

УДК 57.043

ПОСТЛУЧЕВЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ В КРОВИ ТРОМБОЦИТОВ И ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

О. Г. ПАРХИМОВИЧ¹⁾, О. Д. БИЧАН²⁾, К. Я. БУЛАНОВА¹⁾

¹⁾Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,

Белорусский государственный университет,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

²⁾Белорусский государственный университет,
пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Действие ионизирующего излучения на организм приводит к развитию различных патологических нарушений в органах и тканях. На первом месте находятся патологии сердечно-сосудистой системы. Им предшествуют нарушения в системе крови. Существуют общие закономерности в изменениях качественного и количественного состава периферической крови под воздействием ионизирующих излучений. Среди клеточных элементов ведущую роль в изменении гемодинамических свойств крови играют тромбоциты и их взаимодействие с эндотелиальными клетками сосудов. Ангиотрофическая функция тромбоцитов может нарушаться вследствие изменения их количества и/или функциональной активности. После облучения в дозе 1 Гр в крови крыс наблюдались фазовые изменения количества тромбоцитов в течение периода реабилитации. На 3-и сутки постлучевого периода концентрация тромбоцитов и величина тромбокриты соответствовала показателям контрольной группы. На 10-е сутки уменьшались количество тромбоцитов и величина тромбокриты у облученных крыс. В отдаленные сроки после облучения (30 и 90-е сутки) данные показатели восстанавливались до нормальных значений. Ширина распределения тромбоцитов и их средний

Образец цитирования:

Пархимович О.Г., Бичан О.Д., Буланова К.Я. Постлучевые изменения содержания в крови тромбоцитов и их функциональной активности. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2022;2:59–65.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2022-2-59-65>

For citation:

Parkhimovich OG, Bichan OD, Bulanova KYa. Post-radiation changes in the content of platelets in the blood and their functional activity. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2022;2:59–65. Russian.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2022-2-59-65>

Авторы:

Ольга Георгиевна Пархимович – преподаватель кафедры экологической химии и биохимии.

Ольга Дмитриевна Бичан – заведующий учебной лабораторией физического факультета.

Клавдия Яковлевна Буланова – кандидат биологических наук; доцент кафедры экологической химии и биохимии.

Authors:

Olga G. Parkhimovich, lecturer at the department of environmental chemistry and biochemistry.

olga_parkhimovich@mail.ru

Olga D. Bichan, head of the educational laboratory at the faculty of physics.

bichan@bsu.by

Klavdiya Ya. Bulanova, PhD (biology); associate professor at the department of environmental chemistry and biochemistry.

bulanova_home@tut.by

объем не изменялись во все исследованные сроки постлучевого периода. После облучения в дозе 1 Гр отмечены изменения агрегационной способности тромбоцитов при внесении индуктора агрегации АДФ в низкой концентрации ($2,4 \pm 10^{-6} \text{M}$). На 3-и и 30-е сутки наблюдалось разделение облученной выборки на две группы: особи со степенью реактивности тромбоцитов, соответствующей контролю, и с высокой реактивностью. На 10-е сутки среди тромбоцитов облученных особей превалировала тенденция к сдвигу показателей степени и скорости агрегации в сторону сниженной агрегационной активности. В отдаленные сроки (90-е сутки) постлучевого периода у облученных животных отмечено удлинение периода изменения формы тромбоцитов и ослабление реакции на индукторы агрегации, что способствует риску геморрагий. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что в ближайшие сроки после облучения превалирует тенденция к повышенному тромбообразованию и развитию ишемических повреждений, а в отдаленные сроки (90-е сутки) – агрегационная активность снижается и повышается риск кровотечений.

Ключевые слова: тромбоциты; облучение; кальциевый обмен; агрегация; АДФ.

POST-RADIATION CHANGES IN THE CONTENT OF PLATELETS IN THE BLOOD AND THEIR FUNCTIONAL ACTIVITY

O. G. PARKHIMOVICH^a, O. D. BICHAN^b, K. YA. BULANOVA^a

^aInternational Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University,
23/1 Daŭhabrodskaja Street, Minsk 220070, Belarus

^aBelarusian State University,

4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: O. G. Parkhimovich (olga_parkhimovich@mail.ru)

