

случай на 1462 – 1656 донаций; ВГС – 1 случай на 3550 – 5022 донаций.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 7–8 см. REFERENCES)

1. Жибурт Е.Б. *Трансфузиология*. СПб.: Питер; 2002.
2. Скорикова С.В., Буркитбаев Ж.К., Жибурт Е.Б. Донорство крови и жизнь. Корреляции. *Трансфузиология*. 2013; 14 (4): 24–8.
3. Скорикова С.В., Буркитбаев Ж.К., Магзумова Р.З., Шестаков Е.А., Жибурт Е.Б. Эволюция структуры доноров и донаций крови и ее компонентов в Республике Казахстан. *Вестник Национального медико-хирургического центра имени Н.И. Пирогова*. 2013; 8 (4): 59–61.
4. Скорикова С.В., Буркитбаев Ж.К., Савчук Т.Н., Жибурт Е.Б. Распространенность ВИЧ-, ВГС-, ВГВ-инфекций у доноров крови г. Астаны. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60 (1): 38–40.
5. Буркитбаев Ж.К., Скорикова С.В., Абдрахманова С.А., Жибурт Е.Б. Основные показатели развития донорства крови и ее компонентов в Республике Казахстан. *Журнал службы крови (Казахстан)*. 2014; (2): 91–7.
6. Приказ исполняющего обязанности Министра здравоохранения Республики Казахстан № 684 от 10.11.2009 «Об утверждении Правил контроля качества и безопасности донорской крови и ее компонентов». Астана; 2009.

REFERENCES

1. Zhiburt E.B. *Transfusion [Transfuziologiya]*. St. Petersburg: Piter; 2002. (in Russian)
2. Skorikova S.V., Burkitbaev Zh.K., Zhiburt E.B. Blood donation and life. Correlations. *Transfuziologiya*. 2013; 14 (4): 24–8. (in Russian)
3. Skorikova S.V., Burkitbaev Zh.K., Magzumova R.Z., Shestakov E.A., Zhiburt E.B. The evolution of the structure of donors and donations of blood and blood components in the Republic of Kazakhstan. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tsentra imeni N.I. Pirogova*. 2013; 8 (4): 59–61. (in Russian)
4. Skorikova S.V., Burkitbaev Zh.K., Savchuk T.N., Zhiburt E.B. The prevalence of HIV, HCV, HBV infections in blood donors in Astana. *Voprosy virusologii*. 2015; 60 (1): 38–40. (in Russian)
5. Burkitbaev Zh.K., Skorikova S.V., Abdрахmanova S.A., Zhiburt E.B. Key indicators of blood donation and its components in the Republic of Kazakhstan. *Zhurnal sluzhby krovi (Kazakhstan)*. 2014; (2): 91–7. (in Russian)
6. Order of the Acting Minister of Health of the Republic of Kazakhstan № 684 of 10.11.2009 “On Approval of the Rules of quality control and safety of donor blood and its components.” Astana; 2009. (in Russian)
7. Roth W.K., Busch M.P., Schuller A., Ismay S., Cheng A., Seed C.R. et al. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. *Vox Sang.* 2012; 102 (1): 82–90.
8. Naidu N.K., Bharucha Z.S., Sonawane V., Ahmed I. Nucleic acid testing: Is it the only answer for safe blood in India. *Asian J. Transfus. Sci.* 2016; 10 (1): 79–83.

