

УДК 612.115; 576.311.347

## Д.Э. ПОДОЛЬСКИЙ

старший преподаватель кафедры биохимии и биоинформатики<sup>1</sup>

**В.Т. ЧЕШЧЕВИК**, канд. биол. наук, доцент,  
доцент кафедры биохимии и биоинформатики<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Полесский государственный университет,  
г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 15.10.2025 г.

## РОЛЬ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ И АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ

*В статье представлены данные о роли электрон-транспортной цепи митохондрий тромбоцитов в процессах агрегации. Было выяснено, что блокирование элементов дыхательной цепи приводит к уменьшению мембранного потенциала митохондрий, что свидетельствует о том, что митохондрии играют важнейшую роль в агрегации тромбоцитов. Было показано возрастание концентраций активных форм кислорода при активации тромбоцитов, что может иметь регуляторное значение.*

**Ключевые слова:** тромбоциты, агрегация, митохондриальный потенциал, активные формы кислорода, апоптоз.

**PODOLSKY D.E.**, Lecturer<sup>1</sup>

**CHESHCHCHEVIK V.T.**, PhD in Biolog. Sc., Associate Professor,  
Associate Professor of the Department of Biotechnology<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polesky State University, Pinsk, Republic of Belarus

## ROLE OF MITOCHONDRION MEMBRANE POTENTIAL AND REACTIVE OXYGEN SPECIES IN PLATELET AGGREGATION

*This article presents data on the role of membrane potential and reactive oxygen species in agonist-induced platelet aggregation. We found a decrease in membrane potential upon inhibition of the mitochondrial respiratory chain, demonstrating the complex role of mitochondria in platelet aggregation. It was also found that respiratory chain inhibition during the initial stages of platelet activation results in a sudden increase in reactive oxygen species, which levels off over time, suggesting a regulatory role for reactive oxygen species in platelet aggregation.*

**Keywords:** platelets, aggregation, mitochondrial potential, reactive oxygen species, apoptosis.

**Введение.** Функциональной особенностью тромбоцитов является их способность к быстрой активации и агрегации [1], что приводит к коагуляции и остановке кровотечений [2]. Основным механизмом активации тромбоцитов является действие на тромбоцитарные рецепторы агонистов, которые запускают процесс активации одним из двух сигнальных путей: «снаружи-внутри» (дополни-

тельная активация тромбоцитов, вызванная передачей сигналов внутрь клеток благодаря интегрину  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) и «изнутри-наружу» (внутриклеточные события, ведущие к активации интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) [3]. Среди таких рецепторов можно выделить рецепторы тромбина, коллагена, аденозиндифосфата, тромбоксана [4-7]. Стимуляция тромбоцитарных рецепторов генерирует каскад внутриклеточных процес-

сов: дегрануляцию основных депо кальция (гранулы и плотная трубчатая система тромбоцитов), митохондриальный перенос кальция, генерация активных форм кислорода, что, по сути, является сигнальными путями апоптоза [8]. Итогом данных процессов является активация интегрин и дальнейшее слипание тромбоцитов в агрегаты с помощью интегринов через молекулу фибриногена [9]. Вышеописанные реакции приводят к сцеплению тромбоцитов друг с другом и последующей закупорке поврежденного сосуда.

Альтернативным путем является дальнейшее аккумулялирование митохондриями высвобождаемого кальция, что приводит к открытию пор высокой проницаемости (mPTP), экстернализации фосфатидилсерина (ФС) и появлению популяции мертвых, не способных к агрегации клеток, но содержащих на своей поверхности множество сайтов связывания коагулирующих агентов. Функцией такой фосфатидилсерин-положительной популяции тромбоцитов является вовлечение все большего количества тромбоцитов в каскад агрегации тромбоцитов [10].

В последнее время большое внимание уделяется роли митохондрий в тромбоцитарной активации, так как именно митохондриальный путь активации тромбоцитов приводит к формированию прокоагулянтной популяции клеток [11]. Несмотря на то, что тромбоциты содержат довольно мало митохондрий (4-6 на клетку), активность данных органелл в процессе активации тромбоцитов значительно возрастает [12].

Одним из важнейших параметров функциональной активности митохондрий является уровень мембранного потенциала, за счет которого обеспечивается сопряжение процессов окисления и фосфорилирования в электрон-транспортной цепи митохондрий [13]. Тромбоциты обладают высокой скоростью обмена АТФ: примерно 60% АТФ вырабатывается в процессе гликолиза, оставшийся часть АТФ вырабатывается в результате окислительного фосфорилирования. Показано, что во время активации тромбоцитов скорости окислительного фосфорилирования и гликолиза возрастают для удовлетворения возросшей потребности в энергии [14].