The action of ionizing radiation on the body leads to the development of various pathological disorders in organs and tissues. In the first place are pathologies of the cardiovascular system. They are preceded by disorders in the blood system. There are general patterns in changes in the qualitative and quantitative composition of peripheral blood under the influence of ionizing radiation. Among cellular elements, platelets and their interaction with vascular endothelial cells play a leading role in changing the hemodynamic properties of blood. The angiotrophic function of platelets may be impaired due to changes in their number and/or functional activity. After irradiation at a dose of 1 Gy, phase changes in the number of platelets were observed in the blood of rats during the rehabilitation period. On the 3rd day of the post-radiation period, the concentration of platelets and the value of thrombocrit corresponded to those of the control group. On the 10th day, the number of platelets and the value of thrombocrit decreased in irradiated rats. In the long term after irradiation (30s and 90s), these indicators were restored to normal values. The distribution width of platelets and their average volume did not change during all the studied periods of the post-radiation period. After irradiation at a dose of 1 Gy, changes in the aggregation ability of platelets were noted when the aggregation inducer ADP was introduced at a low concentration ($2.4 \pm 10^{-6} \text{M}$). On the 3rd and 30th days, the irradiated sample was divided into two groups: individuals with a degree of platelet reactivity corresponding to the control, and with high reactivity. On the 10th day, among the platelets of irradiated individuals, a tendency to shift the indicators of the degree and rate of aggregation towards reduced aggregation activity prevails. In the long term (90th day) of the post-radiation period, the irradiated animals showed a prolongation of the period of change in the shape of platelets and a weakening of the reaction to aggregation inducers, which contributes to hemorrhagic manifestations. Thus, the data obtained indicate that in the short term after irradiation, the tendency to increased thrombus formation and the development of ischemic damage prevails, and in the long term (day 90), aggregation activity decreases and the risk of bleeding increases.

Keywords: platelets; irradiation; calcium metabolism; aggregation; ADP.

Введение

Зарождение и существование жизни на Земле неразрывно связано с наличием такого экологического фактора, как радиационный фон. Естественный фон ионизирующего излучения Земли обусловлен несколькими источниками: космическим излучением и излучением естественно распределенных природных радиоактивных веществ в горных породах, почвах и атмосфере. Природный радиационный фон Земли является не только неотъемлемым, но и необходимым экологическим фактором, способствующим осуществлению нормального развития живых организмов и проявлению их жизнедеятельности. Проведенные в последние годы опыты с растениями и животными показали, что изоляция организмов от естественной радиации вызывает замедление самых фундаментальных жизненных процессов. Отмечаются положительные эффекты воздействия малых доз ионизирующего излучения на различные организмы.

Научно-технический прогресс на современном этапе развития человечества привел к ряду изменений условий существования: помимо естественного радиоактивного фона на живые организмы действует

техногенные источники радиации (специфические устройства и оборудование, медицинские и бытовые приборы, радионуклиды, попавшие в окружающую среду в результате проведенных ядерных испытаний, крупномасштабных аварий на атомных производствах и станциях). Прямое и опосредованное действие этих радиационных факторов на человека привело к повышению риска развития ряда патологий, в первую очередь, сердечно-сосудистых [1].

Известно, что патологическим изменениям в сердце и сосудах предшествуют нарушения в системе крови вследствие ее высокой чувствительности к действию факторов внешней среды. Среди клеточных элементов ведущую роль в изменении гемодинамических свойств крови и функционального состояния эндотелия играют тромбоциты. Установлена активная роль тромбоцитов по отношению к эндотелиальным клеткам – эндотелиально-поддерживающая (ангиотрофическая) функция. Она реализуется за счет адсорбции, инкорпорации или эндоцитоза эндотелиальными клетками цитоплазмы тромбоцитов и ряда биологически активных молекул тромбоцитов (серотонина, тромбоцитарного фактора 3, трансформирующего фактора роста, фактора роста эндотелия сосудов, фибробластов, инсулиноподобного фактора). Эти взаимодействия между эндотелием кровеносных сосудов и тромбоцитами в настоящее время признаны одним из перспективнейших направлений в изучении как физиологии, так и патологии системы гемостаза, в том числе постлучевой [2].

Многочисленные клинические наблюдения показали, что в основе нарушений ангиотрофической функции тромбоцитов лежат две причины. Первая – постлучевое снижение концентрации тромбоцитов в крови, приводящее к нарушению функционирования сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза, клинически проявляющегося в кровоточивости. В связи с этим переливание тромбоцитов входит в перечень рекомендованных терапевтических средств по лечению лучевой болезни у человека. Вторая причина выявлена в результате обнаружения [3] совершенно нового явления в патогенезе лучевого поражения – геморрагического синдрома, обусловленного повышением функциональной активности тромбоцитов на ранних стадиях (1–3-и сутки) развития лучевой болезни.

