

ОСОБЕННОСТИ АГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ *JAK2*: ГЕНДЕРНЫЕ ОТЛИЧИЯ И ЭФФЕКТ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

И.А. Ольховский^{1,2}, М.А. Столяр¹

¹Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, Красноярск, Россия;

²ФГБУН Красноярский научный центр СО РАН, Красноярск, Россия

Резюме. Представлены результаты исследования влияния ацетилсалициловой кислоты (АСК) на агрегацию тромбоцитов у 44 пациентов с мутацией V617F в гене *JAK2* и у 80 больных хроническими миелопролиферативными заболеваниями (ХМПЗ), не имеющих данной мутации. Исследование проводили с использованием метода индуцированной аденозиндифосфатом импедансной агрегометрии цельной крови. У большинства больных ХМПЗ, принимающих АСК в низких дозах, показатели агрегометрии не отличались от показателей в группе лиц, не принимающих препарат. В отдельных случаях у пациентов наблюдалась резко сниженная амплитуда агрегации, накладывающая ограничения к приему дезагрегантов. Агрегационные характеристики тромбоцитов у женщин существенно повышены по сравнению с таковыми у мужчин, как среди здоровых лиц, так и у больных ХМПЗ. Степень гендерных отличий величины амплитуды агрегации зависит от наличия мутации в гене *JAK2* и влияния АСК. Индивидуальная оценка функциональной активности тромбоцитов в тесте инкубации проб цельной крови с АСК целесообразна для мониторинга дезагрегационной терапии.

Ключевые слова: импедансная агрегометрия; хронические миелопролиферативные заболевания; мутация V617F в гене *JAK2*; аспиринорезистентность; ацетилсалициловая кислота; гендерные отличия.

FEATURES OF PLATELET AGGREGATION IN PATIENTS WITH *JAK2* GENE MUTATION: GENDER DIFFERENCES AND ASPIRIN EFFECT

I.A. Olkhovsky^{1,2}, M.A. Stolyar¹

¹Krasnoyarsk Affiliated Department of Hematology Research Center, Krasnoyarsk, Russia; ²Krasnoyarsk Research Center, Krasnoyarsk, Russia

Summary. The effects of acetylsalicylic acid (ASA) on platelet aggregation were studied in 44 patients with V617F mutation in *JAK2* gene and in 7 patients with chronic myeloproliferative diseases (CMPD) without this mutation. The study was carried out by adenosine diphosphate-induced impedance aggregometry of whole blood. Aggregometry values in the majority of CMPD patients receiving low-dose ASA did not differ from the values in the patients receiving no ASA. In some cases the aggregation amplitude was sharply reduced. In these patients restriction of antiplatelet therapy was required. Platelet aggregation in women was significantly higher than in men, both in health and CMPD. The degree of gender-associated differences in the aggregation amplitudes depended on the presence of *JAK2* gene mutation and ASA effect. Individual evaluation of the platelet functional activity by whole blood incubation with ASA could be recommended for disaggregation therapy monitoring.

Key words: impedance aggregometry; chronic myeloproliferative diseases; *JAK2* gene V617F mutation; aspirin resistance; acetylsalicylic acid; gender differences.

Сосудистые тромбозы и геморрагические осложнения являются наиболее частыми клиническими проявлениями и причинами смерти больных при хронических миелопролиферативных заболеваниях (ХМПЗ) [1, 2]. В соответствии с обновленными критериями ВОЗ для уточнения вариантов Ph-отрицательных ХМПЗ рекомендован тест определения мутации V617F в гене янускиназы-2 (*JAK2*) [3]. Эта мутация выявляется в 90—95% случаев истинной полицитемии, 50—70% случаев эссенциальной тромбоцитемии, 40—50% случаев миелофиброза [4]. Ген *JAK2* кодирует тирозинкиназу, участвующую в передаче сигнала от рецепторов цитокинов и фак-