Митохондрии выступают в качестве основных поставщиков энергии в тромбоцитах во время образования тромба, что подтвер-

ждается эффектами ингибирования дыхания митохондрий с использованием ингибиторов цепи переноса электронов, таких как антимицин А и цианид [15]. Помимо энергетического обеспечения митохондрии выполняют регуляторные функции, связанные с активацией тромбоцитов, выработкой активных форм кислорода (АФК) и индукцией апоптоза [16]. Соответственно, изменения функционального состояния митохондрий приводят не только к нарушению клеточного дыхания, но и, вероятно, процессов активации и агрегации тромбоцитов [17]. В то же время практически нет данных о влиянии ингибирования компонентов дыхательной цепи митохондрий на функциональное состояние тромбоцитов при активации и агрегации, хотя данное исследование позволило бы выявить механизмы участия митохондрий в данных процессах.

С функционированием митохондрий тромбоцитов тесно связана генерация АФК. Основной формой АФК, генерируемых митохондриями, является супероксиданион-радикал [18]. АФК образуются в нормальных условиях эндогенно в результате работы электрон-транспортной цепи в комплексах I и III [19]. Продукция АФК усиливается при целом ряде заболеваний, в особенности, в случае митохондриальных нарушений [20]. Исследования показали, что гиперполяризация митохондриальной мембраны и генерация АФК может оказывать влияние на активацию тромбоцитов [21]. Известно, что генерация АФК после обработки опсонизированным зимозином А, активатором системы комплемента, приводит к перестройке цитоскелета тромбоцитов, что указывает на активацию тромбоцитов [22]. Однако механизмы, лежащие в основе таких эффектов, не выяснены и нуждаются в дальнейшем исследовании. Повышенная генерация митохондриальных АФК способна вызывать патологическую активацию тромбоцитов [23]. АФК также могут нарушать функционирование дыхательной цепи: при значительном увеличении генерации АФК содержание АТФ и мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов снижается [24]. Понижение мембранного потенциала митохондрий в результате роста уровня АФК и повреждения дыхательной цепи может привести к образованию mPTP [25]. Более того, повышенная генера-

ция АФК может приводить к повреждению митохондриальной ДНК, что было показано в ряде исследований [26]. Таким образом, АФК оказывают многостороннее влияние на активацию тромбоцитов, однако механизмы этих процессов до конца еще не изучены.

Целью данной работы явилось исследование влияния изменений мембранного потенциала и генерации АФК дыхательной цепи митохондрий на агрегацию тромбоцитов с использованием ингибиторного анализа.

**Материалы и методы.** Забор крови проводили у добровольцев мужского пола возрастом от 20 до 28 лет без вредных привычек и приема лекарств в течение 3 дней до забора крови. Доноров выбирали с отсутствием хронических заболеваний и воспалительных процессов в течение 7 дней до забора крови. Обогащенную тромбоцитами плазму получали из цельной крови с использованием 3,2% цитрата натрия в качестве антикоагулянта в результате центрифугирования при 300g в течение 15 минут. Из полученного супернатанта тромбоциты осаждали центрифугированием при 800g в течение 15 мин.

Для выполнения агрегометрических исследований осадок тромбоцитов ресуспензировали в модифицированном буфере Тирде с глюкозой (134 мМ NaCl, 12 мМ NaHCO<sub>3</sub>, 2,9 мМ KCl, 0,34 мМ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ HEPES, 5 мМ глюкозы). Концентрация клеток в пробе составляла  $3 \times 10^7$  кл/мл. Агрегометрию проводили с использованием агрегометра Solar AP 2110 (Беларусь). Активацию вызывали агонистом АДФ в конечной концентрации 10 мкМ. В кювету добавляли 2 мл суспензии тромбоцитов с ингибиторами электрон-транспортной цепи митохондрий и инкубировали в течение 15 минут при температуре 37 °С при постоянном перемешивании. Агрегационные кривые прописывали 300 сек. Данные агрегометрии представлены тремя показателями: время достижения плато, уровень плато (процент агрегированных тромбоцитов) и скорость агрегации, которую рассчитывали по параметрам агрегационных кривых по формуле:

$$v = \frac{AP}{\Delta t},$$

где  $v$  – скорость агрегации,  $AP$  – процент агрегированных тромбоцитов,  $\Delta t$  – время достижения плато.

В качестве ингибиторов электрон-транспортной цепи митохондрий использовали: ротенон (2 мкМ, ингибитор I комплекса), малонат (25 мкМ, конкурентный ингибитор II комплекса), феноилтрифлуорацетон (ТТФА, 10 мкМ, неконкурентный ингибитор II комплекса), антимицин А (1 мкг/мл, ингибитор III комплекса), азид натрия (10 мМ, неспецифический ингибитор IV комплекса), олигомицин (1 мкг/мл, ингибитор АТФ-синтазы), карбонилцианид *m*-хлорофенилгидразон (СССР, 50 мкМ, протонифор). В контрольные пробы добавляли аналогичные объемы растворителей (ДМСО, этанол, вода), на которых были растворены соответствующие ингибиторы.

