

Состояние системы гемостаза у пациентов с миелопролиферативным новообразованием: первичные результаты

Е.А. Серёгина^{1,2}, П.В. Краличкин¹, А.В. Богданов¹, Д.Б. Флоринский¹, А.В. Пшонкин¹, М.Д. Сысоев^{1,2}, П.А. Жарков¹, Н.С. Сметанина¹, Г.А. Новичкова¹

¹ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук; Россия, 109029, Москва, ул. Средняя Калитниковская, 30

Контактные данные: Елена Александровна Серёгина elsereg@inbox.ru

Введение. Эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) — это клональное Ph-негативное миелопролиферативное новообразование (МПН) с неконтролируемой пролиферацией мегакариоцитов, характеризующееся повышенным числом крупных и гигантских мегакариоцитов в костном мозге, тромбоцитозом, а также высоким риском развития тромбозов и/или кровотечений. В отличие от взрослых, у которых на первый план выходят геморрагические и тромботические события, большинство пациентов детского возраста не имеют клинических проявлений. Однако, основываясь на полученных у взрослых данных, ЭТ и истинная полицитемия (ИП) у детей потенциально могут сопровождаться риском как тромботических, так и геморрагических осложнений. Немаловажным аспектом, влияющим на риск данных осложнений, являются изменения в системе гемостаза, которые могут быть выявлены у пациентов с ЭТ и ИП.

Цель исследования — оценка системы свертывания крови у детей с ЭТ и ИП при помощи скрининговых коагулологических тестов, агрегатометрии, интегральных тестов, значений активности и уровня антигена фактора Виллебранда (vWF:Ag) и маркеров эндотелиальной дисфункции.

Материалы и методы. В исследование включены 59 пациентов с диагнозом ЭТ, а также 13 пациентов с вторичным тромбоцитозом и 23 пациента с эритроцитозом. Исследовали значения активированного частичного тромбопластинового времени, протромбинового времени/протромбинового индекса по Квику, тромбинового времени, расчетную концентрацию фибриногена, активность антитромбина, концентрацию D-димера, ристоцетин-кофакторную активность фактора Виллебранда, vWF:Ag, уровни тромбомодулина и эндотелина-1. Оценивали агрегацию тромбоцитов с аденозиндифосфатом (АДФ), коллагеном, ристоцетином. Выполняли тромбоэластографию, оценивали тромбодинамику. Методом проточной цитометрии определяли количество прокоагулянтных микровезикул.

Результаты. Показатели рутинных коагулологических исследований, а также активность антитромбина III, концентрация D-димера, уровни vWF:Ag, тромбомодулина и эндотелина-1 находились в пределах референсных значений у большинства пациентов. При исследовании агрегатограммы снижение агрегации тромбоцитов с АДФ наблюдалось у 29 % пациентов с ЭТ, с коллагеном — у 37 % и с ристоцетином — у 47 %. Выявлена статистически значимая корреляция между снижением агрегационной способности тромбоцитов и ростом их количества в крови ($p < 0,05$). Повышение агрегации с АДФ и коллагеном наблюдалось у 11 и 18 % пациентов соответственно, что, в свою очередь, может указывать на тенденцию к потенциальным протромботическим и микроциркуляторным нарушениям у пациентов с ЭТ. Приобретенный синдром Виллебранда наблюдался у 54 % пациентов. Корреляционный анализ показал, что при экстремальном тромбоцитозе (количество тромбоцитов $> 1500 \times 10^9/\text{л}$) у всех пациентов с ЭТ наблюдался приобретенный синдром Виллебранда. Кроме того, у пациентов с экстремальным тромбоцитозом отмечено увеличение таких параметров тромбоэластографии, как угол α и максимальная амплитуда, а также скоростей роста сгустка в тесте тромбодинамики. Проведенный корреляционный анализ показал значимые зависимости параметров тромбоэластографии и теста тромбодинамики как от количества тромбоцитов, так и от количества прокоагулянтных микровезикул ($p < 0,05$).

Заключение. Несмотря на полиморфность клинико-лабораторных проявлений ЭТ у детей, выявлена тесная взаимосвязь между повышением количества тромбоцитов и изменением их агрегационной функции, а также в ряде случаев — показателей интегральных тестов оценки свертывающей системы крови. У всех пациентов с геморрагическими проявлениями отмечались лабораторные признаки приобретенного синдрома Виллебранда.

Ключевые слова: миелопролиферативное новообразование, эссенциальная тромбоцитемия, эритроцитоз, тромбоцитоз, свертывание крови, дети, гемостаз, микровезикулы, интегральные тесты гемостаза, агрегация тромбоцитов

Для цитирования: Серёгина Е.А., П.В. Краличкин, А.В. Богданов, Д.Б. Флоринский, А.В. Пшонкин, Сысоев М.Д., Жарков П.А., Сметанина Н.С., Новичкова Г.А. Состояние системы гемостаза у пациентов с миелопролиферативным новообразованием: первичные результаты. Российский журнал детской гематологии и онкологии. 2025;12(3):47–55.

