10000.

Note: figures A and C show the process of separating platelet microparticles from the platelet without breaching the integrity of the cytoplasmic membrane; figure B shows a defect in the cytolemma at the site of platelet microparticle separation; figure D shows the platelet secretion of small vesicle-shaped platelet microparticles.

Соотношение основных морфологических форм тромбоцитов

The ratio of the main morphological forms of platelets

Формы Forms	Неактивные, % Inactive, %	Переходные, % Transitional, %	Активированные, % Activated, %
Me	82	3	15
Q25-Q75	80-85	2-4	13-17

Наше исследование обнаружило несколько механизмов формирования и отделения ТМ от «родительского тромбоцита», однако смысл существования этих нескольких различных механизмов пока до конца не понятен, и его только предстоит изучить.

Стоит отметить, что все обнаруженные нами исследования на тему электронной микроскопии касались исключительно взрослых лиц – наличия аналогичных исследований у новорожденных не установлено, что, вероятнее всего, связано с недоступностью для широкого круга пользователей данной методики ввиду высокой стоимости оборудования и сложной предварительной подготовки. Таким образом, данное исследование в этой возрастной категории выполнено впервые, в связи с этим для формулировки более предметных выводов, необходимо продолжить исследования в данном направлении.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом при Медицинском университете «Реавиз» (протокол №8 от 12.09.2017 г.). Представителем каждого пациента было подписано индивидуальное согласие на участие в исследовании.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Леонтьев М.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста; Пылаев Т.Е., Поливода Е.А., Буров А.М., Леонтьева А.В. – сбор и обработка материала; Масляков В.В. – статистическая обработка, редактирование; Водова А.В. – редактирование

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Пономарева А.А., Невзорова Т.А., Мордаханова Э.Р., Андрианова И.А., Литвинов Р.И. Структурная характеристика тромбоцитов и тромбоцитарных микровезикул. *Цитология*. 2016;58(2):105-114. [Ponomareva A.A., Nevzorova T.A., Mor-dakhanova E.R., Andrianova I.A., Litvinov R.I. Structural characterization of platelets and platelet-derived microvesicles. *Cell and tissue biology*. 2016;58(2):105-114 (in Russ.).]
2. Budak Ya.U., Polat M., Huysal K. The use of platelet indices, plateletcrit, mean platelet volume and platelet distribution width in emergency non-traumatic abdominal surgery: a systematic review. *Biochem Med (Zagreb)*. 2016;26(2):178-193. DOI: 10.11613/BM.2016.020
3. Gaetani E., Del Zompo F., Marcantoni M., Gatto I., Giarretta I., Porfidia A., Scaldaferrì F., Laterza L., et al. Microparticles Produced by Activated Platelets Carry a Potent and Functionally Active Angiogenic Signal in Subjects with Crohn's Disease. *Int J Mol Sci*. 2018;19(10):2921. DOI: 10.3390/ijms19102921
4. McGinn C.M., MacDonnell B.F., Shan C.X., Wallace R., Cummins P.M., Murphy R.P. Microparticles: A Pivotal Nexus in Vascular Homeostasis and Disease. *Curr Clin Pharmacol*. 2016;11(1):28-42. DOI: 10.2174/1574884711666160122093527
5. Rautou P.E., Vion A.C., Amabile N., Chironi G., Simon A., Tedgui A., Boulanger C.M. Microparticles, vascular function, and atherothrombosis. *Circ Res*. 2011;109(5):593-606. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.110.233163
6. Reei M.C., Fustolo-Gunnink S.F., Bekker V., Fijnvandraat K.J., Steggerda S.J., Lopriore E. Thrombocytopenia in neonatal sepsis: Incidence, severity and risk factors. *PloS one*. 2017;12(10):e0185581. DOI: 10.1371/journal.pone.0185581
7. Thushara R.M., Hemshekhar M., Basappa K.K., Rangappa, K.S., Girish, K.S. Biologicals, platelet apoptosis and human diseases: an outlook. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015;93(3):149-158. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2014.11.002

Поступила в редакцию 28.02.2020

Подписана в печать 22.06.2020

Для цитирования: Леонтьев М.А., Пылаев Т.Е., Поливода Е.А., Буров А.М., Леонтьева А.В., Масляков В.В., Водова А.В. Морфология тромбоцитов новорожденных детей, по данным электронной микроскопии. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2020;(2):74–81. DOI: 10.21626/vestnik/2020-2/10.