Для исследования мембранного потенциала и генерации клеточных форм АФК, а также размеров и гранулярности тромбоцитов на проточном цитофлуориметре обогащенную тромбоцитами плазму разбавляли модифицированным буфером Тирде до концентрации клеток  $3 \times 10^7$  кл/мл. Исследование динамики размеров и гранулярности тромбоцитов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto II (США) по показателям прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеяния. Генерацию цитоплазматических АФК оценивали с помощью зонда 2,7-дихлородигидрофлуоресцеина ацетата (H<sub>2</sub>DCFDA, 10 мкМ), который имеет длину волны возбуждения в синей части спектра (495 нм) и длину волны эмиссии в зеленой части спектра (527 нм). В качестве положительного контроля использовали пероксид водорода (10 мкМ), а в качестве антиоксиданта-стандарта – тролокс (1 мМ). Регистрацию генерации АФК в тромбоцитах осуществляли в течение 20 минут с момента добавления агониста АДФ (10 мкМ) (с интервалом в 2 мин).

Мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов оценивали с помощью липофильного положительно-заряженного флуоресцентного зонда JC-1 (длина волны возбуждения 514 нм), который в отсутствие мембранного потенциала в виде мономеров обладает эмиссией при  $\lambda = 529$  нм, а при наличии мембранного потенциала образует димеры с эмиссией в красной части спектра ( $\lambda = 590$  нм). Динамику мембранного потенциала тромбоцитов измеряли на проточном цитофлуориметре сразу после добавления ис-

следуемых ингибиторов и АДФ (10 мкМ) в течение 20 минут (с интервалом времени 2 мин).

Для представления результатов экспериментов использовали среднее арифметическое и стандартную ошибку среднего. Количество повторных измерений по исследуемым показателям в экспериментальных группах составляло не менее пяти. Статистическую обработку результатов осуществляли с применением критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни. Различия между средними арифметическими сравниваемых групп принимали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение GraphPad Prism 7.0. Для построения рисунков применяли программный пакет Microsoft Office Excel для Windows 10 и программное обеспечение GraphPad Prism 7.0.

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что среди ингибиторов наибольшее влияние на агрегацию тромбоцитов оказывает ингибитор АДФ-синтазы олигомицин, значительно снижая (на 90%) скорость агрегации, общий процент агрегированных тромбоцитов и время наступления плато, что обусловлено необходимостью в митохондриальной генерации АДФ при активации тромбоцитов (таблица 1). Ингибиторы II, III и IV комплексов дыхательной цепи митохондрий также оказывали влияние на процесс агрегации тромбоцитов. В частности, неконкурентный ингибитор феноилтрифлуорацетат статистически достоверно снижал все 3 пара-

метра агрегации тромбоцитов. Антимидин А и азид натрия приводили только к ингибированию скорости агрегации тромбоцитов, не оказывая при этом влияния на уровень агрегации и время достижения плато.

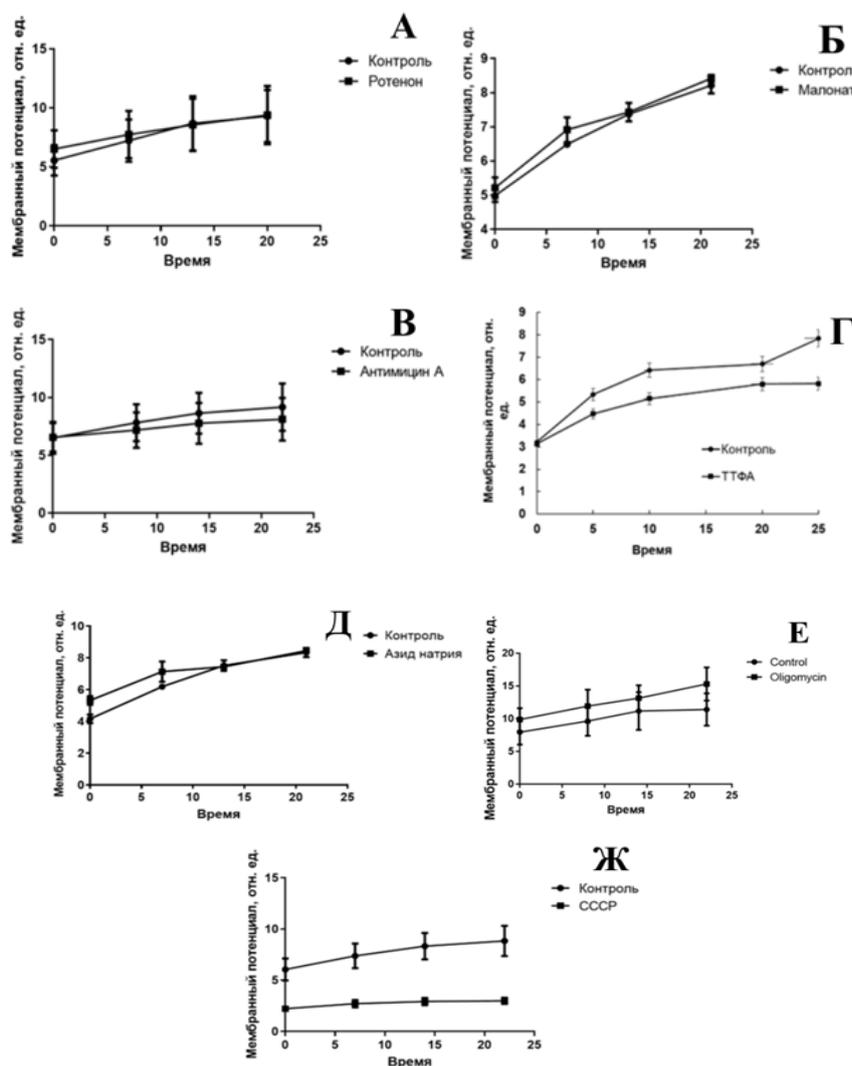
Поскольку мембранный потенциал митохондрий обеспечивает сопряжение процессов окисления и фосфорилирования, на следующем этапе мы исследовали уровень митохондриального мембранного потенциала тромбоцитов в динамике.