Информация об авторах

Е.А. Серёгина: к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинического гемостаза НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, младший научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов клеточного гемостаза ЦТП ФХФ РАН, e-mail: elsereg@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7534-3863>, Web of Science ResearchID: A-7499-2014

П.В. Краличкин, врач-детский онколог стационара кратковременного лечения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: pavel.kralichkin@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8088-1749>

А.В. Богданов: аспирант, врач-детский онколог стационара кратковременного лечения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: alexeivld@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6028-9860>

Д.Б. Флоринский: к.м.н. врач-гематолог стационара кратковременного лечения и консультативного отделения НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: dmitriy.florinskiy@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4555-9332>

А.В. Пшонкин: к.м.н., доцент ВАК, врач-гематолог, врач-детский онколог, заведующий стационаром кратковременного лечения НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: alexey.pshonkin@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-2057-2036>
М.Д. Сысоев: лаборант-исследователь лаборатории клеточной биологии и трансляционной медицины и лаборатории клеточного гемостаза и тромбоза НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, стажер-исследователь лаборатории молекулярных механизмов клеточного гемостаза ЦТП ФХФ РАН, e-mail: maksim.sysoev@dgoi.ru; <https://orcid.org/0009-0002-7186-1978>, Web of Science Research ID: NDS-4940-2025
П.А. Жарков: д.м.н., доцент ВАК, врач-педиатр, врач-гематолог консультативного отделения, заведующий лабораторией патологии гемостаза, профессор кафедры гематологии и клеточных технологий НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: pavel.zharkov@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>, Web of Science ResearcherID: AAR-9203-2020
Н.С. Сметанина: д.м.н., профессор, заместитель директора Института гематологии, иммунологии и клеточных технологий, профессор кафедры гематологии и клеточных технологий, директор Управления по научно-аналитической работе с регионами НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: nataliya.smetanina@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2756-7325>
Г.А. Новичкова: д.м.н., профессор, научный руководитель НИИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, главный внештатный детский специалист онколог-гематолог Минздрава России, e-mail: galina.novichkova@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Вклад авторов

Е.А. Серёгина: сбор данных, анализ научного материала, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, подготовка списка литературы, составление резюме

Все авторы: разработка дизайна статьи, научная редакция статьи

The state of the hemostasis system in patients with myeloproliferative neoplasm: primary results

E.A. Seregina^{1,2}, P.V. Kralichkin¹, A.V. Bogdanov¹, D.B. Florinsky¹, A.V. Pshonkin¹, M.D. Sysoev^{1,2}, P.A. Zharkov¹, N.S. Smetanina¹, G.A. Novichkova¹

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samoy Mashela St., Moscow, 117997, Russia; ²Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology of the Russian Academy of Sciences; 30 Srednyaya Kalitnikovskaya St., Moscow, 109029, Russia

Introduction. Essential thrombocythemia (ET) is a type of clonal myeloproliferative neoplasm, which is characterized by uncontrolled proliferation of megakaryocytes. It is associated with an increased number of large and giant megakaryocytes in the bone marrow, leading to thrombocytosis and a high risk of both thrombosis and bleeding. Unlike in adults, pediatric patients with ET often do not experience any clinical manifestations of the disease. However, based on data from adult studies, it is possible that ET and polycythemia vera in children can also lead to both thrombotic and hemorrhagic complications. Changes in the hemostatic system are an important factor that can contribute to these risks.

The aim of this study was to evaluate the state of blood coagulation system in children with thrombocytosis and erythrocytosis using standard coagulation tests, aggregometry, global hemostasis assays, levels of von Willebrand factor antigen (vWF:Ag) and activity and markers of endothelial dysfunction.

Materials and methods. Activated partial thromboplastin time, prothrombin time, thrombin time, fibrinogen, antithrombin III, D-dimer, vWF:Ag and activity RCo of von Willebrand factor, platelet aggregation with adenosine diphosphate (ADP), collagen, ristocetin, thromboelastography and thrombodynamics, endothelin-1 and thrombomodulin levels. The concentration of procoagulant microparticles derived from the patients' plasma was estimated by flow cytometry. 59 patients diagnosed with ET were enrolled in this study. 13 children with secondary thrombocytosis and 23 with erythrocytosis were enrolled as the control groups.

Results. The results of routine coagulation tests, as well as measurements of antithrombin III activity, D-dimer levels, vWF:Ag, thrombomodulin and endothelin-1, were within the normal range in most patients. The decrease in platelet aggregation was observed after stimulation with ADP in 29 % of patients, with collagen in 37 %, and with ristocetin in 47 %. A statistically significant correlation was found between the decrease in platelet aggregation and the increase in platelet counts. Increased aggregation was seen with ADP and collagen in only 11 and 18 % of patients, respectively, which may indicate a potential prothrombotic tendency and microcirculatory abnormalities in patients with ET.

Acquired von Willebrand syndrome was present in 54 % of patients. Analysis showed that among patients with extreme thrombocytosis ($> 1500 \times 10^9/L$), all had acquired von Willebrand disease. In addition, in patients with extreme thrombocytosis, there was an increase in parameters of thromboelastography, such as angle α and maximum amplitude, as well as clot growth rates in the thrombodynamics test. Correlation analysis showed significant dependences ($p < 0.05$) between the parameters of thromboelastography and thrombodynamics on both platelet count and number of procoagulant microvesicles.

Conclusions. Despite the differences in clinical manifestations in children with ET, a close correlation has been identified between increased platelet counts and changes in their aggregation function, as well as, between increased platelet counts and changes in global hemostasis assays. All patients with hemorrhagic symptoms had laboratory signs of acquired von Willebrand syndrome.

Key words: myeloproliferative neoplasm, essential thrombocythemia, erythrocytosis, thrombocytosis, blood coagulation, children, hemostasis, microparticles, global hemostasis assays, platelet aggregation

For citation: Seregina E.A., Kralichkin P.V., Bogdanov A.V., Florinsky D.B., Pshonkin A.V., Sysoev M.D., Zharkov P.A., Smetanina N.S., Novichkova G.A. The state of the hemostasis system in patients with myeloproliferative neoplasm: primary results. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology. 2025;12(3):47–55.