Поступила 11.08.16

Принята к печати 29.11.16

КОАГУЛОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.419-006-036.12-07:616.155.2-008.1

Столяр М.А.^{1,3}, Ивашин Д.С.², Ольховский И.А.^{1,2}

К ВОПРОСУ ВЫБОРА АНТИКОАГУЛЯНТОВ ПРИ АДФ-ИНДУЦИРОВАННОМ ИМПЕДАНСНОМ ТЕСТЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫМИ ОПУХОЛЯМИ

¹Красноярский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, 660036, Красноярск;

²ФГБУН «Красноярский научный Центр Сибирского отделения РАН», 660036, Красноярск;

³ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», 660041, Красноярск, Россия

Проведена оценка влияния антикоагулянтов, используемых при взятии венозной крови, на агрегацию тромбоцитов и эффект ацетилсалициловой кислоты (АСК) *in vitro* у 111 пациентов с подозрением на хронические миелопролиферативные опухоли и 16 здоровых добровольцев. Использовали вакутейнеры (Becton Dickinson) с цитратом 3,2%, с гепарином (Becton Dickinson) и системы S-Monovette (Sarstedt AG & Co) с рекомбинантным гирудинном. Исследование агрегации проводили методом импеданса в цельной крови до и после предварительной инкубации проб крови с АСК в концентрации 0,1 мМ, индукцию осуществляли АДФ в конечной концентрации 5 мкМ. Показано, что АДФ-индуцированная амплитуда агрегации при использовании гепарина и гирудина значительно выше по сравнению с ее уровнем в пробах цитратной крови. При этом АСК парадоксально увеличивает амплитуду агрегации в пробах с гепарином, но не в пробах с цитратом или гирудинном. Использование гирудина позволяет оценивать влияние АСК как на агрегационную, так и на дезагрегационную составляющую тромбоцитарных функций при эритро- и тромбоцитозах и может быть рекомендовано как предпочтительное при тестировании индивидуальной чувствительности пациентов к АСК.

Ключевые слова: антикоагулянты; агрегация тромбоцитов; импеданс; хронические миелоидные опухоли.

Для цитирования: Столяр М.А., Ивашин Д.С., Ольховский И.А. К вопросу выбора антикоагулянтов при АДФ-индуцированном импедансном тесте агрегации тромбоцитов у пациентов с хроническими миелопролиферативными опухолями. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (3): 156-160. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-156-160>

Для корреспонденции: Ольховский Игорь Алексеевич, канд. мед. наук, доц., дир. Красноярского филиала ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, ст. науч. сотр. ФГБУН «Красноярский научный Центр СО РАН», 660036, Красноярск; e-mail: krashemcenter@mail.ru

Stolyar M.A.^{1,3}, Ivashin D.S.², Olkhovsky I.A.^{1,2}

ON THE ISSUE OF SELECTION OF COAGULANTS UNDER ADP-INDUCED IMPEDANCE TEST OF AGGREGATION OF THROMBOCYTES IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELO-PROLIFERATIVE TUMORS

¹The Krasnoyarskii` branch of the hematological center of Minzdrav of Russia, 660036 Krasnoyarsk, Russia

²The Krasnoyarskii` research center of the Siberian branch of the Russian academy of sciences, 660036 Krasnoyarsk, Russia

³The Siberian federal university, 660041 Krasnoyarsk, Russia

The evaluation was implemented concerning impact of anticoagulants used during venous blood sampling, on aggregation of thrombocytes and acetylsalicylic acid effect in vitro in 111 patients with suspicion to chronic myelo-proliferative tumors and 16 healthy volunteers. The vacutainers (Becton Dickinson) with 3.2% citrate, with heparin (Becton Dickinson) and S-Monovette system (Sarstedt AG & Co) with recombinant hirudin were applied. The analysis of aggregation was implemented using the technique of impedance in whole blood before and after preliminary incubation of blood samples with acetylsalicylic acid effect in 0.1 mM concentration. The induction was implemented by ATP in final concentration of 5 mkM. It is demonstrated that ATP-induced amplitude of aggregation under application of heparin and hirudin is significantly higher in comparison with its level in samples of citrate blood. At that, acetylsalicylic acid effect paradoxically increases amplitude of aggregation in samples with heparin but not in samples with citrate or hirudin. The application of hirudin permits evaluating impact of acetylsalicylic acid effect both at aggregation and disaggregation component of thrombocyte functions under erythrocytosis and thrombocytosis and can be recommended as a preferable approach in testing individual sensitivity of patients to acetylsalicylic acid effect.