Нами показано, что мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов возрастает в течение 20 минут на протяжении всего периода активации и агрегации тромбоцитов (рисунк 1). Из всех исследованных ингибиторов электрон-транспортной цепи митохондрий лишь только феноилтрифлуорацетон приводил к статистически достоверному снижению мембранного потенциала (рис. 1, Г). Интересно, что ингибиторы электрон-транспортной цепи митохондрий ротенон, малонат, азид натрия, приводили к возрастанию мембранного потенциала в первые 10 минут активации тромбоцитов. При этом, в последующие 10 минут мембранный потенциал не отличался от уровня контроля (рис. 1, А, Б, Д). Антимидин А и олигомицин приводили к незначительному уменьшению или повышению мембранного потенциала, соответственно (рис 1, В, Е). В то же время протонофор СССР приводил к значительному снижению мембранного потенциала митохондрий тромбоцитов в течение всего процесса агрегации (рис. 1, Ж).

Таблица 1. – Параметры агрегации тромбоцитов при воздействии ингибиторов электрон-транспортной цепи митохондрий

Показатель	Время достижения плато (сек)	Уровень агрегации (%)	Скорость агрегации (сек <sup>-1</sup> )
<b>Контроль (ДМСО)</b>	177,0 ± 16,0	74,0 ± 8,0	37,5 ± 3,2
Ротенон	177,0 ± 15,0	88,0 ± 9,0	23,0 ± 2,1
Антимидин А	208,1 ± 19,0	60,0 ± 5,0	<b>16,0 ± 2,0*</b>
<b>Контроль (вода)</b>	70,0 ± 6,9	95,0 ± 8,9	285,0 ± 31,0
Малонат	70,2 ± 6,2	80,0 ± 7,7	288,0 ± 27,9
Азид натрия	81,0 ± 8,0	80,0 ± 7,5	<b>37,0 ± 3,5*</b>
<b>Контроль (этанол)</b>	218,0 ± 22,0	47,0 ± 5,2	23,0 ± 2,2
Феноилтрифлуорацетон	<b>160,0 ± 15,0*</b>	<b>30,0 ± 3,3*</b>	<b>14,0 ± 1,3*</b>
Олигомицин	<b>129,0 ± 13,0*</b>	<b>1,4 ± 0,10*</b>	<b>2,0 ± 0,11*</b>

Примечание –\* – Статистически достоверные изменения по отношению к контролю ( $P \leq 0,05$ )