MORPHOLOGY OF PLATELETS OF NEWBORNS BY USING ELECTRON MICROSCOPY

© Leontyev M.A.¹, Pylaev T.E.², Polivoda E.A.², Burov A.M.², Leontyeva A.V.³, Maslyakov V.V.¹, Vodova A.V.⁴

¹ Medical University "Reaviz" (Reaviz)

10, Verhniy rynok Str., Saratov, Saratov region, 410012, Russian Federation

² Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms of Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS)

1, Lenin Av., Makhachkala, Republic of Dagestan, 360000, Russian Federation

³ Clinical Perinatal Center of Saratov Region (CPC of Saratov region)

33, Zernovaya str., Saratov, Saratov region, 410047, Russian Federation

⁴ Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov RNRMU)

1, Ostrovityanova str., Moscow, Moscow region, 117997, Russian Federation

Objective – to study the morphological features of platelets of newborns by using electron microscopy.

Materials and methods. Peripheral blood platelets of healthy newborns were studied by means of transmission electron microscopy (TEM) method. The sample included 50 healthy babies from the Clinical Perinatal Center of Saratov region born at a gestational age of 37-42 weeks with an assessment on the Apgar scale (1952) at the first minute of at least 7 points. After blood sampling, platelet-rich plasma (PRP) was obtained by centrifugation.

Results. As a result of the study, 3 forms of platelets were identified: 1. Inactive ones, rounded or more often oval-shaped, in which it is possible to see almost all intracellular structures being typical for platelets; 2. Activated forms that have long processes (pseudopods) and usually have no granules; 3. Transitional forms – apparently, platelets at the initial stages of activation: elements of their open tubular system are already expanding, and this leads to the appearance of vacuoles. However, they do not yet have a distinct rearrangement of the cytoskeleton, and, accordingly, long processes and a significant change in shape. Platelets of newborns are heterogeneous in morphofunctional state: most of them are represented by inactive forms 82(80-85)%, the smaller part includes activated 15(13-17)% and transitional forms 3(2-4)%. Platelet microparticles (PM) are platelet derivatives and are also variable in size and structure. They can be represented by simple vesicles without internal contents, or they can have secretory granules involved in the transmission of signaling information to other platelets and endothelial cells. In our study, several mechanisms of formation and separation of PM from "precursor platelets" were discovered, but their meaning is not yet fully understood and requires further study.

Conclusion. This study demonstrates the heterogeneity of the platelet population of newborns associated with their morphofunctional state. For convenience of description, three morphological classes of platelets have been devised. The hypothesis about possible mechanisms of PM formation has been formulated.

Keywords: platelets; newborns; morphology; transmission electron microscopy.

Leontyev Mikhail A. – Post-Graduate Student of Morphology and Pathology Department, Reaviz, Saratov, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1715-6944. E-mail: miwa_leontev@mail.ru

Pylaev Timofey E. – PhD in Biological Sciences, Researcher, Laboratory of Nanobiotechnologies, IBPPM RAS, Saratov, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7368-9089. E-mail: pylaevte@gmail.com

Polivoda Elena A. – Researcher of Laboratory of Nanobiotechnology, IBPPM RAS, Saratov, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-8358-4480. E-mail: mail@ibppm.ru

Burov Andrey M. – PhD in Chemical Sciences, Leading Engineer, Laboratory of Immunochemistry, IBPPM RAS, Saratov, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3067-3754. E-mail: guliy_olga@mail.ru

Leontyeva Anastasia V. – Anesthesiologist-Resuscitologist, CPC of Saratov region, Saratov, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1785-1958. E-mail: zobeida2007@yandex.ru

Maslyakov Vladimir V. – DM, Professor, Head of Clinical Medicine Department, Reaviz, Saratov, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1788-0230. E-mail: maslyakov@inbox.ru (correspondence author)

Vodova Anastasia V. – Student, Pirogov RNRMU, Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9395-9699. E-mail: petjjjj@mail.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

All patients signed voluntary informed consent to participate in the study approved by the Regional Ethics Committee of Kursk State Medical University (Protocol No. 2 02.09.2018).

AUTHORS CONTRIBUTION

Leontyev M.A. – concept and design of the research, writing the text; Pylaev T.E., Polivoda E.A., Burov A.M., Leontyeva A.V. – gathering and processing information; Maslyakov V.V. – statistical treatment, editing; Vodova A.V. – editing.

Received 28.02.2020

Accepted 22.06.2020

For citation: Leontyev M.A., Pylaev T.E., Polivoda E.A., Burov A.M., Leontyeva A.V., Maslyakov V.V., Vodova A.V. Morphology of platelets of newborns by using electron microscopy. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2020;(2):74–81. DOI: 10.21626/vestnik/2020-2/10.