Key words: anticoagulant; aggregation of thrombocytes; impedance; chronic myeloid tumors

For citation: Stolyar M.A., Ivashin D.S., Olkhovsky I.A. On the issue of selection of coagulants under ADP-induced impedance test of aggregation of thrombocytes in patients with chronic myelo-proliferative tumors. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (3): 156-160. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-156-160>*

For correspondence: Olkhovsky I.A., candidate of medical sciences, associate professor, director of the Krasnoyarskii` branch of the hematological center, senior researcher of Krasnoyarskii` research center of the Siberian branch of the Russian academy of sciences. e-mail: krashemcenter@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study was carried out within the framework of budget programs of The Krasnoyarskii` branch of the hematological center and The Siberian federal university; Additional financial support was received from regional public organization "The Krasnoyarskaia kraevaia association of medical laboratory diagnostic"

Received 29.07.2016
Accepted 26.09.2016

Введение. Тромботические и геморрагические осложнения – наиболее распространенные клинические проявления и причины смерти у пациентов с Rh-негативными хроническими миелопролиферативными опухолями (ХМО). Снижение гематокрита, повышение вязкости крови и агрегационной активности тромбоцитов в патогенезе ХМО во многом обуславливается соматическими мутациями в генах *JAK2*, *MPL*, *CALR* клеток миелоидного ряда [1–2]. Ацетилсалициловая кислота (АСК) наряду с циторедуктивной терапией признана эффективным средством профилактики сосудистых тромбозов [1–4]. Вместе с тем высокая частота развития синдрома Виллебранда при клональных тромбоцитозах приводит к кровоточивости и служит противопоказанием к приему АСК [5]. Кроме того, среди пациентов довольно часто наблюдается резистентность к действию АСК, что обуславливает актуальность использования индивидуальных тестов оценки чувствительности к дезагрегантам. Однако серьезной проблемой использования тестов агрегации тромбоцитов *in vitro* оказываются методические вопросы стандартизации и недостаточная корреляция с клиническими проявлениями нарушения гемостаза [6,7]. Ранее нами была показана высокая межиндивидуальная вариация результатов тестирования, ограничивающая использование референтных границ в оценке результатов импедансной агрегометрии [8]. По данным разных исследований, выявление сниженной или повышенной чувствительности к АСК также широко варьирует и зависит как от используемого метода оценки функций тромбоцитов, так и от выбранного при взятии крови антикоагулянта [9–10].

Получение цельной крови для исследования гемостаза традиционно осуществляют в пробирки с цитратом натрия. Однако известно, что цитрат связывает ионы кальция, необходимые для полноценной активации тромбоцитов, а также способен индуцировать секрецию гранул и формирование

тромбоцитарных микровезикул. В ряде исследований у здоровых доноров и у пациентов с сердечно-сосудистой патологией на терапии АСК проводили сравнение результатов агрегометрии в пробах с гепарином или гирудином в качестве альтернативного антикоагулянта при взятии проб крови [11–12]. Выявлено, что нефракционированный и низкомолекулярный гепарин в отличие от гирудина стимулируют агрегацию в импедансометрическом тесте в пробах цельной крови у добровольцев как до, так и после приема АСК [13]. Гиперагрегационный феномен авторы связывают с активацией гепарином $\alpha IIb\beta 3$ тромбоцитарных рецепторов [14]. Также отмечено, что агрегационный эффект гепарина усиливается, если пациент накануне исследования принимал АСК [15]. Данные о влиянии гепарина и АСК *in vivo* на тромбоцитарный гемостаз в доступной литературе отсутствуют. Очевидно, недостаточное изучение преаналитических аспектов агрегометрии – одно из основных препятствий стандартизации метода и его востребованности в клинической практике.

