

С.Б. Коваль, М.М. Середенко, Н.В. Луніна

Механізми впливу циркулюючих нейтрофільних гранулоцитів на реакцію вивільнення із тромбоцитів крові людини

Изучали особенности развития тромбоцитарной реакции высвобождения, как проявления функциональной активности тромбоцитов, при воздействии ингредиентов различных цитоплазматических гранулярных структур циркулирующих нейтрофильных лейкоцитов (гранулоцитов), обладающих потенциальной возможностью к избирательному экзоцитозу. Исследования проводились в системе in vitro на изолированных тромбоцитах практически здоровых людей. Как агонисты применялись выделенные из нейтрофильных гранулоцитов субпопуляции их цитоплазматических гранул, отличающихся по морфологическим и энзиматическим признакам.

Установлена возможность преобладания лизосомальной инициации нейтрофильных гранулоцитов в развитии реакции высвобождения тромбоцитов. Предложена схема возможного триггерного участия циркулирующих нейтрофильных гранулоцитов в развитии распространенного синдрома диссеминированного свертывания крови.

Вступ

Вивченню системи гемостазу організму людини, як багатокомпонентного біологічного механізму, що забезпечує адекватність реологічних властивостей крові і відповідну резистентність судинного русла, нині приділяється значна увага [14]. Однією з центральних функціональних ланок цієї системи є тромбоцити крові [24,14]. При безпосередній участі тромбоцитів відбуваються такі процеси, як зупинка кровотечі при порушеннях у ділянці мікроциркуляції у результаті формування тромбоцитарного гемостатичного тромбу, каталітична активація реакцій гемокоагуляції та утворення фібринового згустка, розвиток запальних реакцій з їх деструктивною й репаративною компонентами, прояви дисфункції ендотелію [4,14,24]. Однак реалізація цих та інших потенційних властивостей тромбоцитів можлива тільки при їх активації, а за фізіологічних умов лише незначна частина циркуляторного тромбоцитарного пулу знаходиться в активованому стані [16]. У разі активації тромбоцитів, відбуваються характерні морфофункціональні зміни їх, які і визначають участь цих формених елементів крові у фізіологічних реакціях та патологічних процесах [16]. Однією з таких проявів функціональної активності тромбоцитів є тромбоцитарна реакція вивільнення, чи реакція викиду [1,13,25]. В результаті цієї реакції відбувається позатромбоцитарне виділення вмісту їх альфа-гранул у вигляді біологічних активних індукторів, модуляторів і інгібіторів, які беруть участь у забезпеченні функціонування всієї системи гемостазу організму [1,4,25]. В організмі, поряд із відомими активаторами або агоністами тромбоцитів, що призводять до розвитку

© С.Б. Коваль, М.М. Середенко, Н.В. Луніна

тромбоцитарної реакції вивільнення [4,25], також існують недостатньо вивчені фактори, що здатні ініціювати реакцію вивільнення тромбоцитів [1].

Особливу актуальність це питання набуває в період міжклітинних взаємодій формених елементів крові, у тому числі і між нейтрофільними лейкоцитами (гранулоцитами) та тромбоцитами [3,23]. Це пов'язано з тим, що система нейтрофільних гранулоцитів розглядається нині як одна з універсальних ланок гомеостазу організму людини і яка поряд із участю в забезпеченні неспецифічної протиінфекційної резистентності залучається також до інших фізіологічних і патологічних реакцій в організмі [32,6]. Проте у цьому плані залишаються ще недостатньо вивченими біологічні механізми можливого впливу нейтрофільних гранулоцитів на функції тромбоцитів, а результати досліджень неоднозначні, та інтерпретація отриманих фактів дискутується [23,26].

Мета нашої роботи - вивчення в модельних дослідженнях *in vitro* особливостей впливу циркулюючих нейтрофільних лейкоцитів на проявлення функціональної активності тромбоцитів крові - реакцію вивільнення.

Методика.

Вивчення тромбоцитарної реакції вивільнення під впливом біологічно активних субстанцій цитоплазматичних гранул нейтрофільних гранулоцитів крові ми проводили в системі *in vitro*. Для цього, відповідно з методичними підходами, дослідження було розділено на три послідовних етапи.