торов роста к ядру клетки. Мутация V617F вызывает конститутивную активацию рецептора без участия лиганда, что приводит к активации пролиферации клетки и блокаде процессов апоптоза [5]. До сих пор остаются не ясными механизмы влияния избыточной активации янускиназы на агрегационную активность тромбоцитов, хотя использование ацетилсалициловой кислоты (АСК) наряду с контролем гематокрита и циторедуктивной терапией считается эффективным средством профилактики сосудистых тромбозов у больных ХМПЗ [6]. Вместе с тем развитие приобретенного синдрома Виллебранда при высоких значениях тромбоцитоза ведет к повышению склонности к кровоточивости и является противопоказанием к приему АСК [7]. В литературе также обсуждаются гендерные различия в эффективности аспиринопрофилактики сосудистых событий [8]. В связи с этим у больных ХМПЗ очевидна целесообразность индивидуального учета агрегационных характеристик тромбоцитов перед назначением и в процессе терапии дезагрегантами. Ранее нами бы-

Для корреспонденции:

Ольховский Игорь Алексеевич, кандидат медицинских наук, доцент, директор Красноярского филиала ФГБУ Гематологический научный центр Минздрава России, старший научный сотрудник ФГБУН Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН.
Адрес: 660036, Россия, Красноярск, ул. Академгородок, д. 50, стр. 45.
Телефон: +7(3912) 51-04-21
E-mail: krashemcenter@mail.ru

Таблица 1

Характеристика обследованных пациентов; <i>Me</i> (C_{25} — C_{75})			
Параметр	<i>JAK2</i> ⁺	<i>JAK2</i> ⁻	<i>p</i>
Число больных:	44	78	
мужчины	20	54	
женщины	24	24	
Возраст, годы	61 (51—67)	49 (34—60)	< 0,05
Тромбоциты, • 10 ⁹ /л	647 (348—887)	257 (204—407)	< 0,05
Эритроциты, • 10 ¹² /л	5,1 (4,1—6,4)	5,1 (4,7—5,8)	0,8
Лейкоциты, • 10 ⁹ /л	9,3 (6,9—15,6)	8 (6—9,2)	< 0,05
Гематокрит, %	45,3 (37,1—53)	45 (40,9—49,7)	0,8
Средний объем тромбоцита, фл:			
мужчины	9,2 (8,8—10,1)	10,3 (9,7—10,9)	< 0,05
женщины	10,4 (9,8—10,8)	10,5 (9,4—11)	1,0
Относительное количество крупных тромбоцитов, %:			
мужчины	20,7(23,6—31,2)	27,2(23,6—31,2)	< 0,05
женщины	28 (24—31,1)	28,6 (21—32,8)	1,0
Аллельная нагрузка, %:			
мужчины	39 (32—66)		
женщины	28 (20—55)		0,2
из них принимали аспирин на момент обследования	17	23	

Примечание. Здесь и в табл.2: *JAK2*⁺ — группа с наличием мутации, *JAK2*⁻ — группа без мутации.

ло показано [9], что использование предварительной инкубации *in vitro* проб цельной крови с АСК и последующее проведение импедансометрической агрегометрии является более приемлемым тестом оценки чувствительности к АСК по сравнению с оптическим методом. Было выявлено, что для женщин характерны более высокие показатели агрегационной активности тромбоцитов [10], и продемонстрирована возможность использования *in vitro* теста с АСК для анализа механизмов агрегации, независимых от циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1) [11].

Цель настоящего исследования — изучение гендерных особенностей влияния АСК на агрегационную активность тромбоцитов у больных ХМПЗ с мутацией гена *JAK2*.