Производители импедансометрических агрегометров Multiplate рекомендуют использовать при взятии крови в качестве антикоагулянта наряду с цитратом натрия также и гирудин [16]. Вместе с тем однозначных клинических рекомендаций по выбору антикоагулянтов для импедансометрического определения аспиринорезистентности до сих пор не существует.

Цель работы – сравнительное исследование влияния цитрата, гепарина и гирудина на импедансометрическую оценку агрегации тромбоцитов и эффект АСК *in vitro* у пациентов с эритро- и тромбоцитозами.

Материал и методы. В исследование включены данные анализа агрегации тромбоцитов 111 пациентов, направленных в лабораторию врачами-гематологами Красноярска с подозрением на ХМО, 16 здоровых добровольцев составили группу контроля.

Таблица 1 грамм представлены на рисунке.

Характеристика обследованных пациентов, Ме (C₂₅–C₇₅)

Показатель	Пациенты с ХМО (мутации в генах <i>JAK2</i> или <i>CALR</i>)		Пациенты без онкогенных мутаций в генах <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> , <i>MPL</i>	
	гепарин	гирудин	гепарин	гирудин
<i>n</i>	25	21	40	25
Мужчины/женщины	9/16	7/14	23/17	20/5
Возраст, годы	64 (55–68)	53 (43–66)	49 (34–60)	44 (30–55)
Тромбоциты, ·10 ⁹ /л	368 (267–724)	682 (367–862)	238 (167–315)	287 (217–483)*
Эритроциты, ·10 ¹² /л	4,87 (4,25–6,22)	5,44 (5,13–6,43)	5,46 (4,59–5,93)	5,41 (5,05–5,75)
Лейкоциты, ·10 ⁹ /л	8,02 (5,63–10,65)	10,59 (7,05–16,37)	8,11 (6,33–9,91)	9,9 (7,37–12,87)
Гематокрит, %	42,5 (38,3–47,2)	43,9 (42,1–49,9)	46,6 (36,8–49,1)	45,4 (42,8–48,3)

Примечание. * – *p* = 0,004.

Венозную кровь у 65 пациентов отбирали параллельно в вакутейнеры с цитратом натрия 3,2% и гепарином (BD Vacutainer), а у 46 пациентов – в вакутейнеры с цитратом натрия 3,2% и S-Monovette с рекомбинантным гирудином (г-гирудин, Sarstedt AG & Co). Для проведения гематологических и молекулярно-генетических исследований у всех пациентов дополнительно брали кровь в вакутейнеры с ЭДТА. Характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1. Анализ функций тромбоцитов проводили на агрегометре Хронолог-700 (Chrono-Log, США) методом импеданса в цельной крови не позднее чем через 4 ч после взятия крови. Индукция агрегации осуществлялась 5 мкМ АДФ (НПО «Ренам», Россия). Оценка динамики агрегации проводили в пробах до и после предварительной (15 мин) инкубации цельной крови с АСК в конечной концентрации 0,1 мМ. Тест с АСК был предложен ранее для оценки ЦОГ-независимых механизмов агрегации тромбоцитов [17]. Интенсивность агрегации тромбоцитов оценивали по параметру амплитуды (Ом) – максимального подъема агрегационной кривой. Изменение амплитуды и лаг-фазы агрегации для гепарина и гирудина по сравнению с цитратом вычисляли как разницу между параметром после инкубации и параметром до инкубации с АСК. Примеры полученных агрегато-