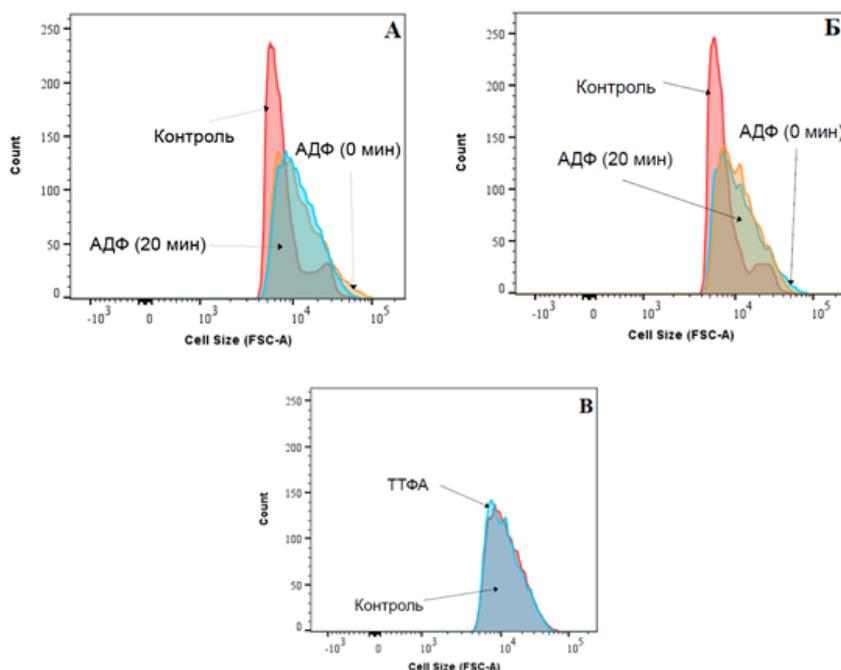


Обозначения: А – ротенон (2 мкМ), Б – малонат (25 мкМ), В – антимицин А (1 мкг/мл), Г – ТТФА (10 мкМ), Д – азид натрия (10 мМ), Е – олигомицин (1 мкг/мл), Ж – СССР (50 мкМ).

**Рисунок 1. – Динамика мембранного потенциала митохондрий при действии ингибиторов электрон-транспортной цепи при активации-агрегации тромбоцитов**

При активации и агрегации тромбоцитов происходит изменение морфологии и размеров тромбоцитов, что сопровождается перестройкой цитоскелета и изменением гранулярности в результате высвобождения гранул из цитоплазмы тромбоцитов [27]. Поскольку феноилтрифлуорацетон оказывал влияние на процесс агрегации и динамику мембранного потенциала митохондрий (таблица 1, рисунок 1), нами было проведено исследование влияния данного ингибитора на размеры и гранулярность клеток при активации и агрегации тромбоцитов.

Нами было показано, что в контрольной группе и группе с добавлением ТТФА (10 мкМ) при использовании в качестве агониста АДФ (10 мкМ) увеличивается количество клеток, характеризующихся большими размерами, на протяжении 20 минут, что обусловлено активацией тромбоцитов (рис. 2, А, Б). При этом не отмечено статистически достоверных различий в количестве тромбоцитов с увеличенными размерами в присутствии ТТФА по сравнению с группой контроля при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на 20 минуте инкубации (рис. 2, В).



Обозначения: красный пик – без АДФ, оранжевый пик – 10 мкМ АДФ (0 мин), синий пик – 10 мкМ АДФ (20 мин);

А – контроль, Б – ТТФА, В – контроль и ТТФА (20 минут с АДФ)

**Рисунок 2.** – Динамика размеров тромбоцитов при их активации в присутствии и отсутствии ТТФА

При АДФ-индуцированной агрегации в контрольной группе наблюдали рост гранулярности тромбоцитов во времени (рисунок 3, А).

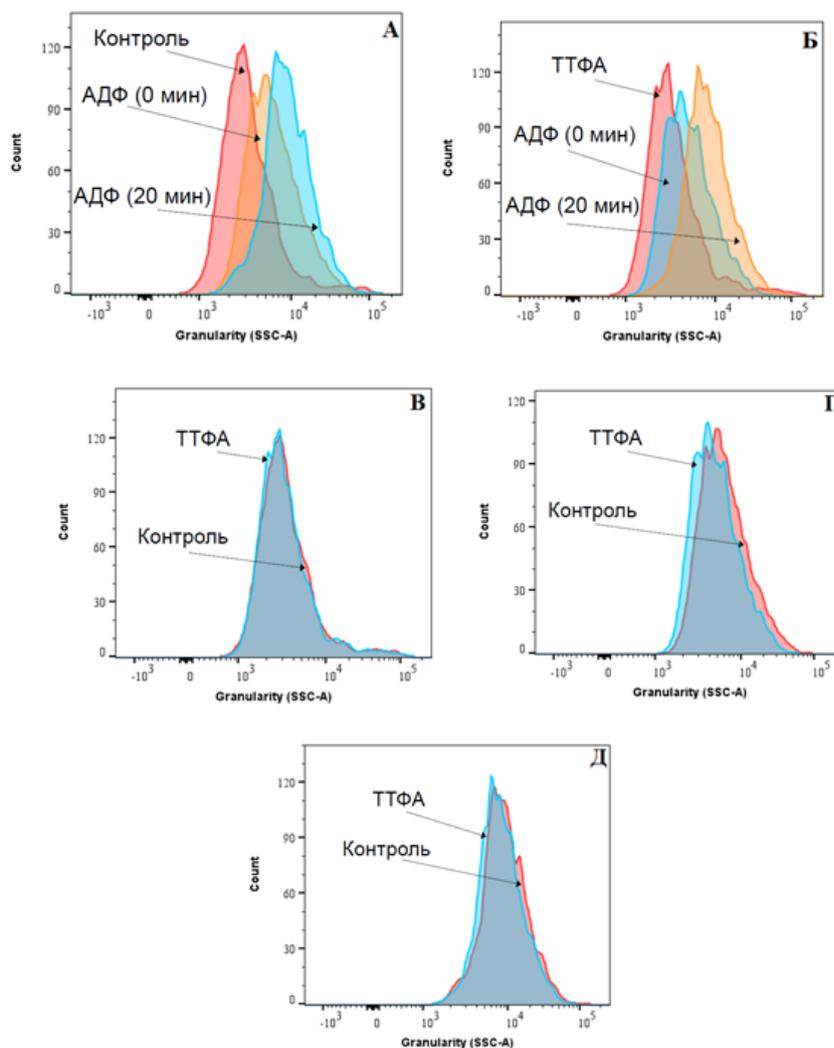
В присутствии ингибитора 2-го комплекса электрон-транспортной цепи митохондрий тромбоцитов ТТФА (10 мкМ) при АДФ-индуцированной агрегации также наблюдали возрастание гранулярности тромбоцитов на протяжении 20 минут, но в меньшей степени по сравнению с контрольной группой, в особенности на начальном этапе процесса агрегации (рисунок 3, Б-Д). Вероятно, данный факт обусловлен тем, что ТТФА ингибирует агрегационные процессы в тромбоцитах, что подтверждается вышеприведенными исследованиями агрегометрии (таблица 1) и динамики мембранного потенциала митохондрий тромбоцитов (рисунок 1, Г) в присутствии данного ингибитора.