На першому етапі було отримано життєздатні інтактні тромбоцити, що циркулюють у крові людей. Для цього у 17 практично здорових осіб які ввійшли до групи обстеження, пункцією кубітальної вени брали по 15 мл крові, яку стабілізували розчином ЕДТА у фосфатному буфері рН 6.5, 1 мг ЕДТА на 1 мл цільної крові. Зі стабілізованої крові за ізотермічних умов, температура була 2°C, використовуючи як агент, що прискорює седиментацію еритроцитів, розчин 6%-го декстрану в 0.9%-му розчині хлориду натрію, методом двократного диференційованого центрифугування виділяли тромбоцити [20]. Останні поміщали в буфер Тірде без наявності в ньому хлориду кальцію, рН 6.5, температура - 2°C, який містить 5% альбуміну крові людини, що забезпечує оптимальний колоїдно-осмотичний тиск цього середовища. Ми здійснювали кількісний контроль виділених тромбоцитів за допомогою мікроскопічного фазовоконтрастного методу, оцінювали показники життєздатності тромбоцитів [2]. Таким чином, отримані тромбоцитарні концентрати, а саме виділені життєздатні інтактні тромбоцити, що відповідають зразкам крові кожної людини з групи обстеження, були розділені на чотири проби тромбоцитарних суспензій з еквівалентним змістом кількості тромбоцитів, $6 \cdot 10^4$ у 1 мкл. Ці проби були згруповані в чотири серії досліджень, контрольну та три дослідні. Кожна з серій включала 17 еквівалентних проб тромбоцитарних суспензій, по одній пробі від кожного з обстежуваних.

На другому етапі було досліджено морфофункціональний стан альфа-гранул у виділених тромбоцитах. Була застосована модифікована вітальна цитофлюоресцентна індикація альфа-гранул безпосередньо у тромбоцитах [13,17], та екстратромбоцитарне мікрокоагуляційне визначення

активності фактора 4 тромбоцитів або антигепаринового фактора [12], який знаходиться в альфа-гранулах тромбоцитів [4,9]. Далі до тромбоцитів, ресуспендованих у 1,1 мл декальцинованому буфері Тіроде, що містить 5% альбуміну, після відновлення рН до 7,4 і температури до 37°C, додавали рівний об'єм розчину флюорохрому: 25 мкг/мл акридинового-оранжевого, 3,6 - тетраметилдіаміно-акридин (ВРН Chemical Ltd., Poole England) на 0,85% розчину хлористого натрію в 0,1 моль/л фосфатному буфері, рН 7,4, що містив 5% альбуміну. Інкубували протягом 10 хв за ізотермічних умов при 37°C. Потім відбирали пробу 0,3 мл тромбоцитарної суспензії, з якої 0,1 мл використовували для цитофлуориметричного вивчення тромбоцитів, визначаючи вторинну флуоресценцію тромбоцитарних альфа-гранул, збуджувальний світлофільтр СС15-2, запираючий світлофільтр ЖС18 і ЖС19, об'єктив 90х, окуляр проміжний 15х. Інтенсивність флуоресценції тромбоцитарних альфа-гранул виражали у відносних одиницях phospor partid unit (PPU)[49]. Об'єм відібраної проби, що залишився використовували для ідентифікації у посттромбоцитарному супернатанті, після його прогрівання протягом 10 хв при температурі 60°C, термостабільного антигепаринового фактора тромбоцитів [18].