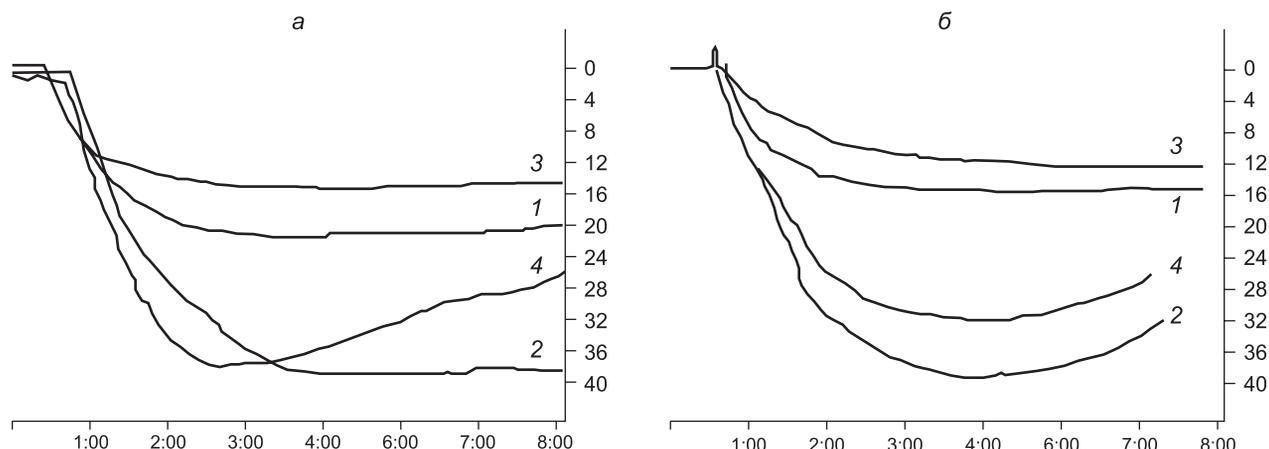
грамм представлены на рисунке. Анализ параметров гемограммы осуществляли на автоматическом гематологическом анализаторе SYSMEX XT-2000i (Sysmex согр., Япония). Выявление соматических мутаций в генах *JAK2*, *CALR* и *MPL* проводили методом ПЦР, как было описано ранее [18]. В целом среди обследованных методом агрегометрии пациентов соматическая мутация V617F в гене *JAK2* обнаружена у 37 пациентов, мутации в гене *CALR* были у 9 пациентов, мутаций в гене *MPL* среди включенных в исследование пациентов не выявлено.

Для проведения статистической обработки использовали пакет прикладных программ Statistica 10.0. Статистический анализ данных между связанными выборками проводили с использованием критерия Вилкоксона. Описательная статистика представлена в виде значений медианы (Ме), верхнего и нижнего квартилей (C₂₅–C₇₅).

Результаты и обсуждение. Из табл. 1 видно, что группа пациентов с ХМО с соматическими мутациями в генах *JAK2* или *CALR* отличалась от группы лиц, не имеющих данных мутаций, более высоким значением количества тромбоцитов. При сравнении показателей гемограммы пациентов в образцах крови с разными антикоагулянтами статистически значимых отличий не обнаружено.

Оценка влияния отдельных антикоагулянтов на агрегацию показала, что на фоне и гепарина и гирудина наблюдается значительно более выраженный агрегационный ответ на АДФ по сравнению с пробами крови, взятыми в вакутейнеры с цитратом как у пациентов с подозрением на ХМО, так и в группе добровольцев (табл. 2, 3). Это согласуется с результатами ряда исследований, проведенными у пациентов с другими заболеваниями [11, 12].

Вместе с тем при использовании в качестве антикоагулянта гепарина повышение амплитуды агрегации наблюдалось в



Импедансометрические агрегатограммы с различными антикоагулянтами.

а – с цитратом и гирудином. 1 – цитрат; 2 – гирудин; 3 – цитрат + АСК; 4 – гирудин + АСК. После инкубации с АСК в пробе с гирудином у данного пациента наблюдают дезагрегацию.

б – с цитратом и гепарином. 1 – цитрат; 2 – гепарин; 3 – цитрат + АСК; 4 – гепарин + АСК. В пробе с гепарином у данного пациента наблюдают дезагрегацию.

