

УДК 612.118.2-02:616.15-085.277.3]-092.9
DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2020.4.11824

С. О. Ястремська, Н. М. Петрик

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗМІН ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ІНДЕКСІВ НА ТЛІ ГЕМАТОСУПРЕСІЇ, ВИКЛИКАНОЇ ДІЄЮ ЦИКЛОФОСФОАМІДУ

Дослідження змін гематологічних індексів
на тлі гематосупресії, викликані дією
циклофосфоаміду

С. О. Ястремська, Н. М. Петрик

Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Резюме. Гематосупресія, викликана дією цитостатичних препаратів, що відносяться до групи алкілюючих сполук, у гематології є частим явищем, із компенсацією даного стану за рахунок появи ділянок екстрамедулярного гемопоезу (ЕМГ) в периферійних органах кровотворення. Оцінка зміни гематологічних індексів, які виникають при ЕМГ, спрямована на розробку додаткових діагностичних критеріїв захворювань системи крові.

Мета дослідження – вивчити зміни гематологічних індексів периферійної крові при гематосупресії, викликаній циклофосфоамідом.

Матеріали і методи. Дослідження виконано на 30 статевозрілих мишах Balb/c із середньою масою тварин 25 г, яких поділили на дві групи, – інтактну і дослідну по 15 мишей у кожній. Для індукції екстрамедулярного гемопоезу використано мобілізаційний протокол, розроблений на кафедрі патології та біології розвитку Стенфордського університету [5]. Тваринам дослідної групи в перший день експерименту внутрішньочеревно вводили болюсну дозу циклофосфоаміду («Ендоксан», виробник «Baxter Oncology GmbH» (Німеччина)) – 200 мг/кг із наступними триденними внутрішньочеревними ін'єкціями людського рекомбінантного гранулоцитарного колонієстимулювального фактора G-CSF (препарат «Грастим» виробник Dr. Reddy's (Індія)) в дозуванні 250 мкг/кг. Оцінку гематосупресії, викликану комбінацією циклофосфоаміду та G-CSF, виконували у віддалений період на 21 добу експерименту. Для дослідження було відібрано цільну кров, забір якої здійснено з порожнини серця. Дослідження гематологічних індексів проведено на аналізаторі Horiba Yumizen H₅₀₀.

Результати. Виявлено повну компенсацію анемічних проявів, викликаних гематосупресією на 21 добу експерименту, на що вказує достовірне ($p < 0,025$) збільшення абсолютної кількості еритроцитів на 119,34 %, із збереженням морфометричних параметрів у межах норми в новій популяції еритроцитів та незначним збільшенням їх гетерогенності, виявленого на основі достовірного ($p < 0,001$) підвищення коефіцієнта варіації у дослідній групі на 16,12 % та стандартного відхилення на 8,72 %. Встановлено зміну тромбоцитарного

©С. О. Ястремська, Н. М. Петрик, 2020

Study of changes in hematological indices against
the background of hematosuppression caused by
cyclophosphamide

S. O. Yastremskaya, N. M. Petryk

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

e-mail: yastremska@tdmu.edu.ua

Summary. Hematosuppression caused by the action of cytostatic drugs belonging to the group of alkylating compounds in hematology is a common phenomenon, with compensation for this condition due to the appearance of areas of extramedullary hematopoiesis (EMH) in peripheral hematopoietic organs. Assessment of changes in hematological indices that occur during EMH is aimed at developing additional diagnostic criteria for diseases of the blood system.

The aim of the study – to investigate changes in peripheral blood hematological indices in cyclophosphamide-induced hematosuppression.

Materials and Methods. The study was performed on 30 adult mature Balb/c mice with an average weight of 25 g with a division into two groups of intact and experimental 15 mice in each. For the induction of extramedullary hematopoiesis, a mobilization protocol developed by the Department of Pathology and Developmental Biology of Stanford University was used [5]. Animals of the experimental group on the first day of the experiment were injected intraperitoneally with a bolus dose of cyclophosphamide ("Endoxan" manufactured by "Baxter Oncology GmbH" (Germany)) – 200 mg/kg, followed by three days of intraperitoneal injections of human recombinant granulocyte-colony manufacturer Dr. Reddy's (India) in a dosage of 250 mcg/kg.