Information about the authors

E.A. Seregina: Cand. of Sci. (Biol.), Leader Researcher at the Laboratory of Clinical Hemostasis of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Junior Researcher at the Center for Theoretical Problems of Physico-Chemical Pharmacology of the Russian Academy of Sciences, e-mail: elsereg@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7534-3863>, Web of Science ResearchID: A-7499-2014

P.V. Kralichkin: Pediatric Oncologist at the Short-Term Treatment Hospital of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, e-mail: pavel.kralichkin@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8088-1749>

A.V. Bogdanov: Graduate Student, Pediatric Oncologist at the Short-Term Treatment Hospital of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, e-mail: alexeivld@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6028-9860>

D.B. Florinsky: Cand. of Sci. (Med.), Hematologist of the Short-Term Treatment Hospital and Outpatient Consultative Unit of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, e-mail: dmitriy.florinskiy@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4555-9332>
A.V. Pshonkin: Cand. of Sci. (Med.), Hematologist, Pediatric Oncologist, Head of a Short-Term Inpatient Department of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, e-mail: alexey.pshonkin@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-2057-2036>
M.D. Sysoev: Laboratory Research Assistant in the Laboratory of Cell Biology and Translational Medicine and in the Laboratory of Cellular Hemostasis and Thrombosis of Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, research intern in the Laboratory of Molecular Mechanisms of Cellular Hemostasis of Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology of the Russian Academy of Science, e-mail: maksim.sysoev@dgoi.ru; <https://orcid.org/0009-0002-7186-1978>, Web of Science Research ID: NDS-4940-2025
P.A. Zharkov: Dr. of Sci. (Med.), Hematologist of Outpatient Consultative Unit, Head of Laboratory of Hemostasis Pathology, Professor of the Department of Hematology and Cell Technologies of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, e-mail: pavel.zharkov@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0003-4384-6754>, Web of Science ResearcherID: AAP-9203-2020
N.S. Smetanina: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Deputy Director of the Institute of Hematology, Immunology and Cellular Technologies, Professor of the Department of Hematology and Cellular Technologies, Director of the Department for Scientific and Analytical Work with Regions of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, e-mail: nataliya.smetanina@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2756-7325>
G.A. Novichkova: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Scientific Director of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Chief Freelance Pediatric Specialist Oncologist-Hematologist of the Ministry of Health of the Russia, e-mail: galina.novichkova@dgoi.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2322-5734>

Authors' contributions

E.A. Seregina: data collection, analysis of scientific material, analysis of obtained data, review of publications on article topics, preparation of reference list, compilation of abstracts

All authors: article design development, editing of the article

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Исследование одобрено независимым этическим комитетом и утверждено решением ученого совета ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. /

Compliance with patient rights and principles of bioethics. The study was approved by the Independent Ethics Committee and the Scientific Council of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia.

Введение

Эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) представляет собой хроническое Ph-негативное миелопролиферативное новообразование (МПН), характеризующееся клональным увеличением продукции тромбоцитов. К другим проявлениям заболевания относят лейкоцитоз, спленомегалию, тромбоз, кровотечение, микроциркуляторные симптомы, зуд и риск лейкемической или фиброзной трансформации [1–5].

Взрослые пациенты с ЭТ подвержены более высокому риску сосудистых катастроф, частота развития которых может достигать 31 % [6]. Тромбогеморрагические осложнения при данном заболевании являются проявлениями нарушений гемостатического равновесия.

Клинические проявления у детей с ЭТ, как правило, носят менее выраженный и специфический характер. При этом важно отметить, что, в отличие от взрослых, у пациентов детского возраста с МПН до сих пор отсутствуют общепризнанные критерии начала циторедуктивной терапии и шкалы оценки рисков развития тромбогеморрагических состояний, а доступные данные о характерных изменениях со стороны свертывающей системы крови представлены единичными работами [3–5]. Все это диктует необходимость проведения исследований, посвященных оценке клинико-лабораторных особенностей свертывающей системы крови у детей с ЭТ и истинной полицитемией (ИП).

Целью нашего исследования стала оценка состояния системы гемостаза у детей с ЭТ.

Материалы и методы

В моноцентровое ретроспективно-проспективное исследование включены 59 пациентов с диагнозом ЭТ (36 девочек и 23 мальчика) в возрасте от 3 до 17 лет (медиана возраста — 13 лет): 6 — с драйверной мутацией гена *CALR*, 13 — с драйверной мутацией гена *JAK2*, 1 — с драйверной мутацией гена *MPL*, у остальных пациентов драйверные мутации не обнаружены. Также в исследование были включены 13 пациентов с вторичным тромбоцитозом (11 девочек и 2 мальчика) в возрасте от 2 до 16 лет (медиана возраста — 9 лет) и 23 пациента с эритроцитозом (5 девочек и 18 мальчиков) в возрасте от 5 до 17 лет (медиана возраста — 13 лет): 5 детей с семейным эритроцитозом и 18 с ИП.

Диагнозы устанавливались согласно критериям Всемирной организации здравоохранения от 2022 г. для взрослых пациентов [7].