По оси абсцисс – время (мин) после внесения АДФ, по оси ординат – сопротивление электрическому току (Ом).

Таблица 2

Агрегация тромбоцитов в пробах цельной крови у обследованных пациентов при использовании цитрата и гепарина

Показатель	Контроль			Пациенты с ХМО с соматическими мутациями (JAK2, CALR)			Пациенты без мутаций в генах		
	цитрат	гепарин	Δ	цитрат	гепарин	Δ	цитрат	гепарин	Δ
До инкубации проб с АСК									
Амплитуда, Ом	6,5 (4–10)	15 (10,5–16,5)	6 (4,5–9,5)	12 (3,5–15)	23 (17–30)*	12,5 (4–20,5)	10 (3,5–14,5)	20,5 (12,5–27)*	12 (8–18)*
Частота дезагрегации, %	0	0		4	0		2,5	2,5	
После инкубации проб с АСК									
Амплитуда, Ом	6 (4–7)	14,5 (11–19)	11, (7–12,)	3 (0,5–16)	24 (13–29,5)*	12,5 (10–22,5)	8 (4–14)	23 (16–30)*	13 (9–18)*
Частота дезагрегации, %	0	0		4	0		0	0	

Примечание. * – отличия статистически достоверны по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Таблица 3

Агрегация тромбоцитов цельной крови у обследованных пациентов при использовании цитрата и гирудина

Показатель	Контроль			Пациенты с ХМО с соматическими мутациями (JAK2, CALR)			Пациенты без мутаций в генах		
	цитрат	гирудин	Δ	цитрат	гирудин	Δ	цитрат	гирудин	Δ
До инкубации проб с АСК									
Амплитуда, Ом	6,5 (4–10)	12 (10–15)	6 (3–9)	7 (2–9)	23 (15–29)*	17 (8–20)*	6 (3–11)	17 (11–24)	10 (8–15)*
Частота дезагрегации, %	0	0		0	28,6		0	14,3	
После инкубации проб с АСК									
Амплитуда, Ом	6 (4–7)	9 (8–11)	4 (3–5)	8 (0–11)	24 (17,5–35)*	18 (11–22)*	5 (2–10)	18 (13–27)*	13 (9–16)*
Частота дезагрегации, %	0			9,5	23,8		0	19	

Примечание. * – отличия статистически достоверны по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

равной степени как у пациентов с соматическими мутациями, так и без них. В то время как при использовании гирудина такой эффект в большей степени ($p < 0,05$) был характерен для пациентов с онкогенными мутациями. Однако ни один из использованных антикоагулянтов не оказывал влияния на выраженность эффекта АСК в сравниваемых группах.

Вместе с тем добавление АСК к пробам с гепарином часто вызывает «парадоксальное» увеличение амплитуды агрегации по сравнению с действием АСК в образцах цитратной крови, что нашло отражение в средних значениях амплитуды агрегации на фоне АСК, представленных в табл. 2. Данный феномен не был ранее описан в литературе, однако существуют указания на то, что ингибиторы ЦОГ-1 не способны блокировать агрегацию в гепаринизированной крови [12].

Представляет интерес оценка феномена дезагрегационного эффекта АДФ среди обследованных групп. Установлено, что при использовании гирудина в качестве антикоагулянта случаи дезагрегации на стандартной концентрации АДФ регистрируют в 3,5 раза чаще, чем при использовании цитрата (см. табл. 3). Механизмы дезагрегационного эффекта АДФ у пациентов с ХМО требуют дополнительного исследования. Мы предполагаем, что выраженность АДФ-деагрегации при инкубации проб с АСК может служить не менее информативным показателем чувствительности к АСК, чем амплитуда максимальной агрегации [20].

