

УДК 612.181.6:612.111.7  
DOI: 10.26435/UC.V012 (27).205

Э.Ф. Баринов, М.М. Лам, О.Л. Максименко, Т.И. Фабер, Н.О. Реутова

ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк

## ВОЗМОЖНОСТИ АНАЛИЗА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ АДРЕНОРЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА ДЛЯ ОЦЕНКИ ФАКТОРОВ РИСКА ТРОМБОГЕНЕЗА

До настоящего времени остаются мало понятными причины «внезапного» повышения проагрегантной активности тромбоцитов (Тц), что ограничивает возможности своевременной диагностики и профилактики тромбозов [1]. В качестве триггера патологической реакции Тц рассматривается активация симпатoadреналовой системы, при которой повышается уровень катехоламинов в циркулирующей крови, следствием чего может быть гиперреактивность Тц к гуморальным факторам [2]. В этой связи логичным представляется поиск информативных индикаторов реактивности организма, позволяющих не только оптимизировать назначение лекарственных препаратов, но и прогнозировать нарушений гемостаза при стресс-реакции. Перспективным направлением считается использование теста *in vitro* с тромбоцитами, позволяющего оценить чувствительность  $\alpha_2$ - и  $\beta_2$ - адренорецепторов по амплитуде агрегации тромбоцитов (АТц). Однако, в диагностике остаются маловостребованными стандартные показатели агрегатограммы [3]. Скептицизм в отношении их прикладной значимости, во-первых, добавляет существование нескольких типов кривой агрегации тромбоцитов (моно- и двухфазных). Автоматический анализ кривых, прежде всего двухфазных, может исказить характеристику процессов развития агрегации, поскольку обобщает величину Slope (наклона) двух волн. Во-вторых, остаются недостаточно изученными механизмы модулирующего влияния адреналина на Тц. В-третьих, отсутствует согласованная позиция специалистов относительно значимости показателей кривой агрегации, характеризующих функциональную активность Тц. Априори считается, что величина (амплитуда) АТц является интегративным показателем, учитывающим роль молекулярных механизмов, в том числе участие внутриклеточных сигнальных систем в реализации агрегации, а, следовательно, анализ других показателей кривой АТц (агрегатограммы) не является обязательным [4]. При регистрации АТц автоматически рассчиты-

ваются: Lag phase (время начала реакции), Slope (наклон кривой), Area under curve (AUC, площадь под кривой). В литературе трактовка этих показателей скудная и сводится к констатации наличия активности Тц [5], что побуждает к обсуждению информативности основных показателей кривой агрегации, регистрируемой при турбидиметрическом исследовании Тц.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить показатели агрегатограммы, позволяющие учитывать риск индивидуальной адренореактивности организма в тромбозе.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены кривые агрегации, зарегистрированные у 34 здоровых волонтеров при стимуляции *in vitro* Тц адреналином (Sigma, США) в концентрации 5 мкМ, которая воспроизводила необратимую АТц. Обогащенную тромбоцитами плазму выделяли из периферической крови путем центрифугирования [6]. В пробе содержание Тц в 1 мкл поддерживали на уровне  $200\,000 \pm 20\,000$ . Исследование АТц проводили на агрегометре фирмы Chrono-Log (США). В исследование включены как моно-, так и двухфазные кривые, на которых четко прослеживалась точка перехода от первичной волны к вторичной. Анализ агрегатограммы включал автоматическое определение: амплитуды агрегации (Amplitude,%); наклона кривой (Slope, % мин) – обобщенный показатель для двух волн агрегации, который отражает скорость агрегации; площадь под кривой (AUC), которая является производным двух переменных – амплитуды и времени агрегации, представляется в виде условных единиц (U); а также Lag phase (сек) – задержка начала агрегации после введения агониста. Кроме этого дополнительно определяли величину угла  $\alpha$  (измеренную в градусах, °) и