На третьому етапі, у контрольній та трьох дослідних серіях, було проведено вивчення реакції вивільнення у життєздатних інтактних, з установленим початковим станом альфа-гранул, тромбоцитах при впливі біологічно активних субстанцій цитоплазматичних гранулярних структур нейтрофільних гранулоцитів. Для цього методами аналітичного центрифугування з нейтрофільних гранулоцитів донорської крові були виділені три субпопуляції цитоплазматичних гранул [7], а саме фракція (р 1,23) азурофільних чи первинних гранул, фракція (р 1.19) специфічних чи вторинних гранул, фракція третинних чи малих лізосомоподібних гранул [18,21]. Для мінімізації структурної латентності ферментів, виділені і ресуспендовані субклітинні фракції піддавали ультразвуковому впливу [7]. Надалі фракція азурофільних гранул була використана в першій дослідній серії, фракція специфічних гранул - у другій дослідній серії та фракція третинних гранул - у третій дослідній серії. У контрольній серії використано рівний об'єм середовища для ресуспендування виділених субклітинних фракцій, 0,2 моль/л розчин сахарози, що містить 0,005 моль/л Тріс, рН 7,4. Моделювання умов тромбоцитарної реакції вивільнення проводилося з урахуванням певних її особливостей [2,4,13]. Так, на фоні рекальцифікації, за ізотермічних умов, при 37°C, до 1,9 мл буферного середовища, рН 7,4, що містить завесь вітально флюорохромованих життєздатних інтактних тромбоцитів, додаванням 1,0 мл буфера Тіроде, рН 7,4, який містить хлорид кальцію 8,25 ммоль/л і внесенням при цьому тромбіну – 0,25 од/мл і 5%-го альбуміну, у кінцевих концентраціях, а також одночасним додаванням 0,1 мл однієї з ресуспендованих субклітинних фракцій, відповідно до номера дослідної серії, або ресуспендуючого середовища - у контролі. Через 1, 2, 4, 8 і 16 хв інкубації, з отриманої у результаті реакційної тромбоцитарної суспензії, відбирали проби для вище описаних цитофлуориметричного визначення у тромбоцитах альфа-гранул (в од. PPU) та для виявлення в екстратромбоцитарному інкубаційному середовищі термостабільного антигепаринового фактора тромбоцитів (у хвилинах тромбін-гепаринового часу згортання).

Отримані результати оброблені статистично, методом непрямих різниць.

Результати та їх обговорення

Було виділено циркулюючі у крові обстежених життєздатні тромбоцити в неактивному функціональному стані. До факторів, які негативно впливають на тромбоцитарну активність, відносяться зменшення рН, зниження температури, відсутність іонів кальцію в екстратромбоцитарному середовищі [2,13,20]. При вітальному флуорохромуванні виявлялися дискретні цитоплазматичні гранули, що мають яскраво-червону флуоресценцію. Така картина характерна для тромбоцитарних альфа-гранул [13]. У тромбоцитах поряд з альфа-гранулами містяться й інші гранулярні утворення, названі “щільні тільца”, однак останні розглядаються, як структурно-трансформовані форми альфа-гранул [33].

У разі участі тромбоцитів у реакціях гемостазу, у тому числі і при агрегації та адгезії, відбувається виділення вмісту тромбоцитарних альфа-гранул у позаклітинний простір, що супроводжується зменшенням наявності альфа-гранул у тромбоцитах [1]. Отже, визначення кількості в тромбоцитах альфа-гранул дозволяє визначити міру інтактності тромбоцитів. Однак для тромбоцитарних альфа-гранул характерна певна морфофункціональна гетерогенність [1,33]. У інтактних тромбоцитах альфа-гранули розглядаються як “гранули збереження”, які містять більш ніж 20 різних біологічних індукторів і модуляторів та які можна функціонально розділити на ті, що забезпечують судинно-тромбоцитарний гемостаз, фактори й інгібітори згортання крові, медіатори запальних реакцій [4]. До білків, що знаходяться в альфа-гранулах тромбоцитів, відноситься і фактор 4 тромбоцитів або антигепариновий фактор тромбоцитів [4,9]. Визначення його дозволяє характеризувати функціональний стан альфа-гранул у тромбоцитарній реакції вивільнення [9]. Визначена нами відсутність у екстратромбоцитарному середовищі активності антигепаринового фактора тромбоцитів указує на зменшення проявів тромбоцитарної реакції вивільнення або її мінімальний розвиток. Ці дані дозволили з'ясувати особливості розвитку в тромбоцитах реакції вивільнення на фоні появи у екстратромбоцитарному середовищі біологічно активних субстанцій різних субпопуляцій цитоплазматичних гранул нейтрофільних гранулоцитів крові (рис.1). У наших дослідженнях, як певні індуктори чи агоністи, було застосовано іони кальцію та тромбін [2,4,13]. У першій серії досліджень (див. рис.1), при внесенні лабілізованої фракції цитоплазматичних азурофільних гранул нейтрофільних гранулоцитів крові, у тромбоцитах, починаючи з 1-ї хвилини спостережень відбувається прогресуюче зменшення кількості альфа-гранул. Ступінь виразності цього процесу більш значна, ніж у контролі. Одночасно у екстратромбоцитарному середовищі, у першій серії досліджень (див. рис.1) відбувається більш значне, ніж у контрольній серії, збільшення активності антигепаринового фактора тромбоцитів. Порівняння отриманих результатів у першій та контрольній серіях указує на ініційований розвиток тромбоцитарної реакції вивільнення під впливом біологічно активних субстанцій азурофільних гранул нейтрофільних гранулоцитів.