Evaluation of hematosuppression caused by the combination of cyclophosphamide and G-CSF was performed remotely on day 21 of the experiment. Whole blood for the study taken from the heart cavity. The study of hematological indices was performed on a Horiba Yumizen H500 analyzer.

Results. Full compensation of anemic manifestations caused by hematosuppression on the 21st day of the experiment was revealed, which indicates a significant ($p < 0.001$) increase in the absolute number of erythrocytes by 119.34 %, with preservation of morphometric parameters within normal limits in a new population of erythrocytes and a slight increase in their heterogeneity. In the experimental group coefficient of variation by 16.12 % ($p < 0.001$) and the standard deviation by 8.72 %. The change in platelet homeostasis consisted in forming an excessive amount of

гомеостазу, що полягала в утворенні надмірної кількості фракції великих тромбоцитів у дослідній групі тварин на 52,23 % ($p < 0,001$) порівняно з показниками інтактної групи тварин. Відмічено незначне зменшення середнього об'єму тромбоцитів на 7,57 % ($p < 0,001$). Імуносупресія, викликана циклофосфамідом, що призводить до виникнення гострих форми нейтропенії на 21 добу експерименту, була повністю компенсована, про що свідчить збільшення абсолютного числа нейтрофілів у 14,5 раза в дослідній групі тварин. Серед мієлоїдних клітин лейкоцитарного ряду спостерігається збільшення лімфоцитів, моноцитів, еозинофілів та базофілів на 60,32; 66,99; 68,75; 76,39 % відповідно.

Висновки. На основі змін гематологічних індексів периферійної крові ми виявили посилення гематопоезу клітин мієлоїдної та мегакаріоцитарної ланки із компенсацією гематосупресії, викликаної циклофосфамідом на 21 добу експерименту. В тварин дослідної групи діагностовано посилення еритропоезу із компенсацією анемічних проявів, активацію тромбоцитарного гемопоезу та подолання імуносупресії, викликаної дією циклофосфаміду за рахунок ін'єкцій G-CSF, що підтверджено збільшенням нейтрофілів у 14,5 раза.

Ключові слова: гематосупресія; циклофосфамід; гематологічні індекси; екстрамедулярний гемопоез.

ВСТУП

Упродовж останнього десятиліття завдяки дослідженням вітчизняних та зарубіжних вчених у галузі експериментальної гематології вивчено етіологію та механізм виникнення екстрамедулярного гемопоезу (ЕМГ), розкрито клітинну нішу та ідентифіковано фактори проліферації прогеніторних та гемопоетичних клітин-попередників. У клінічній практиці гематологи розглядають ЕМГ як компенсаторну реакцію на недостатнє утворення або функціонування клітин крові, що зустрічається при вродженій гемолітичній анемії, при набутих захворюваннях кісткового мозку, зокрема при мієлодиспластичних синдромах. В окремих випадках ЕМГ індукується конститутивною надекспресією інтерлейкіну або кліщовою інвазією. Проте достеменно невідомо як координуються між собою процеси медулярного та екстрамедулярного кровотворення, якими властивостями володіють мобілізовані із кісткового мозку гемопоетичні попередники та прогеніторні клітини, а поліетіологічність та різна органна локалізація ЕМГ ускладнює встановлення причинно-наслідкових зв'язків та розуміння механізму його виникнення [4].

Нещодавні дослідження підтвердили, що анемічні прояви, викликані супресією кісткового мозку цитостатичними препаратами, які відносяться до групи алкілюючих сполук, швидше компенсуються у тварин із збереженою селезінкою. Послаблення наслідків гематосупресії пов'язане із виникненням осередків екстрамедулярного кровотворення (ЕМГ) за рахунок появи прогеніторних гемопоетич-

large platelet fraction in the experimental group of animals by 52.23 % ($p < 0.001$) compared with the intact group of animals. There was a slight decrease in mean platelet volume of 7.57 % ($p < 0.001$). Immunosuppression caused by cyclophosphamide leading to acute forms of neutropenia on day 21 of the experiment was fully compensated, as evidenced by an increase in the absolute number of neutrophils in 14.5 times the experimental group of animals. Among myeloid cells of the leukocyte lineage, there is increase in lymphocytes, monocytes, eosinophils and basophils by 60.32 %, 66.99 %, 68.75 % and 76.39 % respectively.