рассчитывали тангенс угла  $\alpha$ , которые отражают начальный восходящий наклон кривой агрегации и скорость первой волны агрегации (Slope1, % в мин). Измерение величины угла  $\beta$  (в градусах $^\circ$ ) и расчет тангенса угла  $\beta$  позволяли оценить наклон и скорость вторичной волны агрегации (Slope2, % в мин). Статистическую обработку данных проводили в MedCalc. Точечная оценка величин, подлежащих анализу, проводилась путем расчета среднего арифметического признака ( $\bar{X}$ ) или ее медианы (Me) и соответствующей стандартной погрешности (m). Для качественных характеристик использовали показатель частоты признака (%) и его стандартную ошибку (m%). При анализе межгрупповых различий в случае двух групп применяли критерий Стьюдента (в случае нормального закона распределения), критерий Вилкоксона (в случае отличия закона распределения от нормального), метод углового преобразования Фишера (в случае сравнения частоты качественных признаков). Во всех случаях отличие считалось статистически значимым при уровне  $p < 0,05$ . Для выявления связи между признаками применяли методы корреляционного анализа: рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона R (в случае нормального закона распределения), или показатель ранговой корреляции Спирмена (в случае отличия закона распределения от нормального).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенный анализ кривых агрегации позволил отобрать для исследования 10 монофазных и 24 двухфазные агрегатограммы. Необходимо подчеркнуть, что в обоих случаях величина амплитуды АТц статистически значимо не отличалась (соответственно  $Me \pm m$ :  $51,0 \pm 1,2\%$  и  $49,0 \pm 0,8\%$ ;  $p = 0,321$ ) и находилась в пределах стандартной нормореактивности ( $50,0 \pm 5,0\%$ ). Для монофазных кривых величина Slope была значительно выше, чем для двухфазных (в 1,97 раза;  $p = 0,013$ ). Поскольку Slope отражает обобщенную скорость первичной и вторичной волн агрегации, то в контексте корректности использования этого показателя для оценки индивидуальной адренореактивности организма целесообразно сопоставить начальный восходящий наклон кривой агрегации (величину угла  $\alpha$ ) и скорость первичной волны агрегации ( $tg \alpha$ ) на обоих типах кривой. Для монофазных кривых были характерны более высокие значения угла  $\alpha$  ( $66,0 \pm 2,2^\circ$ ; 95% ДИ  $56-72^\circ$ ) по сравнению с двухфазной ( $45,0 \pm 4,0^\circ$ ; 95% ДИ  $35-50^\circ$ ;  $p < 0,001$ ); причем на монофазной кривой – значения  $tg \alpha$  больше, чем на двухфазной (в 2,25 раза;  $p < 0,001$ ). При изучении монофазной кри-

вой выявлена связь высокой силы между значениями Slope и  $tg \alpha$  ( $r = 0,795$ ;  $p = 0,006$ ), что свидетельствует о тождественности показателей, характеризующих скорость агрегации, рассчитанных автоматическим и мануальным методами. Таким образом, при регистрации монофазной кривой возможна оценка реактивности адренорецепторов Тц с использованием стандартных показателей агрегатограммы, однако данный тип кривой не позволяет дифференцированно исследовать каждую волну агрегации, что ограничивает возможность анализа механизмов индивидуальной адренореактивности в тесте in vitro.

В литературе отсутствует информация, касающаяся соотношения величины углов  $\alpha$  и  $\beta$  при двухфазном типе кривой, т.е. наклона кривой первичной и вторичной волны агрегации. Можно было предположить, что скорость развития вторичной волны (аутокринная стимуляция, этап «outside-inside») превышает таковую первичной волны (этап «inside – outside»). Однако, проведенный анализ 24 двухфазных агрегатограмм не выявил значимых различий величины углов  $\alpha$  и  $\beta$  и их производных –  $tg \alpha$  и  $tg \beta$ . Так, величина углов  $\alpha$  и  $\beta$  составила соответственно  $45,0 \pm 4,0^\circ$  и  $43,5 \pm 3,8^\circ$  ( $p = 0,901$ ), а  $tg$ , соответственно  $1,000 \pm 0,621$  и  $0,840 \pm 0,109$  ( $p = 0,566$ ). Обнаружена корреляционная связь между скоростью ( $tg \alpha$ ) и амплитудой первичной волны АТц ( $r = 0,756$ ;  $p < 0,01$ ), таковая отсутствует между скоростью ( $tg \beta$ ) и амплитудой вторичной волны агрегатограммы. Может сложиться впечатление, что амплитуда второй волны агрегации не зависит от скорости этапа «outside-inside». Чтобы убедиться в правомерности такого заключения необходимо было установить – во всех ли наблюдениях отсутствует статистически значимая разница скорости вторичной волны агрегации. Поскольку регистрация наклона кривой (Slope) не предусматривает отдельный анализ первичной и вторичной волн агрегации Тц целесообразно было прибегнуть к дополнительно определению величины углов  $\alpha$  и  $\beta$ .