Аналогічні, але менш виражені зміни кількості альфа-гранул у тромбоцитах і активності антигепаринового фактора тромбоцитів у середовищі

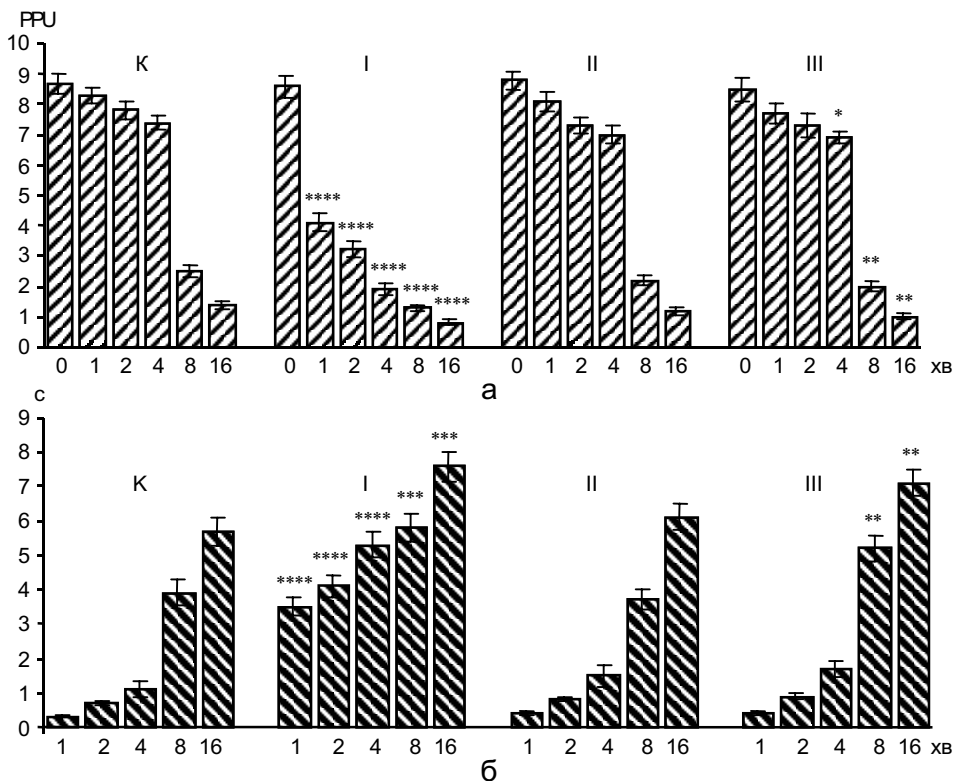


Рис. 1. Прояви тромбоцитарної реакції вивільнення під впливом цитоплазматичних гранулярних структур нейтрофільних гранулоцитів: а - альфа-гранули в тромбоцитах, б - фактор 4 тромбоцитів в екстрацитоцитарному середовищі; К - контрольна серія, І - перша серія, ІІ - друга серія, ІІІ - третя серія. Вірогідність наведена відносно контрольної серії: * Р - 0,1-0,05; ** Р - 0,05-0,02; ***Р - 0,01-0,001; ****Р<0,001

їх перебування, виявляються в 3-й серії, коли була застосовувана лабілізована фракція цитоплазматичних третинних гранул нейтрофільних гранулоцитів крові (див. рис.1).