Conclusions. Based on changes in hematological indices of peripheral blood, we found an increase in hematopoiesis of myeloid and megakaryocyte cells with compensation for hematosuppression caused by cyclophosphamide on day 21 of the experiment. In animals of the experimental group, increased erythropoiesis with compensation of anemic manifestations, activation of platelet hematopoiesis, and overcoming immunosuppression caused by cyclophosphamide G-CSF injections was confirmed, which was confirmed by a 14.5-fold increase in NEU.

Key words: hematosuppression; cyclophosphamide; hematological indices; extramedullary hematopoiesis.

них клітин у периферійних органах кровотворення, що в кінцевому результаті веде до збільшення целюлярності органа, а у випадку селезінки – до спленомегалії [11].

Станом на сьогодні серед науковців відсутня єдина точка зору стосовно характеру змін морфофункціональних показників формених елементів у динаміці перебігу мієлопроліферативних новоутворень (МПН), а наявні дані носять неоднозначний та суперечливий характер [2]. Враховуючи той факт, що у здорових осіб розмір тромбоцитів (MPV) та їх кількість у периферійній крові є генетично детермінованими показниками і кореляційний зв'язок між експресією генів та значенням параметра MPV було доведено, ми можемо стверджувати про діагностичну цінність даного параметра при різних патологічних станах і, зокрема, захворюваннях системи крові [1]. Так, дослідники усього світу активно вивчають можливість використання показників розмірів тромбоцитів для діагностики захворювань системи крові та оцінки стану цих клітин, що доводить перспективність досліджень у цьому напрямку [13]. Враховуючи вищесказане, ми констатуємо необхідність проведення додаткових досліджень для встановлення змін морфологічних особливостей формених елементів у хворих на МПН з метою розробки додаткових діагностичних критеріїв.

Метою дослідження було вивчити зміни гематологічних індексів периферійної крові при гематосупресії, викликаній циклофосфамідом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Для індукції екстрамедулярного гемопоезу використано мобілізаційний протокол, розроблений на кафедрі патології та біології розвитку Стенфордського університету [5]. В якості мобілізуючого агента використано препарат «Ендоксан» із діючою речовиною циклофосфамід («Baxter Oncology GmbH» (Німеччина)). Для уникнення тяжкої форми нейтропенії дослідним тваринам вводили ін'єкції людського рекомбінантного гранулоцитарного колонієстимулювального фактора (G-CSF) («Грастим» Dr. Reddy's (Індія)). Комбінація циклофосфаміду, який належить до групи алкілюючих агентів, та грастиму, що відноситься до групи колонієстимулювальних факторів, базується на ідентичній реакції щодо середовища кісткового мозку, яка полягає у вивільненні та накопиченні нейтрофільних протеаз, які забезпечують вихід стовбурових та прогеніторних клітин у периферійну кров [4].

Дослідження виконано на 30 статевозрілих мишах Balb/c із середньою масою тварин 25 г, яких поділили на дві групи: інтактну і дослідну із кількістю по 15 мишей у кожній. Тварин інтактною групи утримували в стандартних умовах віварію із збалансованим режимом харчування та дотриманням режиму світло/темрява. Тваринам дослідної групи в перший день експерименту внутрішньочеревно вводили болюсну дозу циклофосфаміду – 200 мг/кг, що в перерахунку на середню масу тварин (25 г) відповідало 5 мг. Наступні три дні тварини отримували внутрішньочеревні ін'єкції G-CSF у дозуванні 250 мкг/кг, що в перерахунку на масу миші відповідало 6,25 мкг.