Оказалось, что из 24 случаев регистрации двухфазной кривой на 10 (41,7%) агрегатограммах величина угла  $\alpha$  превышала таковую угла  $\beta$  в 1,88 раза ( $p = 0,005$ ), соответственно  $47,0 \pm 7,5^\circ$  и  $25,0 \pm 3,7^\circ$  (1-й тип кривой), а на 14 (58,3%) – значения угла  $\beta$  превышали таковые угла  $\alpha$  в 1,32 раза ( $p = 0,006$ ), соответственно  $51,4 \pm 3,1^\circ$  и  $38,9 \pm 2,9^\circ$  (2-й тип кривой). В этой связи имело смысл проанализировать соотношение значений углов  $\alpha$  и  $\beta$  на двухфазной кривой. При 1-м типе кривой величина угла  $\alpha$  превышала таковую при 2-м типе на 23,7% ( $p < 0,001$ ), а  $tg$  угла  $\alpha$  – на 43,2% ( $p < 0,001$ ; см. табл.). При 2-м типе кри-

Таблица.

Значения показателей кривой агрегации тромбоцитов при активации  $\alpha 2$ -адренорецепторов адреналином в дозе 5 мкМ

Показатель	Медиана	I квартиль	III квартиль	Ошибка медианы	Левый (95% ДИ)	Правый (95% ДИ)
1-й тип агрегатограммы (значения угла $\alpha >$ значений угла $\beta$ )						
Амплитуда агрегации (%)	50	48	50	0,892	45	51
Lag phase, сек	12,5	10,5	15,5	1,358	10	16
Slope, % мин)	32	31	33	1,521	30	37
Area under curve, U	135,9	131,4	155,1	13,0	131,4	197,5
tg $\alpha$	1,26	1,07	1,28	0,05	1,05	1,29
tg $\beta$	0,47	0,47	0,62	0,04	0,42	0,67
Отношение tg $\alpha/\beta$	2,701	1,726	2,894	0,267	1,567	3,071
2-й тип агрегатограммы (значения угла $\beta >$ значений угла $\alpha$ )						
Амплитуда агрегации (%)	48	47	55	1,769	47	55
Lag phase, сек	17 p = 0,045	15	18	1,472	14	19
Slope, % мин	30	29	31	2,944	29	31
Area under curve, U)	96,5 p = 0,002	80,3	123,4	13,3	80,3	123,4
tg $\alpha$	0,88 p = 0,021	0,70	1,19	0,104	0,7	1,19
tg $\beta$	1,28 p < 0,001	1,07	1,47	0,106	1,07	1,48
Отношение tg $\alpha/\beta$	0,729 p < 0,001	0,688	0,805	0,056	0,595	0,887

Примечание: различия значений показателей относительно таковых при 1-м типе агрегатограммы.

вой выявлена противоположная закономерность – величина угла  $\beta$  превышала таковую при 1-м типе в 2,08 раза (p < 0,001), а tg угла  $\beta$  – в 2,72 раза (p < 0,001). Следовательно, у здоровых индивидуумов возможны два варианта развития агрегационного ответа Тц при стимуляции адреналином. Первый – с более высокой скоростью первичной волны, которая обеспечивается связыванием  $\alpha 2$ -адренорецептора с агонистом и последующей активацией внутриклеточной сигнальной системы ассоциированной с Gz-белком (этап «inside – outside»). Для второго варианта характерна преобладающая скорость вторичной волны агрегации, в основе которой заложены механизмы аутокринной стимуляции тромбоцитов, усиливающие этап «inside – outside». Необходимо подчеркнуть, что при первом и втором типах агрегатограмм величина амплитуды АТц статистически значимо не отличалась.

Для корректного анализа двухфазной кривой необходимо выяснить – в равной ли степени зависит наклон кривой от значений углов первичной и вторичной волны? В сущности, равноцен-

