

УДК 577.3+616.155.392

**АГРЕГАЦІЯ ТРОМБОЦИТІВ ЗА ХРОНІЧНОЇ  
МІЄЛОЇДНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ****І.В. Белінська, І.С. Дягіль, В.К. Рибальченко, З.В.  
Мартіна, С.М.Кравченко***Київський національний університет ім. Тараса Шевченка  
ДУ "Науковий центр радіаційної медицини"  
НАМН України (Київ)***Вступ**

Хронічна мієлоїдна лейкемія (ХМЛ) - це клональне захворювання кровотворної системи, при якому порушується поділ та диференціювання мієлоїдних попередників кісткового мозку. Такі зміни пов'язані із утворенням хімерного гену BCR/ABL в стовбурових клітинах, який виявляється в усіх лініях кровотворення (грануло-, еритро-, мегакаріо- та лімфоцитарній) і має тирозинкіназну активність. Відомо, що при ХМЛ мегакаріоцитарний паросток кровотворення істотно змінений. Дослідження проведені J.Thiele з співавторами [1,2] встановили присутність в гістологічних препаратах кісткового мозку біля 47% мікромегакаріоцитів з округлими компактними ядрами. В наших попередніх дослідженнях показано, що розподіл мегакаріоцитів за ступенем диференціювання (відсоток мегакаріобластів, промегакаріоцитів, базофільних, поліхроматофільних, оксифільних та вільних ядер мегакаріоцитів) при ХМЛ істотно не відрізняється від контрольних значень. Характерним для ХМЛ є істотне збільшення загальної кількості функціонуючих мегакаріоцитів, за рахунок збільшення базофільних (які є незрілими клітинами), а активність поліхроматофільних (зрілих) клітин - навпаки зменшується, при цьому активність оксифільних мегакаріоцитів не змінюється. Необхідно відмітити, що при ХМЛ частину мегакаріоцитів складають клітини з пікнотичними ядрами, цитоплазма яких повністю розпалась на тромбоцити. Поява таких клітин свідчить про стимуляцію мегакаріоцитарної ланки кровотворення, хоча причин для такої стимуляції (наприклад, кровотечі) немає. Також при ХМЛ істотно збільшується

кількість одно- та двосегментованих мегакаріоцитів на тлі зменшення кількості клітин з 4-8 сегментами ядра, які є найбільшою популяцією клітин в контрольній групі, а також гіперсегментованих мегакаріоцитів [3]. Зменшення кількості гіперсегментованих клітин є відмінною ознакою від остеомієлофіброзу, при якому кількість таких клітин навпаки збільшується [4,5]. Для істотної частини випадків ХМЛ, особливо в ранній хронічній фазі, характерно збільшення кількості тромбоцитів в крові, що є наслідком порушення диференціювання мегакаріоцитів кісткового мозку. Вище вказані зміни з'являються вже в ранній хронічній фазі.

Оскільки саме мегакаріоцити утворюють тромбоцити і обумовлюють їх функціональну здатність, а при ХМЛ вони зазнають істотних змін, метою дослідження стала функціональна активність тромбоцитів при активації різними індукторами агрегації.

#### Матеріали і методи дослідження

Функціональну активність тромбоцитів вивчали кількісним фотометричним методом із застосуванням фотоелектроколориметра за зміною коефіцієнта світлопропускання (Т, %) збагаченої тромбоцитами плазми до та після внесення індукторів агрегації аденозиндифосфату (АДФ, в кінцевих концентраціях:  $2 \times 10^{-4}$  М;  $5 \times 10^{-6}$  М,  $1 \times 10^{-6}$  М), колагену (0,2%), або адреналіну ( $2,5 \times 10^{-6}$  М) [6].

Статистичну обробку даних проводили з використанням програми Excel. Вірогідною вважали різницю середніх значень при  $p < 0,05$  за t-критерієм Ст'юдента.