Кровь у пациентов забиралась в пробирку Monovette 3 мл с 0,106М буфера цитрата натрия (рН 5,5) в соотношении объема крови к антикоагулянту 9:1. Кровь была обработана путем центрифугирования при 1600g в течение 15 мин для получения бедной тромбоцитами плазмы и 200g в течение 10 мин для получения богатой тромбоцитами плазмы. Определение значений активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ)/протромбинового индекса по Квику, тромбинового времени (ТВ), расчетной концентрации фибриногена, активности антитромбина III, концентрации D-димера, ристоцетин-кофакторной активности (vWF:RCo) и антигена (vWF:Ag) фак-

тора Виллебранда проводилось на автоматическом коагулометре ACL TOP 700 с использованием свежей бедной тромбоцитами плазмы и реагентов HemosIL (Instrumentation laboratory, США) согласно рекомендациям производителя. Кроме того, свежая свободная от тромбоцитов плазма (центрифугирование при 10 000g в течение 5 мин) была использована для оценки тромбодинамики с использованием тест-системы «прибор–реагент» Регистратора тромбодинамики (ГемаКор, Россия). Часть бедной тромбоцитами плазмы была заморожена в морозильной камере при температуре -80°C для последующего выполнения исследований концентрации эндотелина-1 и тромбомодулина. Данные исследования выполнялись с помощью наборов иммуноферментного анализа (Cloud-Clone, Китай) на планшетном ридере ThermoMax Pro (Thermo Fisher Scientific, США). Микровезикулы выделялись из цитратной крови путем центрифугирования и 3-кратного отмывания в буфере с последующей оценкой их количества с помощью метода проточной цитометрии (цитометр NovoCyte Flow Cytometer, ACEA Biosciences Inc.). Определяли концентрацию всех прокоагулянтных микровезикул, пометив их флуоресцентной меткой с аннексином V. Богатая тромбоцитами плазма была использована незамедлительно после центрифугирования для оценки агрегантной способности тромбоцитов по методу Борна. Оценивали агрегацию тромбоцитов с аденозиндифосфатом (АДФ), коллагеном, ристоцетином на анализаторе агрегации Биола АЛАТ-2 (Россия) с использованием реагентов Агренам (Россия). Тромбоэластография (ТЭГ) без активации выполнялась на цельной крови с использованием анализатора TEG 5000 (Haemoscope, США).

Критерии включения пациентов в исследование:

- возраст от 0 до 18 лет;
- подтвержденный диагноз ЭТ, ИП, семейного эритроцитоза, вторичного тромбоцитоза;
- наличие подписанной формы добровольного информированного согласия законным представителем пациента.

Критерии исключения:

- невозможность проведения лабораторного обследования;
- отзыв добровольного информированного согласия законным представителем пациента/нежелание пациента продолжать участие в исследовании.

Обработка данных и статистический анализ

Статистическую обработку проводили с использованием программного обеспечения OrigiPro (США). Для сравнения совокупностей данных использовали U-критерий Манна–Уитни. В целях изучения связи между явлениями, представленными количественными данными, применяли коэффициент корреляции Спирмена (r). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Клинические проявления сосудистых событий отмечались у 15 (25,4 %) из 59 пациентов: у 3 — проявления геморрагического синдрома (экхимозы, носовые кровотечения в анамнезе), у 12 — микроциркуляторные нарушения (онемение конечностей, головные боли).

Результаты стандартной коагулограммы (АЧТВ, протромбиновый индекс по Квику, ТВ, концентрации фибриногена, антитромбина III, D-димера) не показали значимых различий между пациентами с ЭТ и детьми со вторичным тромбоцитозом, а также между пациентами с ЭТ и детьми с эритроцитозом и находились в пределах референсных значений в большинстве случаев (90 %).

Результаты агрегации тромбоцитов с АДФ, коллагеном и ристоцетином представлены на рис. 1. Из 59 пациентов с ЭТ у 16 (27 %) была снижена агрегация с АДФ, у 21 (36 %) — с коллагеном и у 27 (46 %) — с ристоцетином. Тем не менее статистически достоверных различий в параметрах агрегации тромбоцитов в исследованных группах не выявлено.

На корреляционных графиках (рис. 2) продемонстрирована статистически значимая тенденция: чем больше число тромбоцитов у пациента, тем ниже их агрегационная способность.

Несмотря на отсутствие статистически значимых отличий концентрации vWF:Ag между пациентами с ЭТ, вторичным тромбоцитозом и эритроцитозом (рис. 3a), при исследовании vWF:RCo было выявлено статистически достоверное снижение данного показателя в группе пациентов с ЭТ по сравнению с детьми с эритроцитозом (рис. 3б), в связи с чем дополнительно исследовали соотношение vWF:RCo/vWF:Ag в данных группах. Продemonстрировано, что у 32 пациентов с ЭТ и у 4 детей с вторичными тромбоцитозами данное соотношение составило $< 0,7$.

Выявлено, что изменение vWF:RCo у пациентов с ЭТ обратно пропорционально количеству тромбоцитов ($r = -0,55$; $p < 0,001$). У всех пациентов с количеством тромбоцитов $> 1500 \times 10^9/\text{л}$ наблюдалось снижение vWF:RCo. Интересно также, что все пациенты с геморрагическим синдромом имели лабораторные признаки приобретенного синдрома Виллебранда.

Статистически достоверных различий между концентрациями таких маркеров эндотелиальной дисфункции, как эндотелин-1 и тромбомодулин, в группах пациентов с ЭТ, реактивным тромбоцитозом и эритроцитозом получено не было. Все значения находились в пределах референсных интервалов.