Материалы и методы

В исследование включены результаты обследования пациентов с подозрением на хроническое миелопролиферативное заболевание, поступивших в период с 01.09.2012 по 20.08.2013 на консультативный прием врача-гематолога в амбулаторно-поликлинические учреждения Красноярска и в Красноярскую краевую клиническую больницу. Основанием для обследования служили клинические проявления эритро- и тромбоцитоза, высокие значения гемоглобина и гематокрита, не имеющие явной симптоматической причины, а также подозрение на первичный миелофиброз. Из 124 направленных пациентов у 44 человек была выявлена мутация в гене *JAK2* (rs77375493), в том числе 14 проб крови было от пациентов с диагнозом истинной

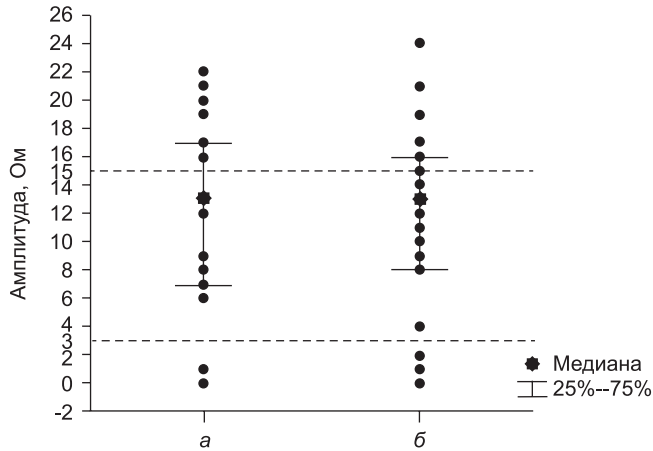
полицитемии, 7 — эссенциальной тромбоцитемии, 2 — первичного миелофиброза, 21 — с неуточненным на момент обследования Ph-отрицательным ХМПЗ. Мутации в гене *JAK2* не выявлено у 80 пациентов. Поскольку из них 2 пациента принимали клопидогрел и дипиридамол менее чем за 10 дней, предшествующих исследованию, их пробы были исключены из дальнейшего анализа, и в итоге в группу сравнения вошли 78 пациентов (*JAK2*⁻). Профилактическую терапию малыми дозами АСК получали 40 пациентов из обеих групп. Характеристика пациентов, чьи пробы были включены в исследование, представлена в табл. 1. Контрольную группу составили 68 клинически здоровых лиц, подписавших информированное согласие.

Взятие крови осуществляли из локтевой вены утром натощак в вакутейнер с 3,8% цитратом натрия. Тесты индуцированной агрегации тромбоцитов проводили в течение первых 3 ч после взятия крови на агрегометре Хронолог-700 («Chrono-Log», США) методом импеданса в цельной крови с использованием программного обеспечения Aggrolink 8. Индукцию осуществляли с помощью аденозиндифосфата (АДФ) (НПО «Ренам», Россия) в конечной концентрации 5 мкмоль. Оценка агрегации проводили в пробах до и после предварительной (15 мин) инкубации цельной крови с АСК в конечной концентрации 0,1 ммоль, как описано В.И. Ивановым и соавт. [12]. Интенсивность агрегации тромбоцитов оценивали по параметру амплитуды — максимальному подъему агрегационной кривой. Анализ параметров гемограммы осуществляли на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex XT-2000i («Sysmex Corp.», Япония).

Статистическую обработку проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 8.0. Учитывая отсутствие нормального распределения в большинстве вариационных рядов, значимость отличий в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна—Уитни, в связанных попарно выборках — с помощью критерия Вилкоксона. Описательная статистика представлена в виде значений медианы (*Me*), а также верхнего и нижнего квартилей (C_{25} — C_{75}). Наличие корреляционной связи оценивали с применением ранговой корреляции Спирмена (r_s). Различия оценивали как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Пациенты с мутацией гена *JAK2* отличались от группы лиц, не имеющих данной мутации, более старшим возрастом. Соотношение полов в группах было примерно равным (см. табл. 1). В группе мужчин с мутацией *JAK2* отмечались более низкие значения среднего объема тромбоцитов по сравнению с таковыми у мужчин без мутации *JAK2*. Среди женщин в аналогичных группах по данному параметру значимых отличий не наблюдалось. Преобладание малых форм тромбоцитов у мужчин с мутацией *JAK2* может свидетельствовать о более активном тромбоцитопоэзе или замедлении процесса трансформации морфологических форм тромбоцитов в сосудистом русле. Отсутствие таких отличий между группами женщин с наличием мутации *JAK2* и без таковой может свидетельствовать о гендерных особенностях механизмов вовлечения *JAK2* в регуляцию жизненного цикла тромбоцитов. Как видно на рисунке, вместо характерного для большинства лиц снижения АДФ-индуцированных показателей агрегации на фоне приема АСК [13] у пациентов