#### Отримані результати та їх обговорення

Дослідження функціональної активності тромбоцитів на основі їх агрегації показало, що у хворих на ХМЛ сумарний індекс агрегації тромбоцитів при активації максимальною концентрацією індуктора ( $2 \times 10^{-4}$  М) АДФ вищий, в порівнянні з показниками контрольної групи (рис.1). На першій та другій хвилинах активації спостерігається тенденція до підвищеної відповіді тромбоцитів ( $p < 0,09$ ), а починаючи з третьої хвилини різниця стає більш істотною ( $p = 0,05$ ) і зберігається протягом п'яти хвилин.

Для підтвердження одержаних змін, були проведені дослідження агрегації тромбоцитів з нижчими концентраціями індуктора. Як видно з рис. 2, у хворих на ХМЛ агрегація тромбоцитів залишається підвищеною в порівнянні з показниками

контрольної групи, при активації АДФ в середній концентрації  $5 \times 10^{-6}$  М. Тенденція такої різниці спостерігається вже на першій хвилині активації ( $p < 0,07$ ), і стає більш істотною вже з другої хвилини активації ( $p < 0,05$ ).

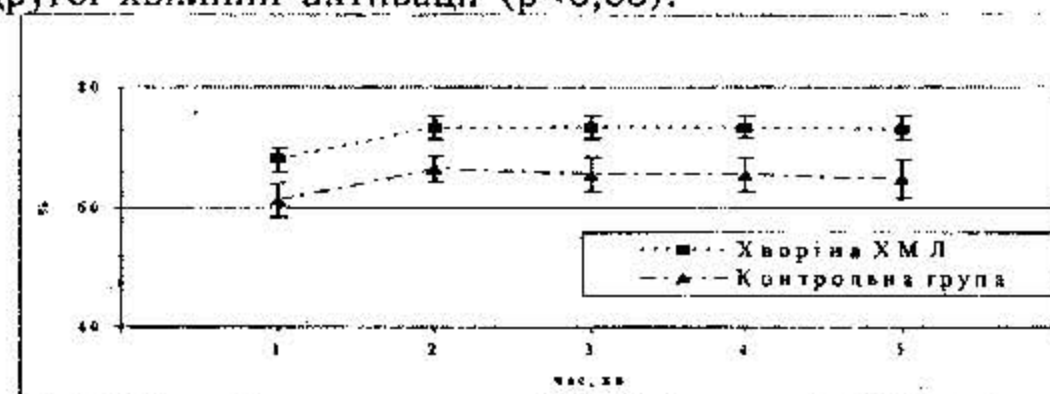


Рис. 1. Сумарний індекс агрегації тромбоцитів в нормі та при ХМЛ при активації  $2 \times 10^{-4}$  М АДФ.

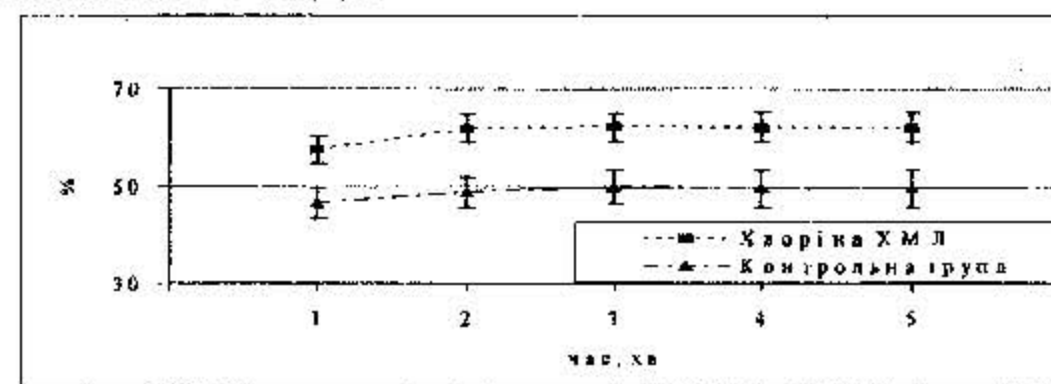


Рис. 2. Сумарний індекс агрегації тромбоцитів в нормі та при ХМЛ при активації  $5 \times 10^{-6}$  М АДФ.

При подальшому зменшенні концентрації індуктора агрегації (рис.3) не встановлено різниці між двома групами через високу варіабельність досліджуваного параметру.