Известно, что при высокой митохондриальной активности в клетках активно идет генерация АФК [19]. На рисунке 4 показаны данные генерации АФК при АДФ-

индуцированной агрегации тромбоцитов, в том числе при ингибировании электрон-транспортной цепи митохондрий.

После добавления агониста АДФ (10 мкМ) наблюдали резкий рост уровня генерации АФК в первые 2 минуты, который затем снижался в течение последующих 20 минут. При этом данный процесс подавлялся добавлением антиоксиданта тролокса (рисунок 4, А). В то же время все исследуемые ингибиторы электрон-транспортной цепи митохондрий и протонифор СССР приводили к стимуляции генерации АФК в различной степени в первые несколько минут после добавления агониста активации агрегации АДФ (рисунок 4, Б-Г).

При этом уже к 20-й минуте уровень АФК значительно снижался практически до уровня контроля в случае практически всех ингибиторов, за исключением азидата натрия, в случае которого снижение уровня АФК происходило, но оставалось повышенным по сравнению с группой контроля (рисунок 4, Б-Г).



Обозначения: А – контроль; Б - в присутствии ТТФА; В – контроль и ТТФА без АДФ; Г – контроль и ТТФА с АДФ (0 мин); Д – контроль и ТТФА с АДФ (20 мин); А – контроль, В – в присутствии ТТФА

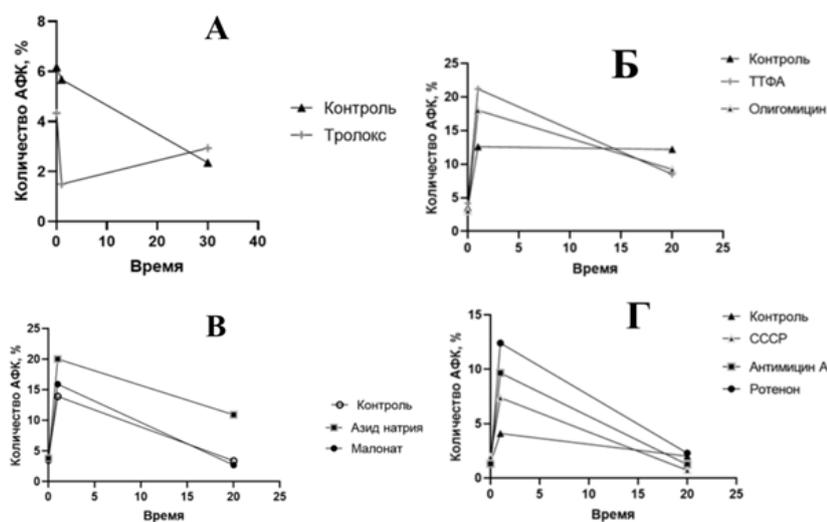
**Рисунок 3. – Динамика гранулярности клеток при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов**

**Заключение.** Нами было установлено, что при активации тромбоцитов митохондриальный мембранный потенциал постепенно нарастает на протяжении всего периода (20 мин) АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. При этом такие ингибиторы как ротенон, малонат, азид натрия и олигомицин приводили к повышению мембранного потенциала на начальных этапах агрегации и не оказывали влияние на его значение на более поздних этапах.