Амплитуда АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов цельной крови у пациентов с мутацией в гене *JAK2*, принимающих и не принимающих АСК на момент исследования.

а — не принимающие АСК; б — принимающие АСК; пунктиром выделен референсный интервал.

обою пола с мутацией в гене *JAK2*, принимающих АСК в низких дозах (75—100 мг в сутки), значения амплитуды агрегации существенно не отличались от значений, наблюдавшихся у пациентов, не получающих антиагрегантную терапию. Эти результаты свидетельствуют о наличии лабораторной резистентности к АСК, обусловленной механизмами, независимыми от ингибирования ЦОГ-1. Увеличенные показатели агрегации могут также обуславливаться повышенным количеством циркулирующих тромбоцитов и их более интенсивной продукцией. Среди здоровых лиц зависимости количества тромбоцитов и амплитуды их агрегационной кривой не наблюдалось ($r_s = 0,08—0,16$), однако у больных ХМПЗ корреляционная связь этих параметров была хотя и невысокой, но статистически значимой. При этом коэффициент корреляции не зависел от пола больного, не имеющего мутацию ($r_s = 0,56 \pm 0,08$; $p < 0,05$), но у мужчин был существенно меньше ($r_s = 0,38 \pm 0,13$; $p < 0,05$), чем у женщин ($r_s = 0,59 \pm 0,10$; $p < 0,05$) с мутацией *JAK2*. Очевидно, только фактом наличия тромбоцитоза нельзя объяснить наблюдаемые гиперагрегационные сдвиги, поскольку влияние мутации на агрегационные параметры во многом связано с качественными изменениями тромбоцитов, а параметр абсолютного уровня тромбоцитов не является строгим показателем к назначению антиагрегантов данной категории больных [14]. У 4 пациентов показатели агрегации, несмотря на достаточно

высокую концентрацию циркулирующих тромбоцитов, характеризовались довольно низкими значениями (менее 2 Ом), предрасполагающими к повышенному риску кровотечений. Как правило, при этом у пациентов регистрировались лабораторные признаки приобретенного синдрома Виллебранда [15].

Выраженные гендерные различия импедансометрических агрегатограмм были ранее выявлены в наших исследованиях у здоровых лиц [10]. В настоящей работе показано, что эти различия воспроизводились и у больных ХМПЗ, максимально они были выражены при наличии мутации *JAK2* (табл. 2). При этом повышенные показатели амплитуды агрегации тромбоцитов у женщин контрольной группы сохранялись на фоне инкубации проб крови с АСК *in vitro*. Использование инкубационной пробы демонстрирует возможность оптимальных концентраций АСК вызывать дезагрегационный ответ тромбоцитов у больных ХМПЗ. Вероятно, в отличие от рекомендованных стандартных режимов аспиринопрофилактики сосудистых событий, у больных ХМПЗ необходима корректировка дозы и режима приема АСК. Одновременно в нашем исследовании выявлено, что в тесте инкубации проб крови с АСК *in vitro* степень гендерных отличий агрегации тромбоцитов снижалась до статистически незначимой у больных ХМПЗ с наличием мутации *JAK2*. Таким образом, мутация в гене *JAK2* и повышенная активность этого фермента при ХМПЗ сопряжены с подавлением механизмов полового детерминизма агрегационных функций тромбоцитов (см. табл. 2).