Статистически достоверных различий между показателями инициации свертывания в интегральных тестах (задержка роста сгустка Ptag в тромбодинамике и время реакции R в ТЭГ) выявлено не было. Отмечены статистически значимые различия между группой пациентов с эритроцитозами и группой пациентов с ЭТ как в параметрах ТЭГ (угол α (рис. 4a), максимальная амплитуда (МА) (рис. 4б)), так и в параметрах

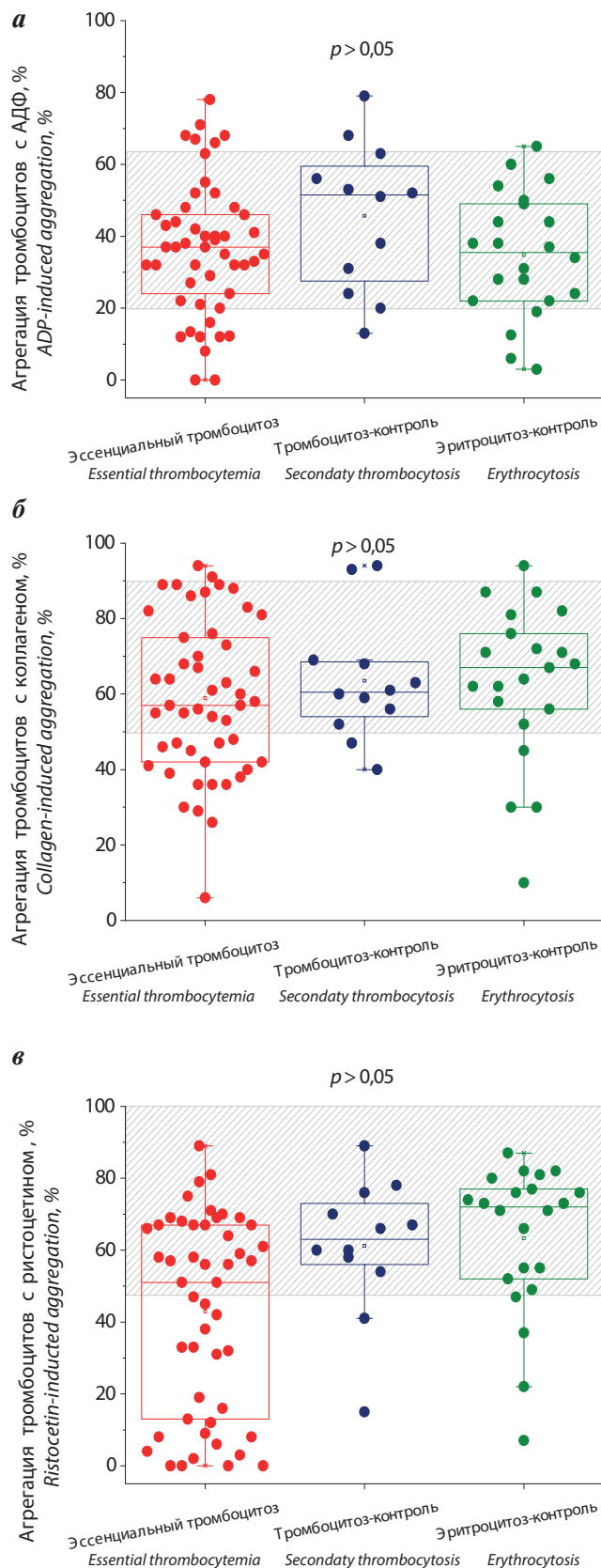


Рис. 1. Результаты исследования агрегации тромбоцитов с АДФ (а), коллагеном (б) и ристоцетином (в)

Fig. 1. Platelets aggregation results with ADP (a), collagen (б) and ristocetin (в)