Оцінку гематосупресії, викликані комбінацією циклофосфаміду та G-CSF, виконували у віддалений період на 21 день експерименту. Для дослідження було відібрано цільну кров, забір якої здійснено з порожнини серця. Дослідження гематологічних індексів проведено на аналізаторі Horiba Yumizen H₅₀₀ із встановленням величини наступних параметрів: абсолютна кількість еритроцитів (RBC); гемоглобін (HGB); гематокрит (HCT); середній об'єм еритроцитів MCV; середній вміст гемоглобіну в еритроциті (MCH); середня концентрація гемоглобіну в еритроциті (MCHC); коефіцієнт варіації (RDW-CV); стандартне відхилення (RDW-SD); абсолютна кількість тромбоцитів (PLT); тромбокрит (PCT); середній об'єм тромбоцита (MPV); ширина розподілу тромбоцита за об'ємом (PDW); кількість великих тромбоцитів (P-LCC); від-

носний об'єм великих тромбоцитів (P-LCR); лейкоцити (WBC); нейтрофіли (NEU); лімфоцити (LYM); моноцити (MON); еозинофіли (EOS); базофіли (BAS); великі молоді клітини (LIC).

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програмного забезпечення Exel (Microsoft, США), методом варіаційної статистики, статистично достовірними вважали зміни при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз змін еритроцитарних індексів на 21 добу експерименту свідчили про відсутність анемічних проявів, які викликані дією циклофосфаміду. Так, у дослідній групі тварин спостерігалось посилення еритропоезу, встановлене на основі достовірного ($p < 0,001$) збільшення абсолютного числа еритроцитів на 119,34 % та гемоглобіну ($p < 0,001$) на 113,49 % порівняно з показниками інтактною групи тварин (табл. 1, рис. 1).

Варто зазначити, що новоутворені еритроцити в дослідній групі тварин зберігають морфофункціональні параметри у межах норми, на що вказують незначні зміни MCV, MCH, MCHC. У тварин дослідної групи спостерігалось незначне достовірне зменшення ($p < 0,001$) MCV та ($p < 0,001$) MCH на 1,39 та 3,18 % та достовірне ($p < 0,001$) збільшення MCHC на 1,52 % порівняно з показниками інтактною групи тварин.

У віддалений період дії цитостатичного препарату ми виявили незначне збільшення гетерогенності популяції еритроцитів на основі зміни індексів анізоцитозу, а саме, RDW-CV та RDW-SD. Так, відсотковий розподіл еритроцитів за величиною RDW-CV достовірно ($p < 0,001$) збільшився на 16,12 %, а стандартне відхилення (різниця між найбільшим та найменшим діаметром еритроцитів) RDW-SD на 8,72 % порівняно з інтактною групою тварин (рис. 2).

Оцінка клітин мегакаріоцитарної ланки дозволяє стверджувати, що гематосупресія, спричинена болюсною дозою циклофосфаміду, та триденні послідовні ін'єкції G-CSF, спрямовані на компенсацію імуносупресії та подолання нейтропенії, не викликала пригнічення гемопоезу клітин даної ланки, про що свідчить збільшення таких параметрів, як PLT, PCT, P-LCC та P-LCR (табл. 2). Так, у тварин дослідної групи виявлено достовірне ($p < 0,001$) збільшення тромбокриту на 62,34 %, а загальна кількість тромбоцитів зросла на 61,87 % порівняно з показниками інтактною групи. Таким чином, ми констатуємо зміну тромбоцитарного гомеостазу за

Таблиця 1. Вплив циклофосфаміду на еритроцитарні індекси периферійної крові мишей Balb/c

Параметр	HGB, г/л	HCT, л/л	MCV, фл	MCHC, г/л
Інтактна група	84,5±9,39	0,469±0,18	49,875±2,37	302,0±2,14
Дослідна група	180,4±18,04	0,279±0,012	49,18±1,89	297,4±2,94

Примітка. $p < 0,001$, вірогідність відмінностей HGB, HCT, MCV, MCHC між контрольною і дослідними групами.