Цель настоящего исследования – изучение особенностей изменения количества тромбоцитов и их агрегационной способности в различные сроки после облучения экспериментальных животных в дозе 1 Гр.

Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись тромбоциты крови облученных и необлученных беспородных белых крыс зрелого возраста (6–7 мес., весом 250 ± 30 г), содержащихся на стандартном рационе питания вивария. Объемы выборок показателей в экспериментальных и контрольных группах сравнения составляли $n = 15$ (в опытах) и $n = 18$ (в контролях).

Животных облучали на установке ИГУР γ -квантами ^{137}Cs в дозе 1 Гр (мощность дозы 0,62 Гр/мин, в течение 1,61 мин) однократно и равномерно. Контролем служили животные соответствующего возраста. Облучение животных проведено на базе ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси».

Перед забором крови крыс наркотизировали тиопенталом натрия (из расчета 45 мг/кг веса животного). Кровь брали пункцией из левого желудочка (короткой иглой с достаточно большим диаметром и силиконовой трубкой на тупом конце, предварительно промытых раствором ЭДТА (15 %)). Кровь стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия (9:1, объем : объем). Для исключения контактной активации тромбоцитов во всех экспериментах использовалась только пластмассовая или силиконовая посуда (кюветы, пробирки, пипетки).

Количество тромбоцитов определяли с использованием гематологического анализатора фирмы *Technicon H-1*, принцип работы которого основан на проточной цитометрии.

Агрегационную способность тромбоцитов [4] определяли после получения обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) в результате центрифугирования крови при 200 g в течение 5 мин при комнатной температуре, а также бестромбоцитарной плазмы после центрифугирования ОТП при 650 g в течение 15 мин. Количество тромбоцитов в ОТП довели до 2 ± 10^8 кл/мл добавлением бестромбоцитарной плазмы. Агрегацию тромбоцитов исследовали с применением компьютеризированного анализатора агрегации тромбоцитов AP 2110 научно-производственного центра «СОЛАР» (Минск, Беларусь). В качестве индуктора агрегации использовали АДФ в концентрации 10^{-6} – 10^{-3} М.

Статистические методы обработки данных. Анализ и статистическая обработка данных проводилась на вычислительном комплексе *IBM-PC/AT*. С использованием программного обеспечения *GraphPad Prism 9* (Сан-Диего, Калифорния, США). Достоверность различий между средними значениями изучаемых параметров оценивалась по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Одним из перспективнейших направлений сегодняшнего дня в изучении физиологии и патологии системы гемостаза при патологических и постлучевых состояниях является исследование

гемостатических взаимодействий между эндотелием кровеносных сосудов и тромбоцитами. В норме это взаимодействие играет определяющую роль в поддержании резистентности стенки сосудов, определении и функциональных свойств тромбоцитов и сохранении крови в сосудистом русле в жидком состоянии. Тромбоциты обладают способностью проявлять ангиотрофическую функцию – передавать эндотелиальным клеткам тромбоцитарный фактор 3 и серотонин, либо вследствие адсорбции и включения эндотелиальными клетками материала, выделенного из тромбоцитов, либо за счет инкорпорации (фагоцитоза) цитоплазмы тромбоцитов в эндотелий. Многочисленными исследованиями в эксперименте и клиническими наблюдениями установлены две важнейшие причины нарушений ангиотрофической функции тромбоцитов: 1) снижение концентрации тромбоцитов в крови; 2) повышение функциональной активности тромбоцитов и формирования микроагрегатов [5].

Обнаружено, что после облучения животных в дозе 1 Гр концентрация тромбоцитов в крови в ближайшие сроки (3-и сутки) не отличалась от таких же показателей в необлученном контроле (таблица). Эти данные соответствуют существующим представлениям о достаточной устойчивости зрелых тромбоцитов как специализированных форменных элементов крови к действию ионизирующей радиации [6].

Наблюдаемое на 10-е сутки после острого облучения снижение числа тромбоцитов и величины тромбокрит может быть результатом нарушения процессов костномозгового кроветворения, поскольку время жизни тромбоцитов в кровяном русле крыс составляет 4–5 суток. К 30-ым суткам обнаруживается полное восстановление числа тромбоцитов, что соответствует фазовому характеру постлучевых изменений многих параметров во времени. Эти параметры оставались стабильными и на 90-е сутки.