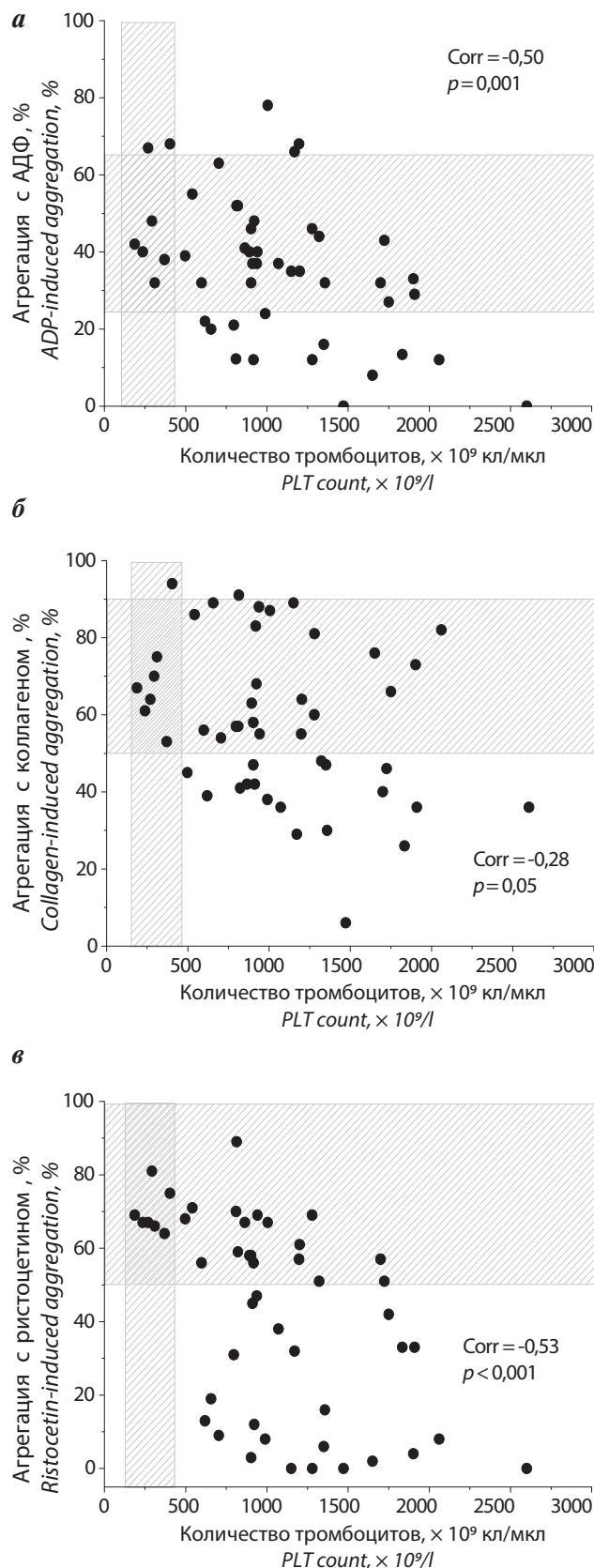


Рис. 2. Корреляция между количеством тромбоцитов и результатами их агрегации с АДФ (а), коллагеном (б) и ристоцетином (в) у пациентов с ЭТ

Fig. 2. Correlation between platelets count and aggregation tests with ADP (a), collagen (б), ristocetin (в) in patient with essential thrombocythemia (ET)

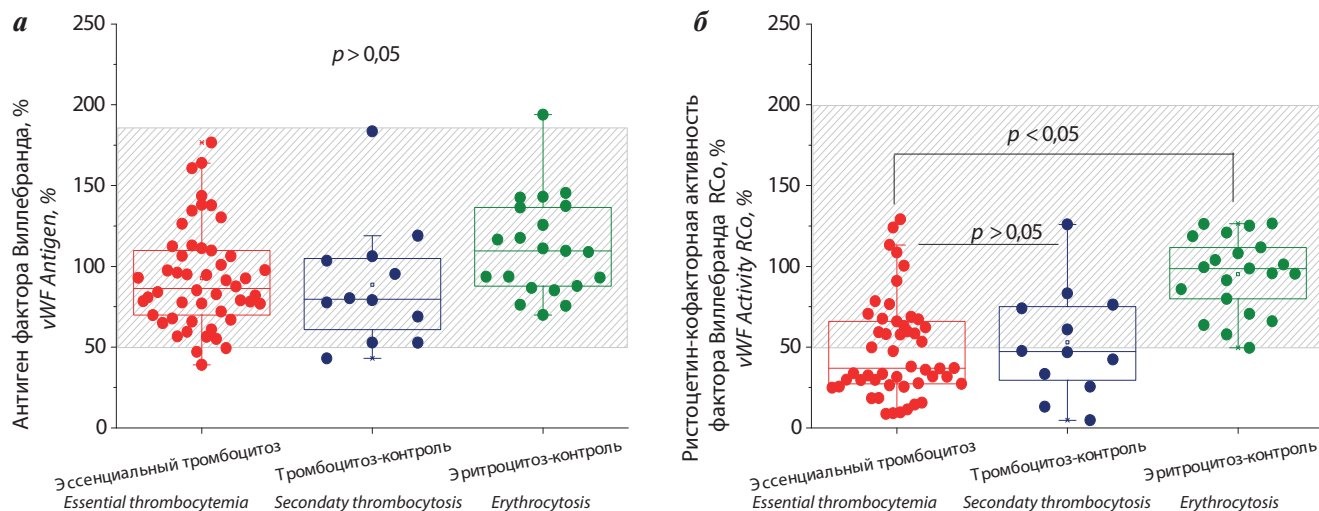


Рис. 3. Результаты исследования концентрации vWF:Ag (а) и vWF:RCo (б) у пациентов с ЭТ

Fig. 3. von Willebrand factor antigen (a) and activity RCo (б) in patient with ET