Реализация эффекта половых гормонов может включать сигнальные пути, активность которых регулируется янускиназой. Экспрессия рецепторов половых гормонов [16], а также тромбопоэтина и эритропоэтина [17, 18] на мембранах зрелых тромбоцитов не исключает и внегеномные механизмы регуляции, которые могут определять гетерогенные по характеру и силе сдвиги в реализации тромбоцитарных функций у мужчин и женщин. Участие янускиназы в негеномных ЦОГ-1-независимых механизмах активации агрегационной активности тромбоцитов открывает возможность использования ингибиторов *JAK* с целью достижения не только циторедуцирующего эффекта, но и вероятного прямого антиагрегационного действия.

Таким образом, в наших наблюдениях выявлены следующие основные закономерности:

- использование импедансного метода регистрации агрегации тромбоцитов с применением АДФ в

Таблица 2

Амплитуда АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в цельной крови до и после инкубации проб с АСК *in vitro*; $Me (C_{25}—C_{75})$

№	Группа	Мужчины		Женщины		Гендерные различия	
		без АСК	на фоне АСК	без АСК	на фоне АСК	без АСК	на фоне АСК
1	Контроль	6 (5—8)	2 (1—6,5)*	10 (9—12)	8,5 (6—10)*	+4 ($p = 0,001$)	+6,5 ($p = 0,001$)
2	<i>JAK2</i> ⁻	8 (4—11)	5 (2—13)*	14 (8,5—17)	8,5 (3—14)*	+6 ($p = 0,001$)	+3,5 ($p = 0,2$)
3	<i>JAK2</i> ⁺	10,5 (4—15)	8,5 (2—11)*	16 (13—19)	11 (7—15)*	+5,5 ($p = 0,01$)	+2,5 ($p = 0,2$)
	p_{2-3}	0,2	0,5	0,2	0,4		
	p_{1-3}	0,05	< 0,05	< 0,05	0,08		
	p_{1-2}	0,2	< 0,05	< 0,05	0,7		

Примечание. * $p < 0,05$ — статистически значимые различия амплитуды после инкубации с АСК по сравнению с аналогичным показателем до инкубации.

качестве индуктора показало недостаточную эффективность обычных профилактических доз аспирина у большинства больных ХМПЗ, а также позволило выявить отдельных пациентов с низкими показателями агрегации, обуславливающими противопоказание к назначению дезагрегантов;

- агрегационные характеристики тромбоцитов у женщин существенно повышены по сравнению с таковыми у мужчин, как среди здоровых лиц, так и у больных ХМПЗ, степень гендерных отличий величины амплитуды агрегации зависит от наличия мутации в гене янускиназы и влияния АСК;

- индивидуальная оценка функциональной активности тромбоцитов в тесте инкубации проб цельной крови с АСК может быть полезна при назначении дезагрегационной терапии больным ХМПЗ.

Авторы благодарят заведующего гематологическим отделением Красноярской краевой клинической больницы В.И. Москва, главного внештатного гематолога Минздрава Красноярского края Е.Ю. Виноградову и всех врачей-гематологов Красноярска за помощь в подборе пациентов и организации взятия проб крови.