Зміни, що характеризують розвиток тромбоцитарної реакції вивільнення, у 2-й серії досліджень суттєво не відрізняються від аналогічних у контролі (див. рис.1). Мабуть, морфофункціональними особливостями субпопуляцій цих гранул можна пояснити неоднаковий розвиток тромбоцитарної реакції вивільнення. Так, у нейтрофільних гранулоцитах цитоплазматичні азурофільні гранули чи первинні гранули, відповідно до їх біогенезу, структури, функцій та наявності в них відповідних ензимів, є справжніми первинними лізосомами [21]. Вони містять поряд з мієлопероксидазою, дифенсинами і лізоцимом, також кислі гідролази і нейтральні протеїнази [21]. Можливо, деякі з цих гранул можуть виступати в ролі агоністів тромбоцитів. Зокрема, лізосомальні ферменти здатні впливати і на глікопротеїди клітинних мембран [29]. Взаємодія з певними мембранними глікопротеїдами, що є спеціалізованими рецепторами на поверхні тромбоцитів, призводить до зрушень у системі вторинних месенджерів, та викликає зміни в цитоскелеті тромбоцитів і в результаті визначає тромбоцитарну реакцію вивільнення, як тромбоцитарну секрецію шляхом екзоцитозу вмісту тромбоцитарних

альфа-гранул [1]. Зокрема, мієлопероксидаза може викликати секреторні реакції у тромбоцитів [22]. Вважається, що тромбоцитарна реакція вивільнення, будучи секреторним процесом тромбоцитів може бути з різними регуляторними механізмами [1]. Так, установлене нами збільшення активності антигепаринового фактора тромбоцитів у буферному середовищі, у якому знаходилися тромбоцити, є наслідком прояви тромбоцитарної реакції вивільнення I, але тромбін стимулює прояв тромбоцитарної реакції вивільнення II [1]. Напевне, це зв'язано з послідовністю розвитку тромбоцитарної реакції вивільнення, а саме перша стадія індукується тромбіном, а друга стадія, безпосередньо “вивільнення”, відбувається лише при наявності іонів кальцію в зовнішньому середовищі і її оптимальному температурному режимі [13].

Установлене в 3-й серії деяке збільшення проявів тромбоцитарної реакції вивільнення, ймовірно, можна пояснити тим, що цитоплазматичні третинні гранули нейтрофільних гранулоцитів нечисленні, морфологічно неоднорідні, але відносяться до лізосомоподібних гранул, які містять деякі лізосомальні ферменти [21]. Вторинні чи специфічні гранули нейтрофільних гранулоцитів за цілою низкою характерних для них морфофункціональних властивостей і ензиматичних ознак, не відносяться до первинних лізосом [18,21]. Крім того слід відзначити, що не лише лізосомальні інгредієнти нейтрофільних гранулоцитів можуть ініціювати реакцію вивільнення тромбоцитів. Так, нейтрофільні гранулоцити можуть синтезувати фактор активації тромбоцитів [3]. Даний фактор відноситься до групи алкілутримуючих гліцерофосфохолінів, які входять у структуру клітинних мембран і котрі також можна розглядати як медіатор міжклітинних відношень [3]. Але нейтрофільні гранулоцити не секретують цей фактор активації тромбоцитів, а самі його і метаболізують у процесі своєї життєдіяльності [3]. Тому встановлені нами факти можливості переважної лізосомальної активації тромбоцитарної реакції вивільнення можуть мати деякий біологічний зміст. Так, за певних умов, нейтрофільні гранулоцити здатні до екзоцитозу вмісту різних субпопуляцій своїх цитоплазматичних гранул [6,27], що відбувається при реалізації в організмі адаптаційного стрес-синдрому [6]. Однак, поряд з цими фактами, дані наших попередніх досліджень [5,6] і результати цієї роботи дозволяють, на нашу думку, внести деякі доповнення у відому схему участі тромбоцитів у згортанні крові [30]. Пропонується схема (рис.2) можливої тригерної участі циркулюючих нейтрофільних гранулоцитів у гіперкоагуляційних зрушеннях крові при розвитку в організмі розповсюдженого синдрому дисемінованого згортання крові, ДВЗ-синдрому. Так, при виникненні в організмі патологічних станів, які супроводжуються генералізованим порушенням системи гемостазу, що клінічно виявляється симптоматикою ДВЗ-синдрому [15,28], у гранулоцитарному компоненті системи крові спостерігаються визначені реакції [5]. На фоні розвитку абсолютного нейтрофілозу, зумовленого активацією гранулоцитопоезу, у нейтрофільних гранулоцитах крові відбуваються зміни їх лізосомального апарату, які визначають надходження лізосомального вмісту