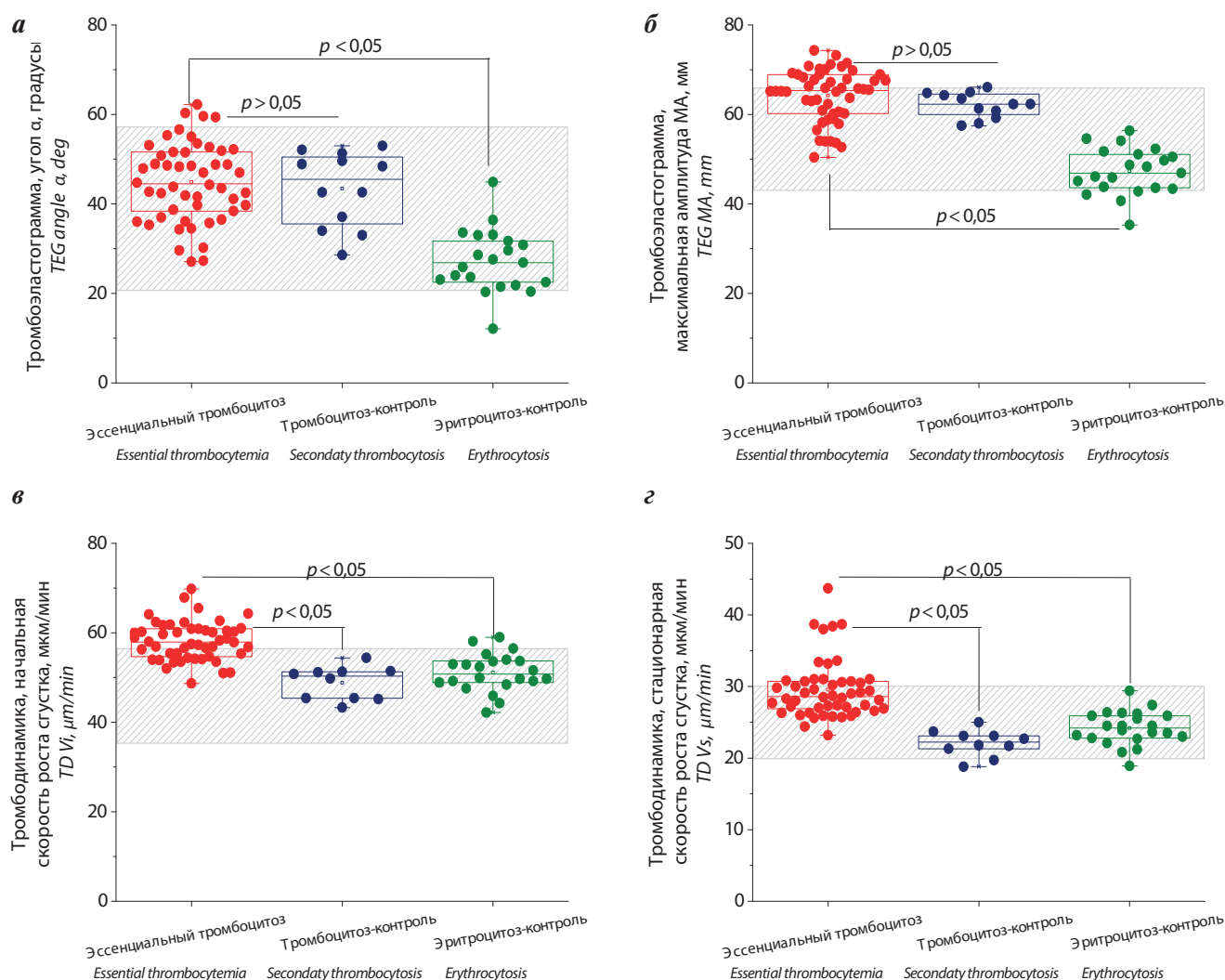


Рис. 4. ТЭГ: угол α (а) и МА (б); тромбодинамика: начальная (в) и стационарная (г) скорости роста сгустка

Fig. 4. Thromboelastography: angle α (a) and maximum amplitude (б); thrombodynamics: initial Vi (в) and stationary Vs (г) clot growth rates

тромбодинамики (скорости роста сгустка: начальная (рис. 4а) и стационарная (рис. 4з)). Причем по последним двум показателям отличия также наблюдаются между группами пациентов с ЭТ и реактивным тромбоцитозом. Лабораторные признаки усиления свертывания, ассоциированные с увеличением числа тромбоцитов, были выявлены у 24 (41 %) пациентов в группе ЭТ по тромбодинамике и у 27 (46%) пациентов в группе ЭТ по данным ТЭГ. МА и угол α в ТЭГ напрямую коррелировали с количеством тромбоцитов, так же как и начальная и стационарная скорости роста сгустка в тесте тромбодинамики показали четкую тенденцию увеличения у пациентов с большим числом тромбоцитов ($r = 0,41, p = 0,005$ для угла α ; $r = 0,71, p < 0,001$ для МА; $r = 0,47, p = 0,001$ для начальной скорости роста сгустка и $r = 0,55, p = 0,001$ для стационарной скорости роста сгустка). Прокоагулянтная активность в тестах тромбодинамики (начальная и стационарная скорости) и ТЭГ (МА) возрастает с ростом концентрации прокоагулянтных микровезикул (рис. 5).

При анализе исследованных лабораторных показателей статистически достоверных различий между

пациентами с ЭТ с геморрагическими проявлениями в анамнезе и без таковых получено не было.

Обсуждение

ЭТ — весьма гетерогенное по клиническим проявлениям заболевание. Клиническая картина ЭТ у детей вариабельна: от полностью бессимптомного состояния, характеризующегося только повышенным числом тромбоцитов в гемограмме, до состояний, сопровождающихся кровотечениями или нарушениями микроциркуляторного русла [2, 8–10].

В нашем исследовании было показано, что у большинства пациентов исследуемые показатели стандартной коагулограммы в 90 % случаев находились в пределах референсных интервалов. Известно, что стандартные времена свертывания нечувствительны к гиперкоагуляционным нарушениям гемостаза [11–14]. У 5 (8 %) пациентов с ЭТ наблюдалось легкое снижение концентрации фибриногена (< 2 г/л, но $> 1,5$ г/л), интересно, что 2 пациента с нарушениями со стороны микроциркуляторного русла оказались в этой группе. Возможно, данный процесс был связан с потреблением фибриногена на фоне акти-