ЛИТЕРАТУРА

1. Manoharan A., Gemmell R., Brighton T., Dunkley S., Lopez K., Kyle P. Thrombosis and bleeding in myeloproliferative disorders: identification of at-risk patients with whole blood platelet aggregation studies. *Br. J. Haematol.* 1999; 105(3): 618—25.
2. Шмелева В.М., Абдулкадыров К.М., Бессмельцев С.С. Частота встречаемости гипергомостениемии у больных хроническими миело-пролиферативными заболеваниями и множественной миеломой. *Гематология и трансфузиология.* 2012; 3(приложение): 89.
3. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am. J. Hematol.* 2012; 87(3): 285—93. doi: 10.1002/ajh.23135.
4. Haferlach T., Bacher U., Kern W., Schnittger S., Haferlach C. The diagnosis of BCR/ABL-negative chronic myeloproliferative diseases (CMPD): a comprehensive approach based on morphology, cytogenetics, and molecular markers. *Ann. Hematol.* 2008; 87(1): 1—10.
5. Levine R.L., Wernig G. Role of JAK-STAT signaling in the pathogenesis of myeloproliferative disorders. *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2006; 2006(1): 233—239.
6. Landolfi R., Marchioli R., Kutti J., Gisslinger H., Tognoni G., Patrono C. et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(2): 114—24.
7. Tiede A., Rand J.H., Budde U., Ganser A., Federici A.B. How I treat the acquired von Willebrand syndrome. *Blood.* 2010; 117(25): 6777—85.
8. Christiaens L., Ragot S., Mergy J., Allal J., Macchi L. Major clinical vascular events and aspirin-resistance status as determined by the PFA-100 method among patients with stable coronary artery disease: a prospective study. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2008; 19(3): 235—9. doi: 10.1097/MBC.0b013e3282f9ade8.
9. Столяр М.А., Ольховский И.А. Определение аспиринорезистентности тромбоцитов *in vitro* по данным оптического и импедансометрического методов. *Вестник НГУ. Серия биология и клиническая медицина.* 2012; 5: 36—42.
10. Ольховский И.А., Столяр М.А. О критериях аспиринорезистентности в импедансном тесте агрегации тромбоцитов. *Кардиоангиология и ревматология.* 2013; 1: 8—12.
11. Ольховский И.А., Столяр М.А. О методе определения чувствительности к ацетилсалициловой кислоте в импедансном тесте агрегации тромбоцитов. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2013; 4: 51—57.
12. Иванов В.И., Дорофейков В.В., Вавилова А.В. Способ определения антитромботического эффекта ацетилсалициловой кислоты. Патент РФ, № 2379684; 2010. Оpubl. 20.01.10. Изобретения и полезные модели. 2010; Бюл. №2.
13. Айнетдинова Д.Х., Удовиченко А.Е., Сулимов В.А. Резистентность к антитромбоцитарным препаратам у больных острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2008; 2: 23—9.
14. Michelson A.D. Platelets. 3rd ed. Boston: Academic Press; 2013.
15. Ольховский И.А., Столяр М.А., Лобанова С.М., Потылицина В.В. Исследование роли фактора Виллебранда в эффективности анти-тромботического действия аспирина. Материалы IV Международной научной онлайн конференции «Актуальные проблемы био-

химии и бионанотехнологий», посвященной 150-летию основания кафедры биохимии в Казанском университете. 2013. т.2: 41—4.

16. Virginia L., Virginia M., Hay M. Principles of sex-based differences in physiology. London: Elsevier; 2004.
17. Taylor J. E., Belch J. F., Henderson I. S., Stewart W. K. Erythropoietin does not increase whole-blood platelet aggregation *in vitro*. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1994; 9(5): 556—8.
18. Kaplan A., Kaplan S., Marcoe K.F., Sauvage R., Hammond W.P. The effect of hematopoietic growth factors on platelet aggregability. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 1998; 4(4): 238—42.