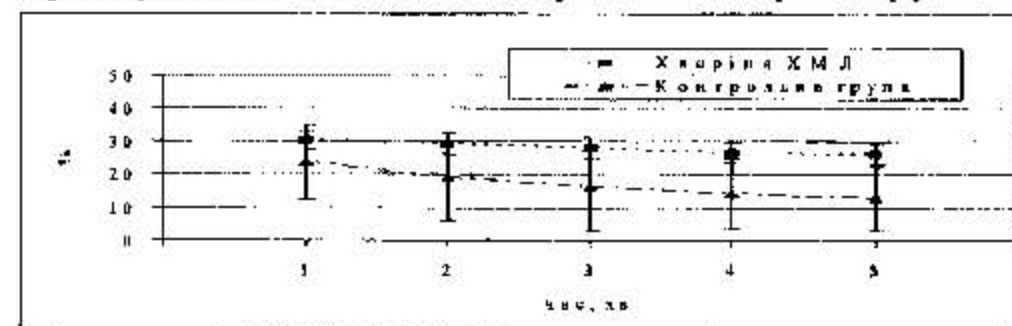


Рис. 3. Сумарний індекс агрегації тромбоцитів в нормі та при ХМЛ при активації  $1 \times 10^{-6}$  М АДФ.

Аналіз показників агрегації тромбоцитів при активації колагеном (рис. 4) і епінефрином (рис. 5) не виявив різниці між

хворими на ХМЛ та контрольною групою. Відсутність змін може бути пов'язаним з кількістю рецепторів на поверхні клітин, а також різними шляхами передачі сигналу в клітину.

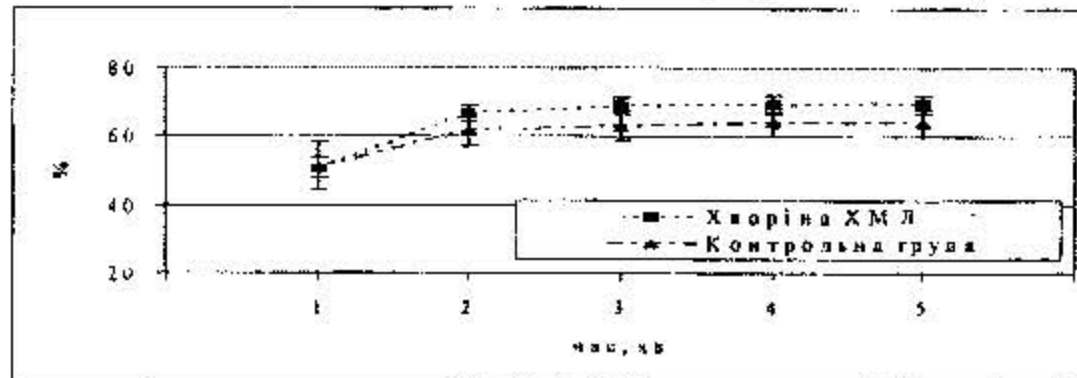


Рис. 4. Сумарний індекс агрегації тромбоцитів в нормі та при ХМЛ при активації 0,2% колагеном.

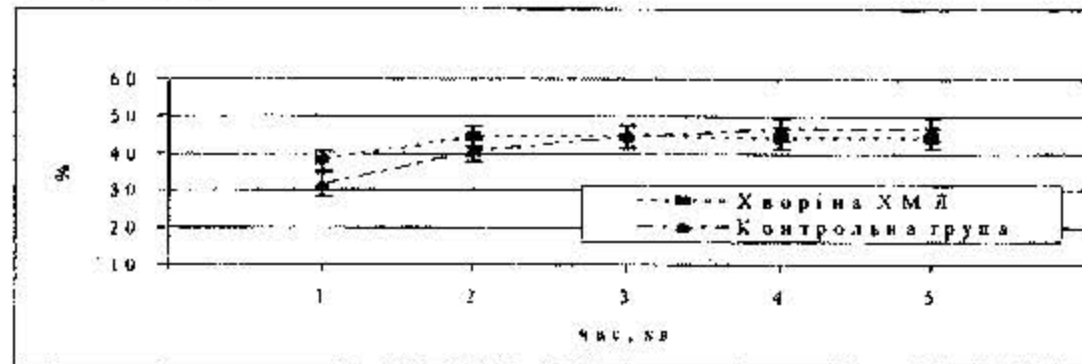


Рис. 5. Сумарний індекс агрегації тромбоцитів в нормі та при ХМЛ при активації  $2,5 \times 10^{-6}$  М епінефріном.