В свою очередь, ингибиторы ТТФА, антимицин А и протонифор СССР приводили к снижению мембранного потенциала на протяжении всего периода агрегации тромбоци-

тов. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов приводит к резкому возрастанию генерации АФК на начальных этапах и ее снижению на завершающих этапах агрегации (20 мин). Такое резкое возрастание уровня АФК на начальных этапах агрегации тромбоцитов, вероятно, имеет регуляторное значение в физиологии тромбоцитов, однако после активации не играет существенной роли, кроме влияния на апоптотические события в тромбоцитах.

Генерация АФК подавлялась стандартным антиоксидантом тролокс.



А – тролокс; Б – ТТФА и олигомицин; В – азид натрия и малонат; Г – СССР, антимицин А и ротенон

**Рисунок 4. – Генерация АФК при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов при ингибировании электрон-транспортной цепи митохондрий**

В то же время все ингибиторы дыхательной цепи и даже протонофор СССР существенно усиливали генерацию АФК на начальных этапах и практически не оказывали влияния на уровень АФК на поздних (20 мин) этапах агрегации тромбоцитов.

Таким образом, уровень АФК и уровень митохондриального мембранного потенциала при АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов находятся в обратно пропорциональной зависимости, либо не взаимосвязаны, т.к. несмотря на то, что практически все ингибиторы приводили к росту АФК на начальных этапах, не все из них приводили к росту митохондриального мембранного потенциала, что является отклонением от общего принятого представления о том, что высокий мембранный потенциал митохондрий способствует повышению уровня генерации АФК в митохондриях [28].

Подтверждением участия митохондрий в агрегации тромбоцитов является показанные в работе нарушения параметров агрегации тромбоцитов при действии ряда ингибиторов дыхательной цепи митохондрий. Более того, в случае ТТФА (ингибитора 2-го комплекса дыхательной цепи, который приводил к существенным нарушениям всех параметров АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов) наблюдали снижение уровня грануляр-

ности тромбоцитов в процессе агрегации по сравнению с группой контроля.

Таким образом, результаты проведенного исследования демонстрируют непосредственное участие митохондрий в агрегации тромбоцитов при использовании АДФ в качестве агониста. В то же время применение ингибиторного анализа демонстрирует, что роль функциональной активности различных комплексов дыхательной цепи митохондрий в агрегации тромбоцитов не равнозначна и требует своего дальнейшего исследования с целью выявления молекулярных механизмов участия отдельных комплексов дыхательной цепи митохондрий в процессах агрегации тромбоцитов.

*Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь (договор № 65 от 05.05.2021) в рамках ГПНИ «Биотехнологии-2» (Рег. № НИР 20241017).*

#### Список использованных источников

1. Platelets in hemostasis and thrombosis: Novel mechanisms of fibrinogen-independent platelet aggregation and fibronectin-mediated protein wave of hemostasis / Y. Hou, N. Carrim, Y. Wang et al. // Journal of Biomedical Research. – 2015. – V. 29 – № 6. – P. 437–444.