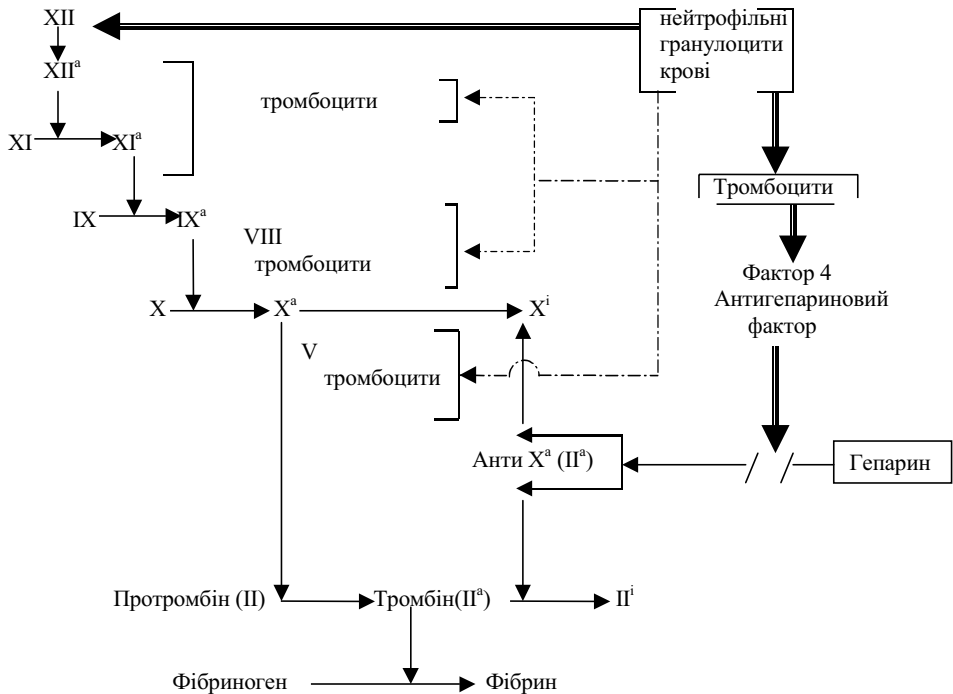


Рис. 2. Схема участі нейтрофільних гранулоцитів крові у гіперкоагуляційній фазі ДВЗ - синдрому

з первинних лізосом у циркуляторне русло, що підтримує певний рівень лізосомальної гіперферментемії [5,6]. Однак при цьому, у випадку депресії гранулоцитопоезу, спостерігається мінімізація функціональних реакцій з боку тромбоцитів крові [8]. У дослідженнях *in vitro* було показано, що нейтрофільні гранулоцити здатні не лише активувати своїми лізосомальними ферментами плазміний фактор, що прискорює процес гемокоагуляції - фактор Хагемана [11], але вони безпосередньо спроможні забезпечувати своєю лізосомальною стимуляцією прояви тромбоцитарної реакції вивільнення і, як наслідок, збільшувати активність антигепаринового фактора тромбоцитів. Таким чином, нейтрофільні гранулоцити крові мають можливість лізосомальної індукції згортаючої системи крові і одночасної активації тромбоцитарної ланки гемостазу з паралельним при цьому пригнічуванням антикоагулянтного потенціалу протизгортальної системи (див. рис.2). Як відомо, активація коагулянтної складової і тромбоцитарної компоненти є одним з ведучих механізмів патогенезу розвитку в організмі більшості з форм ДВЗ-синдрому [14]. Звичайно, в організмі існують біологічні системи компенсації виникаючої лізосомальної гіперферментемії [10]. Проте такий патогенетичний механізм в організмі, ймовірно, має місце, тому що при зменшенні кількості в циркуляції нейтрофільних гранулоцитів не відтворюється на лабораторних тваринах ДВЗ-синдром [5,19].