Таким чином, дослідження функціональної активності тромбоцитів при ХМЛ показало підвищену відповідь цих клітин при активації АДФ, що свідчить про збільшену ймовірність тромботичних ускладнень при даному захворюванні і необхідність враховувати при призначенні терапії. Також можна зазначити, що зміна активності тромбоцитів при ХМЛ відрізняється від такої хворих на остеомієлофіброз [7]. Але при інших мієлопроліферативних захворюваннях (поліцитемія і есенціальна тромбоцитемія) також реєструють підвищену активацію тромбоцитів саме при дії індуктора АДФ, і не спостерігають при активації колагеном [8, 9]. Механізми такої аномальної відповіді на активуючий стимул саме АДФ потребують подальшого дослідження. Ймовірно, зміна активності протеїнкіназ, яка лежить в основі як ХМЛ (продукту химерного гену BCR/ABL), так і поліцитемії та есенціальної тромбоци-

темії (JAK2(V617F)), може обумовлювати змінену відповідь тромбоцитів на активуючий стимул.

### Література

1. Megakaryocyte features and bcr/abl translocation in chronic myeloid leukemia following imatinib mesylate (ST1571) therapy - a fluorescence in-situ hybridization study / J. Thiele, H.M. Kvasnicka, E. Varus [et al.] // *Leuk. And Lymphoma.* - 2004. - V. 45. - P. 1627-1631.
2. Megakaryopoiesis and myelofibrosis in chronic myeloid leukemia after allogeneic bone marrow transplantation: an immunohistochemical study of 127 patients / J. Thiele, H.M. Kvasnicka, D.W. Beelen [e.a.] // *Mod. Pathol.* - 2000. - V. 12. - P. 129-138.
3. Морфологічна характеристика мегакаріоцитів при хронічній мієлоїдній лейкемії / І.В. Белінська, І.С. Дягіль, З.В. Мартина [та ін.] // *Укр. журнал гематології та трансфузіології.* - 2007. - №5. - С. 19-22.
4. Byelinska I.V. Megakaryocytes morphology in idiopathic (primary) myelofibrosis / I.V. Byelinska, I.N. Kabachenko, I.S. Dyagil // *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy.* - 2004. - V. 9. - P. 223 - 228.
5. Прокопенко І.М. Морфологічні особливості мегакаріоцитів при мієлофіброзі з мієлоїдною метаплазією у осіб, опромінених внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС / І.М. Прокопенко, В.Г. Бебешко, І.В. Белінська, І.С. Дягіль, // *Вісник морфології.* - 2008. - Т. 14, № 2. - С. 308 - 313.
6. Метод исследования адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов : методическое пособие / А.Л. Берковский, С.А. Васильев, Л.В. Жердева [и др.] - Москва, 1999. - 29 с.
7. Прокопенко І.М. Особливості агрегації тромбоцитів при мієлофіброзі з мієлоїдною метаплазією у осіб, опромінених внаслідок аварії на ЧАЕС / І.М. Прокопенко, І.В. Белінська, І.С. Дягіль, В.Г. Бебешко // *Проблеми рад. медицини та радіобіології : зб. наук. праць.* - Київ, 2007. - Вип. 13. - С. 267 - 272.
8. Bellucci S. The role of JAK2 V617F mutation, spontaneous erythropoiesis and megakaryocytopoiesis, hypersensitive

platelets, activated leukocytes, and endothelial cells in the etiology of thrombotic manifestations in polycythemia vera and essential thrombocythemia / S. Bellucci, J.J. Michiels // *Semin. Thromb. Hemost.* - 2006. - V. 32 (4 Pt 2). - P. 381-398.