ны ли этапы «inside – outside» и «outside – inside» внутриклеточных сигнальных путей в регуляции агрегации тромбоцитов? При 1-м типе агрегатограммы коэффициенты корреляции между величиной Slope и величиной углов  $\alpha$  и  $\beta$  составили, соответственно  $r\alpha = 0,641$  (p = 0,046) и  $r\beta = 0,169$  (p > 0,05), т.е. величина Slope в большей степени зависела от значений угла  $\alpha$ . Сопоставление величины tg $\alpha$  и tg $\beta$  подтверждает большую скорость первичной волны агрегации по сравнению со вторичной волной (p < 0,001). Сопряженность внутриклеточных сигнальных систем, участвующих в развитии первичной и вторичной волны агрегации, проявляется отношением углов  $\beta/\alpha$  меньше 1, а также наличием отрицательной корреляции между их значениями (r = - 0,817; p = 0,010). При 2-м типе кривой, коэффициенты корреляции между значением Slope и величиной углов  $\alpha$  и  $\beta$  составили соответственно:  $r\alpha = 0,295$  (p > 0,05) и  $r\beta = 0,737$  (p = 0,038), т.е. наклон кривой в большей степени зависел от значений угла  $\beta$ . Обращает на себя внимание высокая сопряженность внутриклеточ-

ных сигнальных систем – отношение значений углов  $\beta/\alpha$  превышало 1 (95% ДИ 1,057 – 2,261) и выявлялась сильная положительная связь между значениями углов  $\alpha$  и  $\beta$  ( $r = 0,735$ ;  $p = 0,030$ ). Обнаружены значимые отличия ( $p = 0,045$ ) продолжительности Lag phase между обоими типами двухфазной агрегатограммы. Коэффициент корреляции между амплитудой агрегации и длительностью Lag phase составил  $r_1 = 0,450$  ( $p = 0,01$ ) и  $r_2 = 0,172$  ( $p < 0,05$ ), соответственно при 1-м и 2-м типах агрегатограмм, что отражает зависимость величины агрегации от времени необходимого для инициации рецептор опосредованного каскада активации тромбоцитов. Установлено, что, при 1-м типе агрегатограммы площадь под кривой агрегации (AUC) была на 40,8% больше, чем при 2-м типе ( $p = 0,002$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Логично задаться вопросом – могут ли показатели агрегатограммы привести дополнительную значимую информацию о состоянии тромбоцитарного звена гемостаза и можно ли на этой основе приблизиться к оценке индивидуальной адренореактивности организма? Впервые, такую информацию несет тип кривой – моно- или двухфазная агрегатограмма. Монофазная кривая АТц характеризуется высокой скоростью и эффективной сопряженностью внутриклеточных сигнальных систем, включающих:  $\alpha_2$ -адренорецептор – Gz-белок сигнальной системы (этап «inside-outside»), тромбосановый рецептор – G-белок, пуриновые рецепторы – Gi- и Gq- белки сигнальных систем (этап «outside-inside»), что проявляется интерференцией первичной и вторичной волн агрегации. В основе данного феномена лежит синхронизация функционирования указанных сигнальных систем, направленная на потенцирование эффекта активации  $\alpha_2$ -адренорецептора благодаря механизмам аутокринной стимуляции Тц. Двухфазная кривая, вероятно, может трансформироваться в монофазную при высокой концентрации агонистов [7]. Об эффективности сопряженности внутриклеточных сигнальных систем Тц можно судить по AUC, отражающей максимальное количество Тц, принимающих участие в формировании агрегатов [8]. Во-вторых, Slope (наклон кривой) воспроизводит скорость агрегации Тц, причем данная величина отражает обобщенную (среднюю) скорость формирования агрегатов, что приемлемо для анализа монофазной кривой, но представляется спорным при исследовании двухфазной кривой. При автоматическом расчете Slope двухфазной кривой нивелируется скорость вторичной волны (величина угла  $\beta$  и  $\text{tg}\beta$ ), которая отображает ско-