Гепарин не рекомендован как антикоагулянт выбора ни для одного из известных методов агрегометрии. В нашем исследовании показано парадоксальное активирующее действие гепарина на агрегацию тромбоцитов в цельной крови после инкубации с АСК. При этом ранее нами также описан

гиперагрегационный эффект АСК на плазменный гемостаз в тесте тромбодинамики [21]. Возможно, данный феномен связан с ацетилированием плазменных белков, участвующих в регуляции функций тромбин-антитромбинового комплекса, и его также следует учитывать в итоговой оценке лабораторной аспиринорезистентности. Клиническое значение гиперагрегационного эффекта АСК, выявленного в тестах *in vitro*, требует дополнительного изучения.

Заключение. Использование в качестве антикоагулянтов гепарина и гирудина при импедансной агрегометрии проб цельной крови приводит к более высоким значениям АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. При этом абсолютные значения амплитуды исходной агрегации и значения эффекта АСК статистически не отличаются в группах пациентов с клональными и реактивными миелолифолиферативными процессами. Обнаруженный гиперагрегационный эффект гепарина, усиливающийся АСК в тестах *in vitro*, требует дополнительного изучения и оценки возможных клинических рисков совместного использования гепарина с ингибиторами ЦОГ.

Преимущество использования гирудина в качестве антикоагулянта позволяет оценивать влияние АСК как на агрегационную, так и на дезагрегационную составляющие тромбоцитарных функций и может быть рекомендовано с целью тестирования индивидуальной чувствительности к АСК.

Благодарности. Авторы выражают благодарность представительству фирмы Sarstedt AG & Co за любезно предоставленные разовые системы взятия венозной крови – S-Monovette® с рекомбинантным гирудином, а также врачам-гематологам М.А. Михалеву и Е.В. Васильеву за подбор пациентов с ХМО.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Настоящее исследование проведено в рамках бюджетных программ НИР ФГБУН КНЦ СО РАН и ФГАОУ ВО СФУ. Дополнительная финансовая поддержка была получена от региональной общественной организации РОО «Красноярская краевая ассоциация медицинской лабораторий диагностики».

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1–7, 9–16, 19
см. REFERENCES)

8. Столяр М.А., Ольховский И.А. К вопросу определения границ нормальной реакции тромбоцитов в тесте импедансной агрегометрии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (6): 359–63.
17. Ольховский И.А., Столяр М.А. Особенности агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с мутацией в гене JAK2: гендерные отличия и эффект ацетилсалициловой кислоты. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59 (1): 11–4.
18. Ольховский И.А., Горбенко А.С., Столяр М.А., Субботина Т.Н., Васильев Е.В., Виноградова Е.Ю. и др. Определение мутации в гене кальретикулина у пациентов с подозрением на хронические миелопролиферативные неоплазии. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59 (3): 12–5.
20. Ивашин Д.С., Столяр М.А., Ольховский И.А. Количественная оценка величины АДФ-деагрегации тромбоцитов в импедансометрическом аспириновом тесте у пациентов с миелопролиферативными заболеваниями. В кн.: *Материалы VII Всероссийской конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии в сердечно-сосудистой хирургии*. М.; 2015: 175–6.
21. Столяр М.А., Ольховский И.А. Исследование влияния аспирина на параметры роста фибринового сгустка в тесте тромбодинамики. *Гематология и трансфузиология*. 2014; 59 (S1): 122.

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. Landolfi R., Gennaro L.D. Pathophysiology of thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2011; 96 (2): 183–6.
3. 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.
4. De Stefano V., Za T., Rossi E., Vannucchi A.M., Ruggeri M., Elli E. et al. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica*. 2008; 93 (3): 372–80.
5. 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.
6. Hayward C.P., Pai M., Liu Y., Moffat K.A., Seecharan J., Webert K.E. et al. Diagnostic utility of light transmission platelet aggregometry: results from a prospective study of individuals referred for bleeding disorder assessments. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7 (4): 676–84.
7. Velik-Salchner C., Maier S., Innerhofer P., Streif W., Klingler A.,