В тромбоцитарной популяции среди основной массы зрелых, нормально функционирующих клеток, способных к адгезии и агрегации, присутствуют и другие формы: клетки-гиганты, по размерам значительно превышающие нормальные тромбоциты; большие кровяные пластинки, кровяные пластинки малого размера, которые уже утратили свои функциональные способности [7]. Выявлено, что ширина распределения тромбоцитов и их средний объем не изменялись во все сроки исследования постлучевого периода.

Динамика показателей гемостаза после острого γ -облучения крыс в дозе 1 Гр

Dynamics of hemostasis indices after acute irradiation of rats at a dose of 1Gy

Показатели гемостаза	Контроль n = 18	Сроки после облучения			
		3-и сутки n = 15	10-е сутки n = 15	30-е сутки n = 15	90-е сутки n = 15
Тромбоциты, $10^3/\mu\text{l}$	922 \pm 40,9	894 \pm 50,84	723 \pm 21,2*	880 \pm 50,2	860 \pm 40,5
Средний объем тромбоцитов, фл	5,60 \pm 0,19	5,30 \pm 0,21	5,72 \pm 0,14	5,80 \pm 0,27	5,31 \pm 0,10
Ширина распределения тромбоцитов, %	4,91 \pm 0,65	5,01 \pm 1,23	5,08 \pm 0,94	4,99 \pm 0,75	5,02 \pm 0,81
Тромбокрит, %	0,50 \pm 0,03	0,49 \pm 0,04	0,42 \pm 0,02*	0,50 \pm 0,01	0,47 \pm 0,04

Примечание. *различия достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$).

Тромбоциты обладают набором рецепторов адгезии и утонченным регуляторным механизмом для того, чтобы агрегировать только при четко определенном наборе стимулов. Активация тромбоцитов вызывается различными стимуляторами, включая физиологический инициатор агрегации – АДФ. Высокую реактивность тромбоцитов к АДФ принято рассматривать как фактор риска развития ишемических событий, а низкую – как фактор риска кровотечений.

Тромбоциты необлученных и облученных животных (3-и сутки) при использовании в экспериментах *in vitro* АДФ в концентрации $2,4 \pm 10^{-5}$ М отвечали необратимой агрегацией как в контроле, так и в опыте (рис. 1).

Исследования агрегатограмм тромбоцитов при активации АДФ в концентрации $2,4 \cdot 10^{-6}$ М выявили индивидуальные особенности их реагирования в ближайшие и отдаленные сроки. На АДФ в концентрации $2,4 \cdot 10^{-6}$ М тромбоциты некоторой части облученных животных реагировали сходно с тромбоцитами контрольной группы – стимулированием первичной фазы агрегации с последующей дезагрегацией, а у меньшей части облученных животных тромбоциты проявляли необратимую реакцию. Таким образом, у тромбоцитов необлученных крыс и у части экспериментальных крыс отсутствовала вторая фаза агрегации, по этой причине агрегация была обратимой. Известно, что вторая фаза агрегации связана с реакцией высвобождения. Реакция высвобождения необходима для формирования тромбоцитарной пробки, спазма сосудов и ускорения процесса свертывания крови. Вторая фаза агрегации у тромбоцитов крыс не выявляется, возможно, по причине сниженного участия релизинг-факторов. Таким образом, особенности АДФ-зависимой регуляции активности тромбоцитов крыс при указанных концентрациях

АДФ предоставляют возможность изучения мембранных механизмов индукции первой фазы агрегации и процессов дезагрегации (рис. 1).