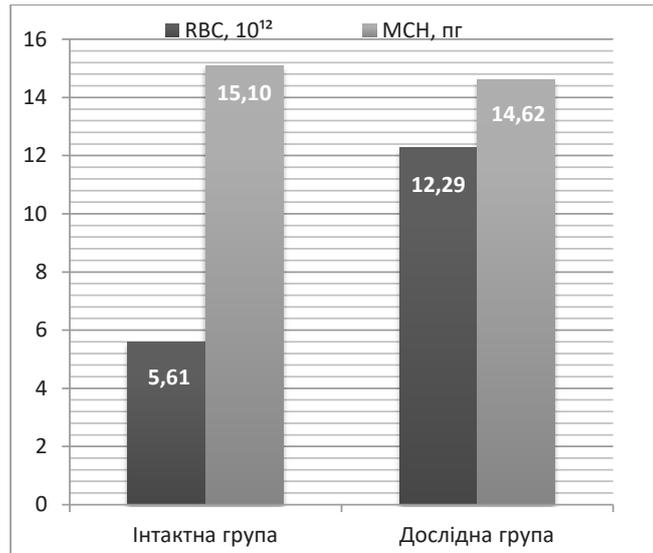


Рис. 1. Вплив циклофосфаміду на абсолютну кількість еритроцитів та середній вміст гемоглобіну в еритроциті периферійної крові мишей Balb/c.

Примітка. * – $p < 0,001$, зміни RBC достовірні відносно показників інтактних тварин; $p < 0,001$, зміни MCH достовірні відносно показників інтактних тварин.

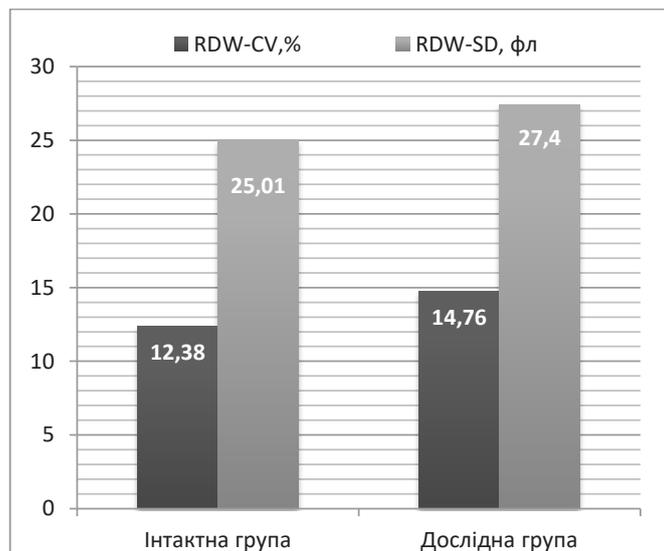


Рис. 2. Зміна гетерогенності еритроцитів на основі індексів анізоцитозу: коефіцієнта варіації (RDW-CV) та стандартного відхилення (RDW-SD).

Примітка. $p < 0,001$, вірогідність відмінностей RDW-CV між контрольною і дослідними групами; $p < 0,20$, вірогідність відмінностей RDW-SD між контрольною і дослідними групами.

Таблиця 2. Зміни клітин мегакаріоцитарної ланки, викликані циклофосфамідом та G-CSF

Параметр	PLT, 10 ⁹	PCT, л/л	P-LCC, 10 ⁹ /л
Інтактна група	284,0±9,45	21,75*10 ⁻⁴ ±0,001	45,0±1,54
Дослідна група	744,8±15,5	57,75*10 ⁻⁴ ±0,002	94,2±1,82

Примітка. $p < 0,001$, вірогідність відмінностей PLT, PCT, P-LCC між контрольною і дослідними групами.

рахунок активації тромбоцитів, що веде до утворення надмірної кількості фракції великих тромбоцитів, та підтверджується достовірним ($p < 0,001$) збільшенням у дослідній групі P-LCC на 52,23 % порівняно з показниками інтактної групи тварин.