рость механизмов «outside – inside». Раздельный расчет углов  $\alpha$  и  $\beta$  позволил выявить два типа двухфазных кривых, отличающихся наклоном первичной и вторичной волны, соответственно значениями углов  $\alpha$  и  $\beta$ . Причем 1-й тип кривой (значения угла  $\alpha$  больше угла  $\beta$ ) характеризуется более высокой скоростью механизмов, обеспечивающих инициацию агрегации (этап «inside – outside»), тогда как 2-й тип (значения угла  $\beta$  больше угла  $\alpha$ ) – более высокой скоростью механизмов амплификации внутриклеточного сигнала с  $\alpha_2$ -адренорецептора, благодаря аутокринной стимуляции тромбоцитов (этап «outside-inside»). Можно констатировать, что при 1-м типе кривой, скорость первичной волны (этап «inside – outside») превышает скорость вторичной волны (этап «outside-inside»). Вероятно, степень вовлечения механизмов аутокринной стимуляции определяется потребностями этапа «inside – outside». Таким образом, 1-й тип кривой по сравнению со 2-м типом характеризуется более высокой скоростью первичной волны АТц, меньшей задержкой начала агрегации и большим количеством образованных агрегатов. Для 2-го типа кривой является характерным более высокая скорость вторичной волны. В третьих, диагностические возможности показателя Lag phase кривой агрегации связывают с оценкой функциональной активности рецепторов, поскольку регистрируется время необходимое для их активации. При этом крайне скучно обсуждается трактовка значений этого показателя. В литературе описывается зависимость секреции адгезивных молекул Тц от продолжительности Lag phase [9]; Lag phase может рассматриваться как информативный индикатор нарушения тромбогенеза [10]. Поскольку характеристики  $\alpha_2$ -адренорецепторов (количество, аффинитет) клеток-мишеней могут носить индивидуальный характер, то необходимо было ответить на вопрос – отличается ли Lag phase агрегатограммы при стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецепторов у здоровых волонтеров? Установлено, что при монофазной кривой и 1-м типе двухфазной кривой регистрируется одинаковое время задержки агрегации (длительность активации  $\alpha_2$ -адренорецепторов), тогда как при 2-м типе кривой отмечается увеличение этого показателя. В сущности, у здоровых индивидуумов отмечается вариабельность Lag phase, что подтверждает наличие индивидуальной реактивности  $\alpha_2$ -адренорецепторов. Логично предположить, что длительность Lag phase связана с количеством экспрессированных на плазмолемме рецепторов и их аффинитетом, а значит со средней скоростью агрегации и скоростью первичной волны агрегатограммы. Поскольку Slope

учитывает среднюю скорость агрегации, то применительно к двухфазной кривой целесообразно было проанализировать связь Lag phase со скоростью первичной волны ( $tg\alpha$ ). При 1-м типе кривой обнаружена высокой силы связь между этими показателями ( $r = -0,785$ ;  $p = 0,010$ ) и средней силы при 2-м типе двухфазной кривой ( $r = -0,680$ ;  $p = 0,042$ ).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ показателей, характеризующих кривую агрегации позволяет получить дополнительную информацию об индивидуальной адренореактивности организма, что может способствовать конкретизации факторов риска тромбогенеза.

*Э.Ф. Баринов, М.М. Лам, О.Л. Максименко, Т.И. Фабер, Н.О. Реутова*

*ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького», Донецк*

### ВОЗМОЖНОСТИ АНАЛИЗА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ АДРЕНОРЕАКТИВНОСТИ ОРГАНИЗМА ДЛЯ ОЦЕНКИ ФАКТОРОВ РИСКА ТРОМБОГЕНЕЗА

Цель исследования – определить показатели агрегатограммы, позволяющие учитывать риск индивидуальной адренореактивности организма в тромбогенезе. Методы. В исследование включены кривые агрегации, зарегистрированные у 34 здоровых волонтеров при стимуляции тромбоцитов *in vitro* адреналином в концентрации 5 мкМ, которая вызывала максимальную амплитуду агрегации на уровне  $50 \pm 5\%$ . Регистрация процесса агрегации осуществлялась на агрегометре фирмы Chrono-Log (США). Анализу подвергнуто два типа агрегатограмм – моно- и двухфазные, на которых автоматически определялись следующие параметры: Amplitude (максимальная амплитуда агрегации), Lag phase (задержка начала агрегации), Slope (скорость агрегации) и Area under curve (AUC, площадь под кривой). Дополнительно рассчитывались значения первичной и вторичной волны двухфазных кривых. У всех волонтеров в тесте *in vitro* воспроизводилась норма адренореактивности. Монофаз-

ная кривая характеризовалась интерференцией первичной и вторичной волны агрегации, высокими значениями Slope и AUC. При регистрации двухфазной кривой выявлялось два типа кривых, отличающихся скоростью первичной и вторичной волны агрегации. При 1-м типе двухфазной кривой по сравнению со 2-м типом выявлены: высокая скорость первичной волны агрегации (Slope1), меньшая задержка агрегации (Lag phase) и более высокие значения AUC. Отличительной особенностью 2-го типа кривой являлась высокая скорость вторичной волны агрегации (Slope2). Вывод. Анализ показателей, характеризующих кривую агрегации тромбоцитов, позволяет получить дополнительную информацию об индивидуальной адренореактивности организма, что может способствовать конкретизации факторов риска тромбогенеза.