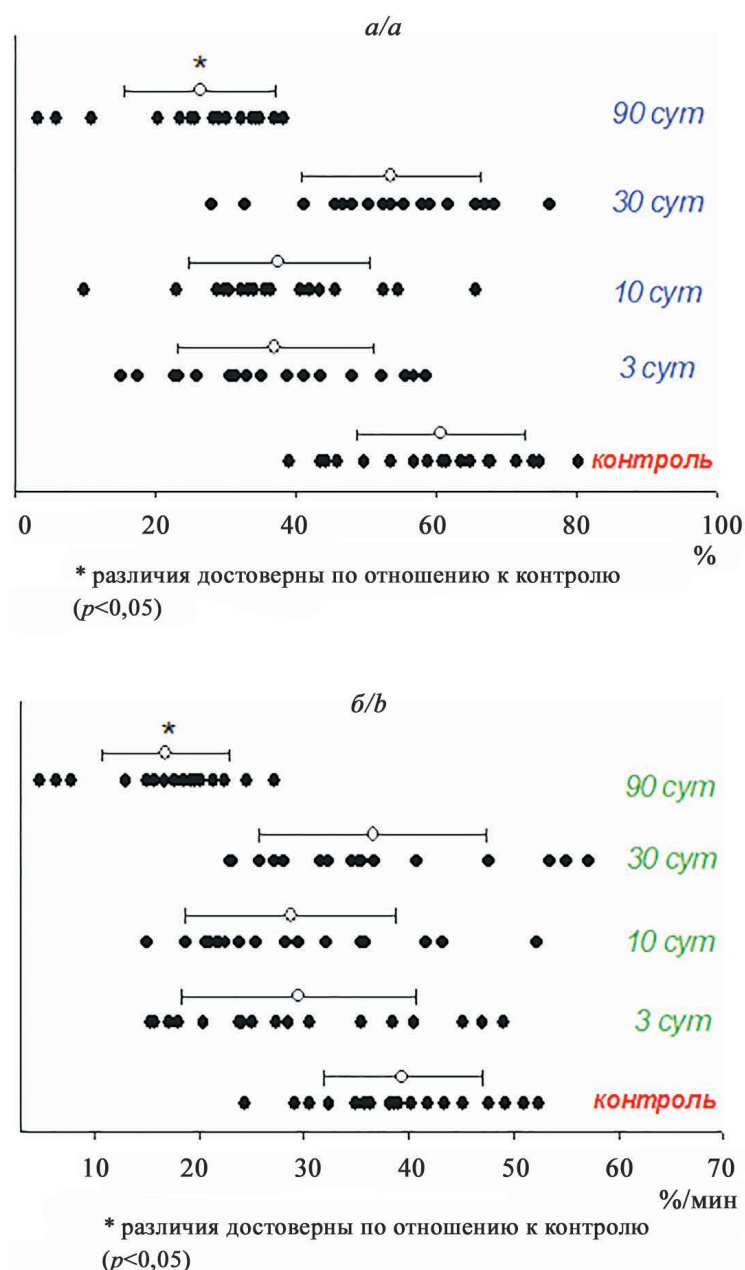


Рис. 1. Степень (а) и скорость (б) обратимой агрегации тромбоцитов крыс при стимуляции АДФ ($2,4 \cdot 10^{-5}$ М) после острого облучения в дозе 1 Гр

Fig. 1. Degree (a) and rate (b) of reversible aggregation of platelets in rats upon stimulation with ADP ($2,4 \cdot 10^{-5}$ M) after acute irradiation at a dose of 1 Gy

Сравнительный анализ показателей степени и скорости агрегации тромбоцитов на низкие концентрации АДФ ($2,4 \cdot 10^{-6}$ М) выявил причины этих различий. Показано, что на 3-и сутки происходит не только значительное расширение ответных реакций на стимуляцию низкими концентрациями АДФ, но и разделение выборки облученных животных на группы с разной степенью реактивности тромбоцитов. Показатели степени и скорости агрегации тромбоцитов одной группы облученных животных не отличались от контроля, тогда как во второй – эти показатели увеличивались более чем в 2 раза. Полученные данные указывают, что при таких поглощенных дозах (1 Гр) проявление постлучевых эффектов у особей данного вида в значительной степени зависит от индивидуальной чувствительности организма. При лучевой болезни, вызванной действием высоких доз, на 1–3-и сутки абсолютно у всех пациентов происходит увеличение индекса спонтанной внутрисосудистой агрегации [8].

На 10-е сутки среди тромбоцитов облученных особей превалирует тенденция к сдвигу показателей степени и скорости агрегации в сторону сниженной агрегационной активности (рис. 2). На 30-е сутки реакция тромбоцитов большинства облученных животных не отличается от таковой контроля. Однако в общей выборке животных снова появляется небольшое число особей (17,6 %) с повышенной степенью агрегации.