Відмічено незначне зменшення середнього об'єму тромбоцитів на 7,57 %. Для виявлення або виключення анізотропії у клітинах мегакаріоцитарної ланки оцінено наступні параметри, а саме, PDW, MPV та P-LCR (рис. 3). Наростання гетерогенності популя-

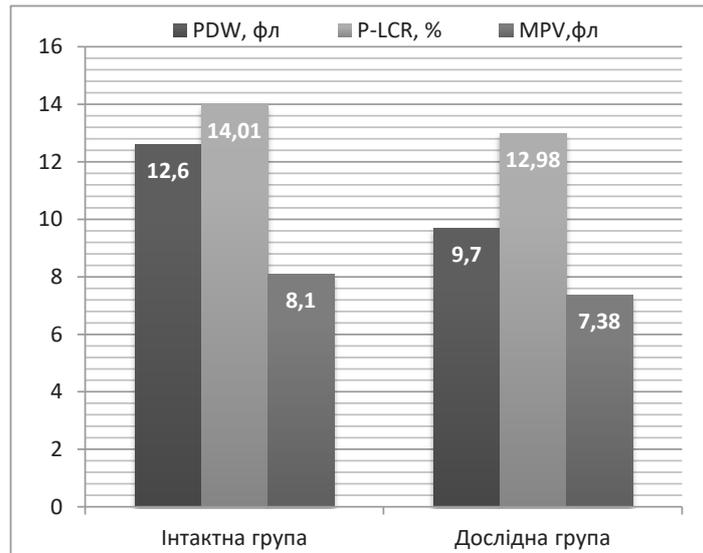


Рис. 3. Морфометричні характеристики гетерогенності та розміру популяції тромбоцитів (середній об'єм тромбоцита (MPV); ширина розподілу тромбоцита за об'ємом (PDW); відносний об'єм великих тромбоцитів (P-LCR)).

Примітка. $p < 0,001$, вірогідність відмінностей MPV, P-LCR між контрольною і дослідними групами; $p < 0,01$, вірогідність відмінностей PDW між контрольною і дослідними групами.

ції тромбоцитів оцінено на основі ширини розподілу тромбоцитів за об'ємом PDW. У дослідній групі даний параметр достовірно ($p < 0,01$) зменшився на 23,02 %.

Ми діагностуємо активацію тромбоцитарного гемопоезу в дослідній групі тварин, на що вказує достовірне ($p < 0,001$) збільшення P-LCC (табл. 2) на 52,23 %. Як було встановлено в ході клінічних та експериментальних досліджень, великі за розмірами (P-LCC) тромбоцити мають вищу концентрацію рецепторів на поверхні. Такі клітини демонструють більш високі показники агрегації та були причиною тромбоцитування [10].

На основі аналізу лейкоцитарної формули ми констатуємо, що болючна доза цитостатичного препарату, яка веде до імуносупресивного стану із тяжкими формами нейтропенії, була компенсована ін'єкціями гранулоцитарного колонієстимулювального фактора впродовж трьох послідовних днів, про що свідчить збільшення у дослідній групі тварин загального числа лейкоцитів у 5 разів порівняно з показниками інтактної групи тварин (рис. 4). У дослідній групі тварин на 21 добу експерименту ми виявили нейтрофільний лейкоцитоз, на що вказує збільшення числа NEU у 14,5 раза, який зумовлений