Поступила 06.09.13

REFERENCES

1. Manoharan A., Gemmell R., Brighton T., Dunkley S., Lopez K., Kyle P. Thrombosis and bleeding in myeloproliferative disorders: identification of at-risk patients with whole blood platelet aggregation studies. *Br. J. Haematol.* 1999; 105(3): 618—25.
2. Shmeleva V.M., Abdulkadyrov K.M., Bessmeltsev S.S. The incidence of hyperhomocysteinemia in patients with chronic myeloproliferative diseases and multiple myeloma (Частота встречаемости гипергомостениемии у больных хроническими миело-пролиферативными заболеваниями и множественной миеломой). *Gematologiya i transfuziologiya.* 2012; 3(Suppl): 89. (in Russian)
3. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am. J. Hematol.* 2012; 87(3): 285—93. doi: 10.1002/ajh.23135.
4. Haferlach T., Bacher U., Kern W., Schnittger S., Haferlach C. The diagnosis of BCR/ABL-negative chronic myeloproliferative diseases (CMPD): a comprehensive approach based on morphology, cytogenetics, and molecular markers. *Ann. Hematol.* 2008; 87(1): 1—10.
5. Levine R.L., Wernig G. Role of JAK-STAT signaling in the pathogenesis of myeloproliferative disorders. *Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2006; 2006(1): 233—9.
6. Landolfi R., Marchioli R., Kutti J., Gisslinger H., Tognoni G., Patrono C., et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(2): 114—24.
7. Tiede A., Rand J.H., Budde U., Ganser A., Federici A.B. How I treat the acquired von Willebrand syndrome. *Blood.* 2010; 117(25): 6777—85.
8. Christiaens L., Ragot S., Mergy J., Allal J., Macchi L. Major clinical vascular events and aspirin-resistance status as determined by the PFA-100 method among patients with stable coronary artery disease: a prospective study. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 2008; 19(3): 235—9.
9. Stolyar M.A., Olkhovskiy I.A. Evaluation of aspirin platelet resistance: optical and impedance assay (Определение аспиринорезистентности тромбоцитов *in vitro*, по данным оптического и импедансометрического методов). *Vestnik NGU. Series biology and clinical medicine.* 2012; 5: 36—42. (in Russian)
10. Olkhovskiy I.A., Stolyar M.A. Criteria for aspirin resistance in the impedance test for platelet aggregation (О критериях аспиринорезистентности в импедансном тесте агрегации тромбоцитов). *Kardioangiologiya i revmatologiya.* 2013; 1: 8—12. (in Russian)
11. Olkhovskiy I.A., Stolyar M.A. The method of determining the sensitivity to acetylsalicylic acid in the impedance test of platelet aggregation (О методе определения чувствительности к ацетилсалициловой кислоте в импедансном тесте агрегации тромбоцитов). *Trombоз, gemostaz i reologiya.* 2013; 4: 51—7. (in Russian)
12. Ivanov V.I., Dorofeykov V.V., Vavilova A.V. A method for determining an antithrombotic effect of acetylsalicylic acid (Способ определения антитромботического эффекта ацетилсалициловой кислоты). Патент РФ, № 2379684; 2010. (in Russian)
13. Ayneidinova D.Kh., Udovichenko A.E., Sulimov V.A. Resistance to anti-platelet drugs in patients with acute coronary syndrome segment elevation ST (Rezistentnost k antitrombotičarnym preparatam u bolnykh ostrym koronarnym sindromom s pod'emom segmenta ST). *Racionalnaya farmakoterapiya v kardiologii.* 2008; 2: 23—9. (in Russian)
14. Michelson A.D. Platelets: third edition. Boston: Academic Press; 2013.
15. Olkhovskiy I.A., Stolyar M.A., Lobanova S.M., Potylitsina V.V. Investigation of the role of von Willebrand factor in the effectiveness of anti-thrombotic effects of aspirin. Proceedings of the IV International scientific online conference “Actual problems of biochemistry and biotechnology”, dedicated to the 150th anniversary of the Department of biochemistry at the University of Kazan (Issledovanie roli faktora Villebranda v effektivnosti antitrombotičeskogo deystviya aspirina. Materialy IV Mezhdunarodnoy nauchnoy onlayn konferentsii “Aktual'nye problemy biokhimii i bionanotekhnologii”, posvyashchennoy 150-letiyu osnovaniya kafedry biokhimii v Kazanskom universitete). 2013. v.2: 41—4. (in Russian)
16. Virginia L., Virginia M., Hay M. Principles of sex-based differences in physiology. London: Elsevier; 2004.
17. Taylor J. E., Belch J. F., Henderson I. S., Stewart W. K. Erythropoietin does not increase whole-blood platelet aggregation *in vitro*. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1994; 9(5): 556—8.
18. Kaplan A., Kaplan S., Marcoe K.F., Sauvage R., Hammond W.P. The effect of hematopoietic growth factors on platelet aggregability. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 1998; 4(4): 238—42.