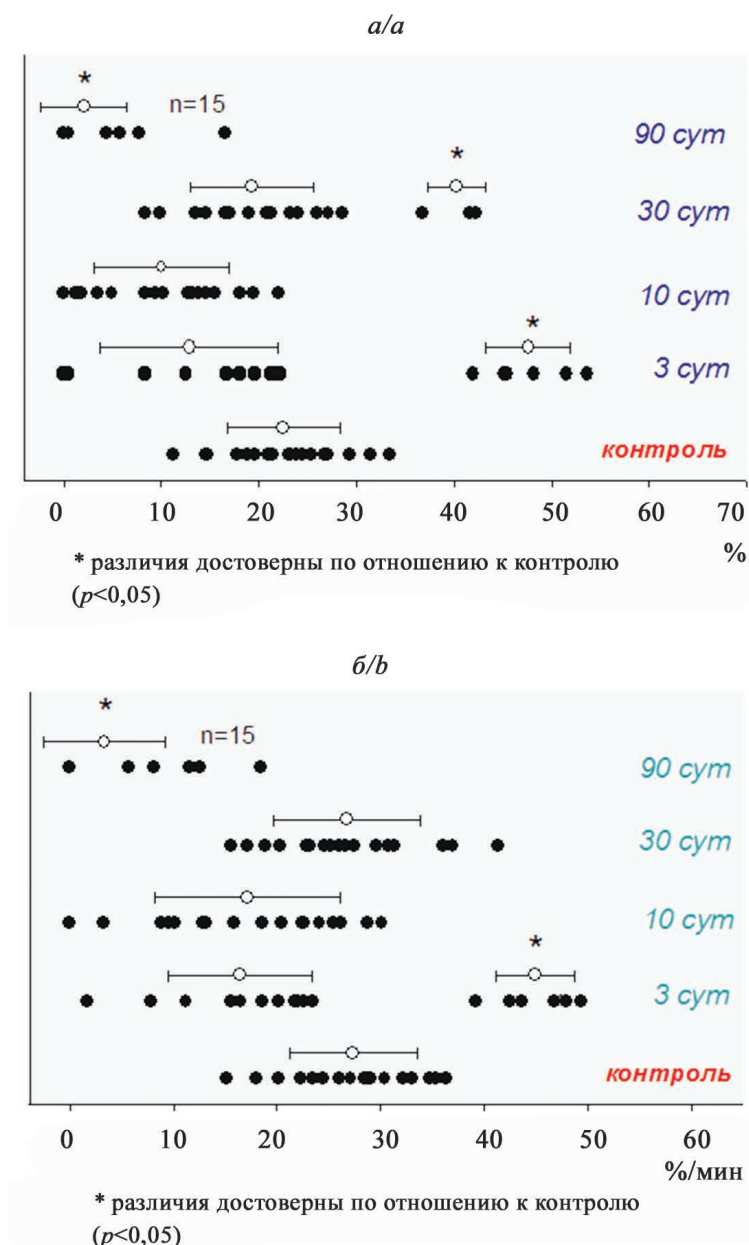


Рис. 2. Степень (а) и скорость (б) обратимой агрегации тромбоцитов крыс при стимуляции АДФ ($2,4 \cdot 10^{-6}$ М) после острого облучения в дозе 1 Гр

Fig. 2. Degree (a) and rate (b) of reversible aggregation of platelets in rats upon stimulation with ADP ($2,4 \cdot 10^{-6}$ M) after acute irradiation at a dose of 1 Gy

Таким образом, в результате проведенных исследований удалось обнаружить второй период повышенного риска возникновения ишемических состояний через месяц после облучения.

На 90-е сутки пострadiационного периода у большинства облученных животных при внесении АДФ в концентрации $2,4 \pm 10^{-6}$ М на агрегатограммах выявляется лишь увеличение лаг-периода, характеризующего время изменения формы тромбоцитов с образованием псевдоподий, способствующих инициации агрегации, а также ослабление реакции на индукторы агрегации.

Таким образом, установлено, что ионизирующее излучение в дозе 1 Гр способно вызвать разнонаправленные изменения функциональной активности тромбоцитов в зависимости от индивидуальных особенностей организмов и сроков реабилитации. В ближайший период (3, 10, 30-е сутки)

у части животных они имеют фазовый характер, когда отмечаются всплески повышенной активности на 3-и и 30-е сутки, что сопряжено с риском тромбообразования.

Следует отметить, что нахождение тромбоцитов в агрегированном состоянии не позволяет выполнять ангиотрофическую функцию, но способно стимулировать распластывание тромбоцитов на поверхности эндотелия, что приводит к образованию базисного слоя, на котором формируется тромбоцитарный агрегат, часто полностью закрывающий просвет сосуда и увеличивающий риск ишемических поражений [9].