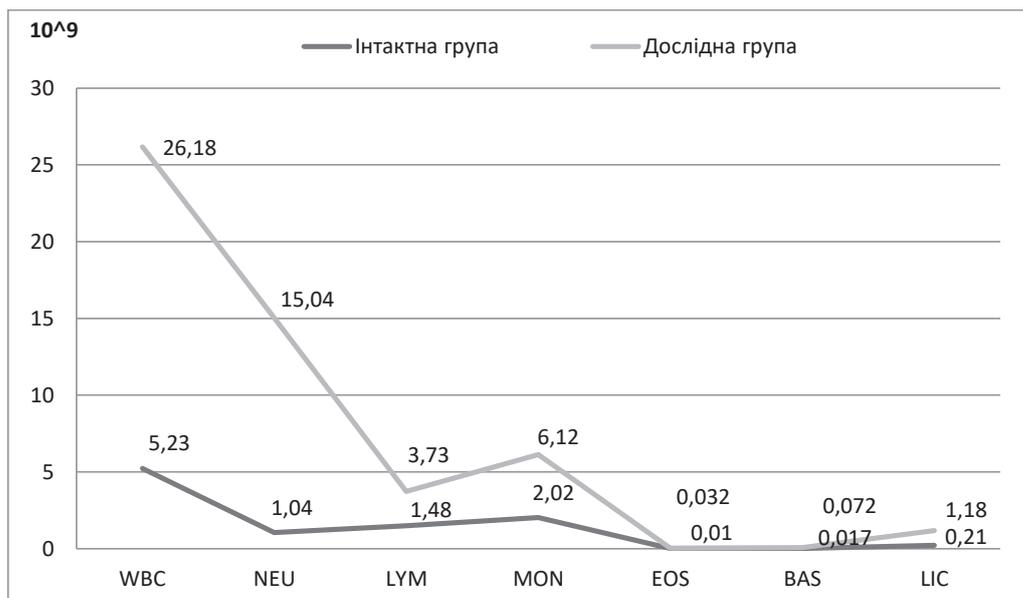


Рис. 4. Вплив циклофосфаміду та G-CSF на клітиний імунітет мишей Balb/c.

мобілізацією гемопоетичних стовбурових та прогеніторних клітин у периферійні органи кровотворення. Серед мієлоїдних клітин лейкоцитарного ряду спостерігається збільшення LYM, MON, EOS, BAS та LIC на 60,32; 66,99; 68,75; 76,39 та 82,2 % відповідно.

ВИСНОВКИ

На основі змін гематологічних індексів периферійної крові ми виявили посилення гематопоезу клітин мієлоїдної та мегакаріоцитарної ланки із компенсацією гематосупресії, викликаній циклофосфоамідом. У віддалений період експерименту

в тварин дослідної групи діагностоване посилення еритропоезу з абсолютною компенсацією анемічних проявів, спричинених дією цитостатика, та із збереженням морфометричних показників у межах норми в нових популяціях еритроцитів. Діагностовано активацію тромбоцитарного гемопоезу в дослідній групі тварин, на що вказує достовірне збільшення таких показників, як RLT, PCT, P-LCC та P-LCR. Оцінка лейкоцитарної формули свідчить, що імуносупресія, викликана дією циклофосфоаміду, повністю компенсована ін'єкціями G-CSF, що підтверджено збільшенням NEU у 14,5 раза.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. A novel variant on chromosome 7q22.3 associated with mean platelet volume, counts, and function / N. Soranzo, A. Rendon3, C. Gieger [et al.] // *Blood*. 2009. – Vol. 113 (16). – P. 3831–3837.
2. Association of mean platelet volume with risk of venous thromboembolism and mortality in patients with cancer. Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS) / J. Riedl, A. Kaider, EM. Reitter [et al.] // *Thromb. Haemost.* 2014. –Vol. 111 (4). – P. 670–678.
3. Consolini D. M. Thrombocytopenia in Infants and Children / D. M. Consolini // *Pediatrics in Review*. 2011. – Vol. 32 (4). – P. 135–151.
4. Mobilization by either cyclophosphamide or granulocyte colony-stimulating factor transforms the bone marrow into a highly proteolytic environment / J. P. Levesque, J. Hendy, Y. Takamatsu [et al.] // *Exp. Hematol.* – 2002. – Vol. 30 (5). – P. 440–449.
5. High-dose cyclophosphamide as salvage therapy for severe aplastic anemia. / R. A. Brodsky, A. R. Chen, I. Brodsky [et al.] // *Exp. Hematol.* – 2004. – Vol. 32 (5). – P. 435–440.
6. Increased mean platelet volume and immature platelet fraction as potential predictors of thrombotic complications in BCR/ABL-negative myeloproliferative neoplasms / J. Kissova, A. Bulikova, P. Ovesna [et al.] // *Int. J. Hematol.* – 2014. – Vol. 100 (5). – P. 429–436.