9. The paradox of platelet activation and impaired function: platelet-von Willebrand factor interactions, and the etiology of thrombotic and hemorrhagic manifestations in essential thrombocythemia and polycythemia vera / J.J. Michiels, Z. Berneman, W. Schroyens [et al.] // *Semin. Thromb. Hemost.* - 2006. - V. 32, N6. - P.589-604.

#### Резюме

**Белінська І.В., Дягіль І.С., Рыбальченко В.К., Мартина З.В., Кравченко С.М.** Агрегация тромбоцитов за хронічної мієлоїдної лейкемії.

Дослідження функціональної активності тромбоцитів при хронічній мієлоїдній лейкемії показало підвищену відповідь цих клітин при активації аденозиндифосфатом (АДФ), що пов'язано із порушенням диференціювання їх попередників мегакаріоцитів у кістковому мозку і свідчить про збільшену ймовірність тромботичних ускладнень при даному захворюванні. Агрегация тромбоцитів при активації колагеном і епінефрином не змінюється.

**Ключові слова:** агрегация тромбоцитів, хронічна мієлоїдна лейкемія.

#### Резюме

**Белинская И.В., Дягиль И.С., Рыбальченко В.К., Мартина З.В., Кравченко С.Н.** Агрегация тромбоцитов при хронической миелоидной лейкемии.

Исследование функциональной активности тромбоцитов при хронической миелоидной лейкемии показало повышение ответа этих клеток при активации аденозиндифосфатом (АДФ), что связано с нарушением дифференцирования их предшественников мегакариоцитов в костном мозге и свидетельствует о повышенной вероятности развития тромботических осложнений при данном заболевании. Агрегация тромбоцитов при активации колагеном и эпинефрином не изменяется.

**Ключевые слова:** агрегация тромбоцитов, хроническая миелоидная лейкемия.

#### Summary

**Byelinska I.V., Dyagil I.S., Rybalchenko V.K., Martina Z.V., Kravchenko S.M.** Platelet aggregation in the chronic myeloid leukemia.

The study of the functional activity of platelets in the chronic myeloid leukemia showed an increase in response of these cells induced by adenosine diphosphate (ADP). These changes are associated with the abnormal differentiation of their precursors megakaryocytes in the bone marrow and an increased risk of thrombotic complications in this disease. Collagen or epinephrine-induced platelet aggregation are not affected.

**Key words:** platelet aggregation, chronic myeloid leukemia.

**Рецензент:** д.мед.н., проф. Ю.Г.Бурмак

УДК 612 (092 С)

## Д.С. ВОРОНЦОВ І ЙОГО НАУКОВА ШКОЛА

Л.О. Клименко

Національний медичний університет ім.О.О.Богомольця  
(Київ)

### Вступ

З іменем українського фізіолога, академіка НАН України (1957), Данила Семеновича Воронцова (1886-1965) пов'язаний розвиток вітчизняної електрофізіології і мембранології. Вчений здійснив фундаментальні дослідження з електрофізіології нервів, спинного і головного мозку, серця, скелетних м'язів. Велика заслуга вченого не тільки в розробці питань походження біоелектричних явищ, а й у створенні величезної наукової школи фізіологів і мембранологів, представники якої успішно продовжують його справу і нині. І в наш час школа Д.С. Воронцова є однією з активно діючих. Її представники успішно керують колективами багатьох наукових і учбових закладів нашої країни, розробляють найбільш актуальні питання фізіологічної науки. Чимало учнів Д.С. Воронцова створили свої власні наукові школи, зокрема, П.М. Серков, П.Г.Костюк, М.Ф.Шуба та ін.

**Мета дослідження:** охарактеризувати науковий потенціал і організаційний талант українського фізіолога Д.С. Воронцова, висвітлити основні напрямки досліджень, створеної ним наукової школи; довести пріоритетність досягнень представників школи Д.С.Воронцова у розкритті природи процесів збудження і гальмування в центральній нервовій системі.

**Методи дослідження:** порівняльно-історичний, предметно-логічний.

### Отримані результати та їх обговорення

Д.С.Воронцов закінчив природознавче відділення фізико-математичного факультету Петербургського університету, спеціалізувався по гістології у професора А.С.Догеля і займався дослідницькою роботою у професора М.Є.Введенського. На фізико-математичному факультеті Одеського університету захистив