В отдаленные сроки постлучевого периода (90-е сутки) происходит снижение реактивности кровяных пластинок, увеличивая риск кровоточивости.

Заключение

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что после острого γ -облучения в дозе 1 Гр изменения агрегационной способности тромбоцитов способствуют формированию различных патологических процессов. Это зависит от сроков реабилитации: на 3-и и 30-е сутки после облучения животных увеличивается риск тромбообразования и ишемий у части особей, а к девяностым суткам – риск геморрагий практически у всех животных.

Библиографические ссылки

1. Кузин АМ. *Природный радиоактивный фон и его значение для биосферы Земли*. Москва: Наука; 1991. 115 с.
2. Кутафина НВ, Завалишина СЮ. Механизмы функционирования сосудисто-тромбоцитарного гомеостаза. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия Экология и безопасность жизнедеятельности*. 2012;1:30–37.
3. Gavrilov IY, Pozin EYa. Platelet aggregation: the use of optical density fluctuations to study microaggregate formation in platelet suspension. *Thromb Res*. 1989;54(3):215–23.
4. Зупанец ИА, Черных ВП, Усенко ВА. *Клиническая лабораторная диагностика: методы исследования*. Харьков: Золотые страницы; 2005. 200 с.
5. Козловский ВИ, Ковтун ОМ, Сероухова ОП. Методы исследования и клиническое значение агрегации тромбоцитов. Фокус на спонтанную агрегацию. *Вестник ВГМУ*. 2013;12(4):79–91.
6. Rasheed H, Tirmizi AH. Calcium signaling in human platelet aggregation mediated by platelet activating factor and calcium ionophore. *Journal of biological sciences*. 2004;4(2):117–121.
7. Абдулкадыров КМ, Андреева ТА, Балашова ВА. *Гематология: новейший справочник*. Москва: Эксмо; Санкт-Петербург: Сова; 2004. 928 с.
8. Ярмоненко СП, Вайсон АА. *Радиобиология человека и животных*. Москва: Высшая школа; 2004. 549 с.
9. Maxwell MJ. Identification of a 2-stage platelet aggregation process mediating shear-dependent thrombus formation. *Blood*. 2007;109:566–576.

References

1. Kuzin AM. *Prirodnyy radioaktivnyy fon i yego znachenie dlya biosfery Zemli* [Natural radioactive background and its significance for the Earth's biosphere]. Moscow: Nauka; 1991. 115 p. Russian.
2. Kutafina NV, Zavalishina SYu. *Mekhanizmy funktsionirovaniya sosudisto-trombotsitarnogo gomeostaza* [Functioning mechanisms of vascular-platelet homeostasis]. *Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov. Seriya Ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti*. 2012;1:30–37. Russian.
3. Gavrilov IY, Pozin EYa. Platelet aggregation: the use of optical density fluctuations to study microaggregate formation in platelet suspension. *Thromb Res*. 1989;54(3):215–23.
4. Zupanets IA, Chernykh VP, Usenko VA. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: metody issledovaniya* [Clinical laboratory diagnostics: research methods.]. Kharkov: Zolotyie stranitsy; 2005. 200 p. Russian.
5. Kozlovsky VI, Kovtun OM, Seroukhova OP. *Metody issledovaniya i klinicheskoye znachenie agregatsii trombotsitov. Fokus na spontannuyu agregatsiyu* [Research methods and clinical significance of platelet aggregation. Focus on spontaneous aggregation]. *Vestnik VGMU*. 2013;12(4):79–91. Russian.
6. Rasheed H, Tirmizi AH. Calcium signaling in human platelet aggregation mediated by platelet activating factor and calcium ionophore. *Journal of biological sciences*. 2004;4(2):117–121.
7. Abdulkadyrov KM, Andreyeva TA, Balashova VA. *Gematologiya: noveyshey spravochnik* [Hematology: the latest handbook]. Moscow: Eksmo; Saint Petersburg: Sova; 2004. 928 p. Russian.
8. Yarmonenko SP, Vayson AA. *Radiobiology of man and animals*. Moscow: Higher school; 2004. 549 p. Russian.
9. Maxwell MJ. Identification of a 2-stage platelet aggregation process mediating shear-dependent thrombus formation. *Blood*. 2007;109:566–576.