- Kolbitsch C. et al. Point-of-care whole blood impedance aggregometry versus classical light transmission aggregometry for detecting aspirin and clopidogrel: the results of a pilot study. *Anesth. Analg.* 2008; 107 (6): 1798–806.
8. Stolyar M.A., Ol'khovskiy I.A. On issue of detection of limits of normal reaction of thrombocytes in testing of impedance aggregometry. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2016; 61 (6): 359–63. (in Russian)
9. Gorog D.A., Sweeny J.M., Fuster V. Antiplatelet drug 'resistance'. Part 2: laboratory resistance to antiplatelet drugs—fact or artifact? *Nat. Rev. Cardiol.* 2009; 6 (5): 365–73.
10. Hankey G., Eikelboom J. Aspirin resistance. *Lancet*. 2006; 367: 606–17.
11. Kaiser A.F., Neubauer H., Franken C.C., Krüger J.C., Mügge A., Meves S.H. Which is the best anticoagulant for whole blood aggregometry platelet function testing? Comparison of six anticoagulants and diverse storage conditions. *Platelets*. 2012; 23 (5): 359–67.
12. Wallén N.H., Ladjevardi M., Albert J., Bröijersén A. Influence of different anticoagulants on platelet aggregation in whole blood; a comparison between citrate, low molecular mass heparin and hirudin. *Thromb. Res.* 1997; 87 (1): 151–7.
13. Chen J.H., Karlberg K.E., Sylvén C. Heparin and low molecular weight heparin but not hirudin stimulate platelet aggregation in whole blood from acetylsalicylic acid treated healthy volunteers. *Thromb. Res.* 1991; 63 (3): 319–29.
14. Gao C., Boylan B., Fang J., Wilcox D.A., Newman D.K., Newman P.J. Heparin promotes platelet responsiveness by potentiating α IIb β 3-mediated outside-in signaling. *Blood*. 2011; 117 (18): 4946–52.
15. Salzman E.W., Rosenberg R.D., Smith M.H., Lindon J.N., Favreau L. Effect of heparin and heparin fractions on platelet aggregation. *J. Clin. Invest.* 1980; 65 (1): 64–73.
16. Johnston L.R., Larsen P.D., La Flamme A.C., Harding S.A. Methodological considerations for the assessment of ADP induced platelet aggregation using the Multiplate® analyser. *Platelets*. 2013; 24 (4): 303–7.
17. Ol'khovskiy I.A., Stolyar M.A. Features platelet aggregation in patients with JAK-2: gender differences and effect of aspirin. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2014; 59 (1): 11–4. (in Russian)
18. Ol'khovskiy I.A., Gorbenko A.S., Stolyar M.A., Subbotina T.N., Vasil'ev E.V., Vinogradova E.Yu. et al. Identification of the calreticulin mutations at patients with suspected to chronic myeloproliferative neoplasms. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2014; 59 (3): 12–5. (in Russian)
19. Glusa E. Platelet aggregation in recombinant-hirudin-anticoagulated blood. *Haemostasis*. 1991; 21 (Suppl. 1): 116–20.
20. Ivashin D.S., Stolyar M.A., Ol'khovskiy I.A. A quantitative estimate of the ADP-platelet disaggregation in impedance aspirin test in patients with myeloproliferative diseases. In: *Materials of the VII Russian Conference on Clinical Hemostasis and Hemorheology in Cardiovascular Surgery [Materialy VII Vserossiyskoy konferentsii po klinicheskoy gemostaziologii i gemoreologii v serdechno-sosudistoy khirurgii]*. Moscow; 2015: 175–6. (in Russian)
21. Stolyar M.A., Ol'khovskiy I.A. Investigation of the aspirin effect on the growth parameters of fibrin clot in the trombodinamics test. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2014; 59 (S1): 122. (in Russian)

Поступила 29.07.16

Принята к печати 26.09.16