**Ключевые слова:**  $\alpha_2$ -адренорецепторы тромбоцитов, характеристики кривой агрегации тромбоцитов, адренореактивность организма.

*E.F. Barinov, M.M. Lam, O.L. Maksimenko, T.I. Faber, N.O. Reutova*

*SEI HPE «M. Gorky Donetsk National Medical University», Donetsk*

### POSSIBILITIES OF THE ANALYSIS OF THE INDIVIDUAL ADRENOREACTIVITY OF THE BODY FOR EVALUATING THE THROMBOGENESIS RISK FACTORS

The aim of the study was to determine the parameters of the aggregogram, allowing to take into account the risk of individual adrenoreactivity of the body in thrombogenesis. Methods. The study included aggregation curves, which were registered in 34 healthy volunteers when stimulating platelets *in vitro* with adrenaline at a concentration of 5  $\mu$ M, which caused a maximum aggregation amplitude of  $50 \pm 5\%$ . Registration of the aggregation process was carried out on Chrono-Log aggregometer (USA). Two types of aggregation patterns were analyzed: mono- and two-phase; the following parameters were automatically determined: Amplitude (maximum aggregation amplitude), Lag phase (delay of aggregation beginning), Slope (aggregation rate), and Area under curve (AUC). In addition, the values of the primary and secondary waves of two-phase curves were calculated. All volunteers in test *in vitro* produced normal adrenoreactivity. The monophasic curve was charac-

terized by interference of primary and secondary aggregation waves, high values of Slope and AUC. During registration of two-phase curve, two types of curves were detected that differed in rate from primary and secondary aggregation waves. At the first type of two-phase curve in comparison with the second type, high primary aggregation wave rate (Slope1), lower Lag phase delay and higher AUC values were detected. A distinctive feature of the second type of curve was the high rate of secondary aggregation wave (Slope2). Conclusion. The analysis of indicators, which characterized platelet aggregation curve allows to get additional information about individual adrenoreactivity of the body, which can contribute to the concretization of thrombogenesis risk factors.

**Key words:**  $\alpha_2$ -adrenoreceptors of platelets, characteristics of platelet aggregation curve, adrenoreactivity of the body.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lim H.S., Willoughby S.R., Schultz C., et al. Thrombogenic risk in patients with atrial fibrillation: importance of comorbid conditions and intracardiac changes. *JACC Clin Electrophysiol.* 2015; 1(3):210-217.
2. Peace A.J., Mangiacapra F., Bailleul E., et al.  $\alpha$ 2A-adrenergic receptor polymorphism potentiates platelet reactivity in patients with stable coronary artery disease carrying the cytochrome P450 2C19\*2 genetic variant. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34(6):1314-1319.
3. Cattaneo M., Hayward C.P., Moffat K.A., et al. Results of a worldwide survey on the assessment of platelet function by light transmission aggregometry: a report from the platelet physiology subcommittee of the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost.* 2009; 7(6):1029.
4. Paniccia R., Piora R., Liotta A.A., Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag.* 2015; 11:133-148.
5. Gungör Z.B., Ekmekçi H., Tüten A., et al. Is there any relationship between adipocytokines and angiogenesis factors to address endothelial dysfunction and platelet aggregation in untreated patients with preeclampsia? *Arch Gynecol Obstet.* 2017; 296 (3): 495-502.
6. Melanie McCabe White, Lisa K. Jennings. *Platelet Protocols: Research and Clinical Laboratory Procedures*: Academic Press; 1999; 116.
7. Jae-Lim Choi, Shuhua Li, Jin-Yeong Han. *Platelet Function Tests: A Review of Progresses in Clinical Application*. Hindawi Publishing Corporation, BioMed Research International. 2014; (2014), Article ID 456569, 7 pages.
8. Tokuda H., Kuroyanagi G., Tsujimoto M., Enomoto Y., Matsushima-Nishiwaki R., Onuma T. et al. Release of phosphorylated hsp27 (hspb1) from platelets is accompanied with the acceleration of aggregation in diabetic patients. *PLoS One.* 2015;10(6): e0128977.
9. Christersson C., Lindahl B., Siegbahn A. The composition and daily variation of microparticles in whole blood in stable coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest.* 2016; 76(1): 25-32.
10. Hines P.C., Gao X., White J.C., et al. A novel role of h2-calponin in regulating whole blood thrombosis and platelet adhesion during physiologic flow. *Physiol Rep.* 2014;2(12). pii: e12228.