REFERENCES

1. Soranzo N, Rendon3 A, Gieger C. A novel variant on chromosome 7q22.3 associated with mean platelet volume, counts, and function. *Blood*. 2009;113(16): 3831-7.
2. Riedl J, Kaider A, Reitter EM. Association of mean platelet volume with risk of venous thromboembolism and mortality in patients with cancer. Results from the Vienna Cancer and Thrombosis Study (CATS). *Thromb Haemost.* 2014;111(4): 670-8.
3. Consolini DM. Thrombocytopenia in infants and children. *Pediatrics in Review*. 2011;32(4): 135-51.
4. Levesque JP, Hendy J, Takamatsu Y, Williams B. Mobilization by either cyclophosphamide or granulocyte colony-stimulating factor transforms the bone marrow into a highly proteolytic environment. *Exp Hematol*. 2002;30(5): 440-9.
5. Brodsky RA, Chen AR, Brodsky I. High-dose

7. Mean platelet volume as a biomarker for thyroid carcinoma / Z. Bayhan, S. Zeren, I. Ozbay [et al.] // *Int. Surg.* – 2016. – Vol. 101 (1–2). – P. 50–53.
8. Mean platelet volume could be a possible biomarker for papillary thyroid carcinomas / S. Baldane, S. H. Ipekci, M. Sozen, L. Kebapcilar // *Asian. Pac. J. Cancer. Prev.* –2015. –Vol. 16 (7). – P. 2671–2674.
9. Platelet size for distinguishing between inherited thrombocytopenias and immune thrombocytopenia: a multicentric, real life study / P. Noris, C. Klersy, P. Gresele [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 2013. – Vol. 162 (1). – P. 112–119.
10. Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario / M. M. Khandekar, A. S. Khurana, S. D. Deshmukh [et al.] // *Journal of Clinical Pathology*. – 2006. – No. 59. – P. 146–149.
11. Role of the spleen in cyclophosphamide-induced hematosuppression and extramedullary hematopoiesis in mice / Yuli Wang, Qinggang Meng, Haiquan Qiao [et al.] // *Archives of Medical Research*. – 2009. – Vol. 40 (4). – P. 249–255.
12. Вплив ендоксану на імунну систему щурів / Р. Ф. Амінов, О. К. Фролов, А. С. Амінова [та ін.] // *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки*. – 2019. – № 1. – С. 5–13.
13. Полохов Д. М. Современные подходы в лабораторной диагностике тромбоцитарного гемостаза / Д. М. Полохов, М. А. Пантелеев // *Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа*. – 2016. – Т. 2, № 2. – С. 271– 290.

cyclophosphamide as salvage therapy for severe aplastic anemia. *Exp Hematol*. 2004;32(5): 435-40.

6. Kissova J., Bulikova A., Ovesna P. Increased mean platelet volume and immature platelet fraction as potential predictors of thrombotic complications in BCR/ABL-negative myeloproliferative neoplasms. *Int J Hematol*. 2014;100(5): 429-36.
7. Bayhan Z, Zeren S, Ozbay I. Mean platelet volume as a biomarker for thyroid carcinoma. *Int Surg*. 2016;101(1-2): 50-3.
8. Baldane S, Ipekci SH, Sozen M, Kebapcilar L. Mean platelet volume could be a possible biomarker for papillary thyroid carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(7): 2671-4.
9. P. Noris, Klersy C, Gresele P. Platelet size for distinguishing between inherited thrombocytopenias and

immune thrombocytopenia: a multicentric, real life study. *Br J Haematol.* 2013;162(1): 112-9.

10. Khandekar MM, Khurana AS, Deshmukh SD. Platelet volume indices in patients with coronary artery disease and acute myocardial infarction: an Indian scenario. *Journal of Clinical Pathology.* 2006;59: 146-9.

11. Yuli Wang, Qinggang Meng, Haiquan Qiao, Hongchi Jiang, Xueying Sun. Role of the Spleen in Cyclophosphamide-induced Hematosuppression and

Extramedullary Hematopoiesis in Mice. *Archives of Medical Research.* 2009;40(4): 249-55.

12. Aminov RF, Frolov AK, Aminova AS, Grankina AA, Sviridenko AP. [Effect of endoxane on the immune system of rats]. *Visnyk Zaporizkoho natsionalnoho universytetu. Biolohichni nauky.* 2019;1: 5-13. Ukrainian.

13. Polokhov D, Panteleev M. [Modern approaches in the laboratory diagnostics of platelet-dependent hemostasis]. *Gematologiya. Transfuziologiya. Vostochnaya Yevropa.* 2016;2(2) : 271-90. Russian

Отримано 09.10.20