2. Ni H. Platelets in hemostasis and thrombosis: role of integrins and their ligands / H. Ni, J. Freedman // *Transfusion and Apheresis Science*. – 2003. – Vol. 28 – № 3. – P. 257–264.
3. Ma, Y-Q. Platelet integrin alpha(IIb)beta(3): activation mechanisms / Y-Q Ma, J Qin, E. F. Plow // *J Thromb Haemost*. – № 5(7), 2007. – pp. 1345-1352.
4. Roberts, D.E. Mechanism of collagen activation in human platelets / Diane E Roberts 1, Archibald McNicol, Ratna Bose // *J Biol Chem*. – 2004. – Vol. 19. – № 279. – P. 19421-19430.
5. Platelets in Thrombotic and Non-Thrombotic Disorders: Pathophysiology, Pharmacology and Therapeutics: an Update / P. Gresle, N.S. Kleiman, J.A. Lopez, C.P. Page. – NY: Springer, 2017. – 1458 p.
6. Gachet C. Regulation of platelet functions by P2 receptors // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. – 2006. – Vol. 46. – P. 277–300.
7. Brass L.F. Harnessing the platelet signaling network to produce an optimal hemostatic response / L.F. Brass, M. Tomaiuolo, T.J. Stalker // *Hematology/Oncology Clinics of North America*. – 2013. – Vol. 27 – № 3. – P. 381–409.
8. Ünsal Özgen, Elif Özerol, Mehmet Aminci. Relationship between activation and apoptosis in platelets // *Turk J Haematol*. – 2007 Vol. 4. – № 24. – P. 171-176.
9. Watanabe N, Bodin L, Pandey M, et al. Mechanisms and consequences of agonist-induced talin recruitment to platelet integrin alphaIIb beta3 // *J Cell Biol*. – 2008. № 181. – P. 1211-1222.
10. Stephen R. Clark. Characterization of platelet aminophospholipid externalization reveals fatty acids as molecular determinants that regulate coagulation / Stephen R. Clark, Christopher P. Thomas, Victoria J. Hammond, Maceler Aldrovandi [and etc.] // *PNAS*. – 2013. – Vol. 110. – № 15. – P. 5875-5880.
11. Zakharova, N. Two Types of Procoagulant Platelets Are Formed Upon Physiological Activation and Are Controlled by Integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 / Natalia Zakharova // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2012. – № 32. – P. 2475–2483.
12. Jiang, J. Peroxidation and externalization of phosphatidylserine associated with release of cytochrome c from mitochondria / J. Jiang [and etc.] // *Free Radical Biology and Medicine*, 2003. – T. 35. – No. 7. – C. 814-825.
13. Zorova, L.D. Mitochondrial membrane potential / Ljubava D Zorova, Vasily A Popkov, Egor Y Plotnikov, Denis N Silachev [and etc.] // *Anal Biochem*. – 2018. – № 552. – P. 50-59.
14. He, F. Multiomic profiling reveals metabolic alterations mediating aberrant platelet activity and inflammation in myeloproliferative neoplasms / Fan He, Angelo BA Laranjeira, Tim Kong, Shuyang Lin // *J Clin Invest*. – 2024. – Vol. 134. – № 3. – P. 172256.
15. Plaisance, I. The metabolic inhibitor antimycin A can disrupt cell-to-cell communication by an ATP- and  $Ca^{2+}$ -independent mechanism / Isabelle Plaisance, Fabien Duthe, Denis Sarrouilhe, Jean-Claude Hervé // *Eur J Physiol*. – 2003. – № 447. – P. 181–194.
16. Kile, B.T. The role of the intrinsic apoptosis pathway in platelet life and death / B.T. Kile // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2009. – № 7. – P. 214–217.
17. Hwa, J. Role of platelet mitochondria: life in a nucleus-free zone / John Hwa, Hannah Melchinger, Kanika Jain, Tarun Tyagi // *Front. Cardiovasc. Med*. – 2019. – № 6. – P. 153.
18. Chiste, C. Superoxide Anion Radical: Generation and Detection in Cellular and Non-Cellular Systems / Renan Campos Chiste, Marisa Freitas, Adriana Zerlotti Mercadante, Eduarda Fernandes // *Curr Med Chem*. – 2015. – Vol. 22.– № 37. – P. 4234-4256.
19. Snezhkina, A.V. ROS Generation and Antioxidant Defense Systems in Normal and Malignant Cells / Anastasiya V Snezhkina, Anna V Kudryavtseva, Olga L Kardymon, Maria V Savvateeva // *Oxid Med Cell Longev*. – 2019. – № 5. – 17 pp.
20. Kirkinezosa, I.G. Reactive oxygen species and mitochondrial diseases / Ilias G. Kirkinezosa, Carlos T. Moraes // *Cell & developmental biology*. – 2001. – Vol. 12. – P. 449–457.
21. Begonja, A.J. Platelet NAD(P)H-oxidase-generated ROS production regulates  $\alpha$ IIb $\beta$ 3-integrin activation independent of the NO/cGMP pathway / Antonija Jurak Begonja, Stepan Gambaryan, Jorg Geiger, Barsom Aktas // *Blood*. – 2005. – Vol. 8. – № 106. – P. 2757-2760.

22. Nakao, L.S. Reactive oxygen species (ROS) signaling during cytoskeleton dynamics / Lia S. Nakao, Michael F. Olson, José Pablo Vázquez-Medina, Alejandra Valdivia // *Front. Cell Dev. Biol.* – 2023. – № 11. – 1 pp.
23. Masselli, E. ROS in Platelet Biology: Functional Aspects and Methodological Insights / Elena Masselli, Giulia Pozzi, Mauro Vaccarezza, Prisco Mirandola // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21. – № 14. – P. 4866.
24. Jomova, K. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging / Klaudia Jomova, Renata Raptova, Suliman Y. Alomar, Saleh H. Alwasel [and etc.] // *Archives of Toxicology.* – 2023. – Vol. 97. – P. 2499–2574.
25. Zorov, D.B. Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release / Dmitry B Zorov, Magdalena Juhaszova, Steven J Sollott // *Physiol Rev.* – 2014. – Vol. 94. – № 3. – P. 909–950.
26. Yakes, F.M. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress / F Michael Yakes, Bennett Van Houten // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 1997. – Vol. 94. – № 2. – P. 514–519.
27. Signaling during platelet adhesion and activation / Z. Li, M.K. Delaney, K. A. O'Brien, X. Du // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* – 2010. – Vol. 30 – № 12. – P. 2341–2349.
28. Gorlach, A. Reactive oxygen species, nutrition, hypoxia and diseases: Problems solved? / Gorlach, A., Dimova, E.Y., Petry, A., Martinez-Ruiz, A [and etc.] // *Redox Biol.* – 2015. – № 6. – P. 372–385.

*Received 15.10.2025*