S.B. Koval, M.M. Seredenko, N.V. Lunina

JET GEARS OF INFLUENCE CIRCULATING NEUTROPHILE GRANULOCYTES ON A RESPONSE OF A RELEASE REACTION OF HUMAN PLATELETS

Studied singularities of development platelet release reaction, as of functional activity platelets, at direct effect contents of cytoplasmic granular structures circulating neutrophile leucocytes (granulocytes), possessing a potential capability to selective exocytosis. The model researches were conducted in a system in vitro on isolated viable non active of platelets practically of healthy people. As possible activators the subpopulations them of cytoplasmic granules, distinguished on morphological and enzymation to indications were applied, previously chosen by methods of an analytical centrifuging from donor neutrophile granulocytes. The development platelets of a response of a release was determined on dynamics quantitative reorganization in platelets an alpha - granules and change of activity in out of platelets to environment of the factor 4 platelets.

The capability of a dominance lysosomal initiators neutrophile granulocytes in development of a response of a release of platelets was installed. The scheme of probable trigger participation circulating of neutrophile granulocytes in development syndrome disseminated intravascular coagulation.

Bogomoletz Institute of Physiology NAS Ukraine, Kiev

Список літератури

1. *Вашкинель В.К., Петров М.Н.* Ультраструктура и функции тромбоцитов человека. –Л.: Наука, 1982. – 88с.
2. *Гусейнов Ч.С.* Физиология и патология тромбоцитов.-М.: Медицина, 1971.- 176 с.
3. *Дайхин Е.И., Федюшина Н.А., Гусейнов А.Т.* Клиническое значение исследования фактора активации тромбоцитов // Вопр.мед.химии.- 1989.- 35, №2.-С.10-16.
4. *Ермолова Т.А., Пономаренко В.М., Головина О.Г.* Система мегакариоцит – тромбоцит // Вест.Рос.АМН.-1996.-№12.-С.34-43.
5. *Коваль С.Б., Боярчук О.Д., Лунина Н.В.* Вплив циркулюючих нейтрофілів на деякі гемокоагуляційні властивості крові при синдромі дисемінованого внутрішньосудинного зсідання // Наук. вісник Волин. держ. ун-та. – 1999. - №4. – С.77-81.
6. *Коваль С.Б., Лунина Н.В., Середенко М.М.* Синдром дегрануляції нейтрофільних лейкоцитів // Буковин. мед. вісник.-1998.-Т.2, №4.- С.204-213.
7. *Коваль С.Б., Лунина Н.В. Середенко М.М.* Роль нейтрофільних лейкоцитів у системі ангіотензин-перетворюючого ферменту // Там же. -2000.-Т.4, №1.-С.179-187.
8. *Коваль С.Б. Середенко М.М.* Особливості впливу деяких мієлодепресантів на гемостаз при його неспецифічному системному порушенні // Ліки України.-2000.- №10(39).-С.58-59.
9. *Лаврова Л.А., Якунин Г.А., Смолянський А.Я.* Фактор 4 тромбоцитов. Свойства и клиническое значение его определения // Лабор.дело. – 1986. - №2. – С.73-76.
10. *Ларионова Н.И., Балабушевич Н.Г., Гладышева И.П.* и соавт. Природные ингибиторы протеиназ, как основа для создания новых лекарственных средств // Вопр. мед. химии. – 1994. – 40, №3. – С.25-31.
11. *Лунина Н.В., Коваль С.Б.* Влияние лизосомальных ферментов нейтрофильных лейкоцитов на синтез простагландинов // Там же. – 1983. – 29, №1. – С.23-26.
12. *Лычев В.Г.* Об определении антигепаринового фактора тромбоцитов в плазме // Лабор.дело.-1974.-№12.-С.730-732.
13. *Маркосян А.А., Козлов В.К.* Вязкий метаморфоз тромбоцитов // Физиол.журн.СССР.- 1973.-59, №2.-С.281-287.
14. *Мищенко В.П.* Физиология гемостаза и ДВС синдром. – Полтава: Укручетиздат, 1998. – 164с.

15. Павловский Д.П. Патогенез, диагностика и лечение синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания // *Врачеб. дело.* - 1988.-№3.-С.73-77.
16. Шитикова А.С. Белязо О.Е., Тарковская Л.Р., Каргин В.Д. Метод определения внутрисосудистой активации тромбоцитов и его значение в клинической практике // *Клин.лабор.диагностика.*-1997.-№2.-С.23-24, 33-35.
17. Allison A. C., Young M.R. Vital staining and fluorescence microscopy of lysosomes // *Lysosomes in biology and pathology.* - Amsterdam: Holland Publ. Co. 1973. - 2. - P.600-628.
18. Bainton D.F., Ullyot J.L., Farquhar M.G. Development of neutrophilic polymorphonuclear leucocytes in human bone marrow. I. Origin and content of azurophil and specific granules // *J. Exp. Med.* - 1971. - 134, N4. - P. 907- 934.
19. Bohn E., Muller - Berghaus G. The effect of leukocyte and platelet transfusion on the activation of intravascular coagulation by thrombocytopenic rabbits//*Amer. J. Patol.* - 1976. - 84. - P.239-258.
20. Boyum A. Abstract from Nordforsk seminar on subcellular fractionation. 1984// *Isolation of blood cells.* Nycomed AS. Diagnostics. Scandinavia. - Oslo, 1986. - 15p.
21. Bretz U.,Baggiolini M. Biochemical and morphological characterization of azurophil and specific granules of human neutrophilic polymorphonuclear leukocytes // *J.Cell Biol.*, - 1974. - 63, - P.251 - 269.
22. Clark R., Clebanoff S. Myeloperoxidase - mediated platelet release reaction// *J. Clin. Invest.* - 1979. - 63. - P.177-183.
23. Del Maschio A., Corvazier E., Maillet F. e.a. Platelet - dependent induction and amplification of polymorphonuclear leukocyte lysosomal enzyme release // *Brit. J. Haematol.* - 1989. - N3. - P.329 - 335.
24. Fausett B., Silver R.M. Congenital disorders of platelet function // *Clin. Obstet. Gynecol.* - 1999. - 42. - P.390-405.
25. Ginsberg M., Henson P., Henson J., Kozin F. Mechanism of platelet response to monosodium urate crystals // *Amer.J. Pathol.* - 1979. - 94. - P.549 - 557
26. Lynch J.M., Lotner G.Z., Betz S.J. The release of platelet - activating factor by stimulated rabbit neutrophils // *L. Immunol.* - 1979. - 123 - P. - 1219 - 1226.
27. Smolen J.E., Korchak H.M., Weisman G. Initial kinetics of lysosomal enzyme secretion and superoxide anion generation by human polymorphonuclear leukocytes// *Inflammation.* - 1980. - №4. - P.145-163.
28. Thiagarajah S., Wheby M.S., Jain R. E. Disseminated Intravascular Coagulation in Pregnancy. The Role of Heparin Therapy // *J. Reprod. Med.* - 1981. - 26, N1. - P.17 - 20.
29. Vaes G. Digestive capacity of lysosomes// *Lysosomes and storage diases.* New.-York. - London, 1973. - P.43-74.
30. Weiss H. Platelet physiology and abnormalities of function (first of two parts)// *New Engl. J. Med.* - 1975. - 293. - P.531-540.
31. West S., Golden I.F. Phosphous particles as microscopic fluorescence standards // *J.Histochem. and Cytochem.* - 1976. - 24, N4. - P.609 - 610.
32. Whelan C.J. Is granulocyte or endothelial cell activator responsible for the initiation of granulocyte recruitment during acute inflammation [Review] // *Agents and Actions.* - 1992. - 37, N3-4. - P.319 - 324.
33. White J.G. Origin and function of platelet dense bodies// *Ser. Haematol.* - 1970. - 4. - P.17-46.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН
України, Київ
Луган. пед. ун-т ім. Т. Г. Шевченка*

*Матеріал надійшов
до редакції 4.09.2000*