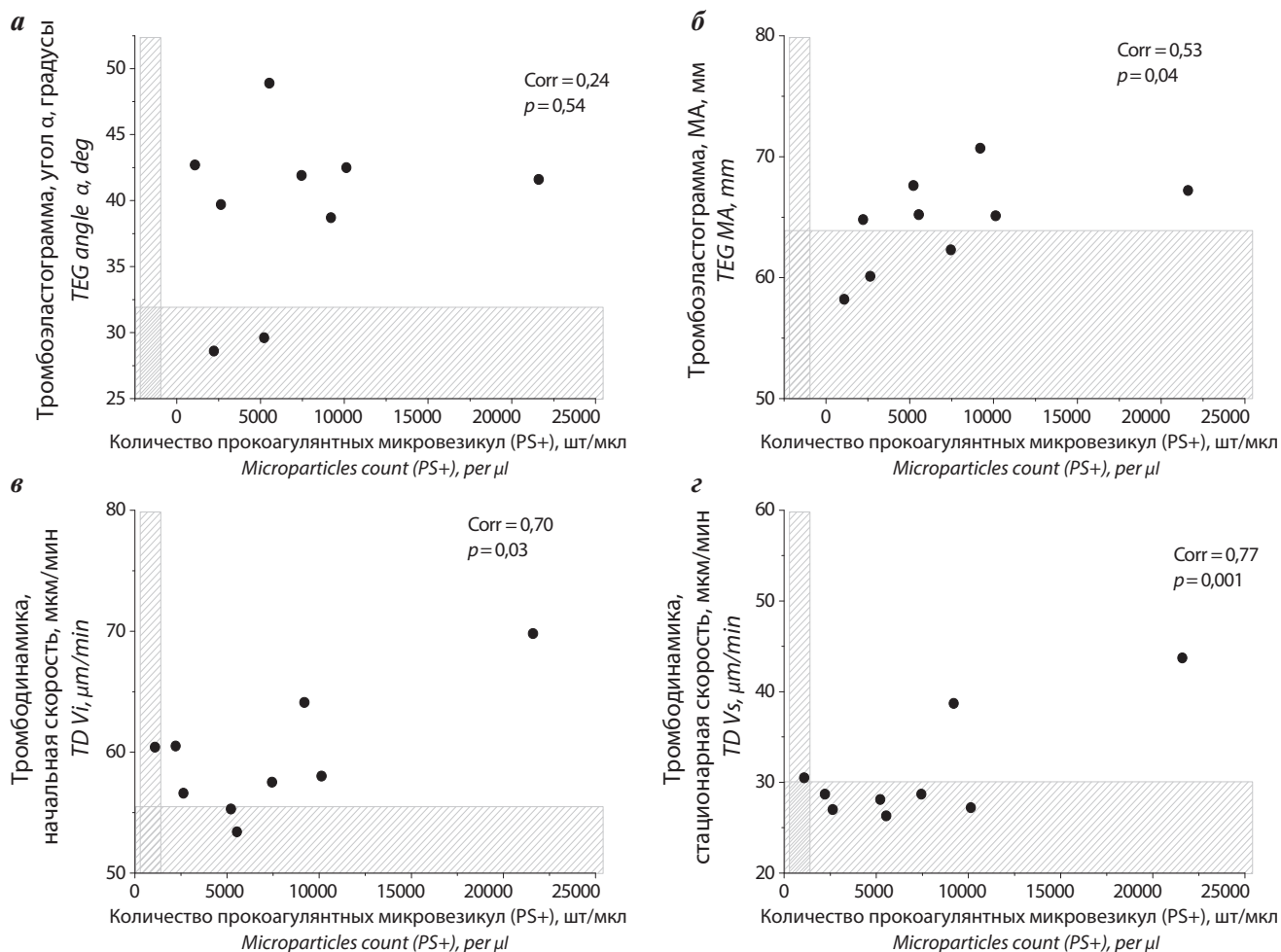


Рис. 5. Зависимость параметров ТЭГ (угол α (а) и МА (б)) и тромбодинамики (начальная (в) и стационарная (з) скорости роста сгустка) от количества прокоагулянтных микровезикул. * — норма для концентрации микровезикул рассчитана по 10 образцам здоровых добровольцев старше 18 лет

Fig. 5. Correlation between microparticles count and thromboelastography (angle α (a), maximum amplitude (б)) and thrombodynamics (initial (в), stationary (з)). * — reference values counted from 10 samples of healthy donors elder than 18 years old

вации системы свертывания у этих пациентов. При этом у пациентов с геморрагическими проявлениями концентрация фибриногена оставалась в пределах референсных значений. Также концентрация фибриногена была снижена у 4 пациентов с вторичным тромбоцитозом и у 3 детей с эритроцитозом. Удлинение ТВ наблюдалось у 5 пациентов с ЭТ, 2 детей с вторичным тромбоцитозом и 3 детей с эритроцитозом. Продemonстрировано, что удлинение ТВ было связано с изменениями в активности фибриногена ($r = 0,60$; $p < 0,01$).

Стоит отметить выявленное снижение агрегации с АДФ у 29 %, с коллагеном — у 37 %, с ристоцетином — у 47 % детей с ЭТ.

Известно, что пациенты с ЭТ развивают приобретенный синдром Виллебранда, который напрямую влияет на агрегацию с ристоцетином [15]. Однако агрегация по Борну — это оптический метод исследования, основанный на изменении светопропускания в богатой тромбоцитами плазме в процессе их агрегации, инициированной агонистом (АДФ, коллаген, ристоцетин). При больших концентрациях тромбоцитов у этой методики есть определенные ограничения. Поэтому снижение агрегации может быть связано не столько с нарушением функции тромбоцитов, сколько с тем, что при повышенной мутности образца после агрегации проагрегантной субпопуляции тромбоцитов изменение оптической плотности не столь явно: в некоторых образцах не было зафиксировано изменения общей оптической плотности (агрегация 0 %). У 6 пациентов с ЭТ и у 2 детей с вторичным тромбоцитозом наблюдалось повышение агрегации с АДФ (см. рис. 1а). Интересно, что 2 пациента с ЭТ и повышением агрегации имели микроциркуляторные нарушения (онемение конечностей, головные боли).

Лабораторные признаки приобретенного синдрома Виллебранда наблюдались у 54 % пациентов с ЭТ, что не противоречит данным о повышенной деградации больших мультимерных форм фактора Виллебранда [16–19]. У всех пациентов с количеством тромбоцитов $> 1500 \times 10^9/\text{л}$ наблюдалось снижение vWF:RCO . Можно предположить, что повышение количества тромбоцитов и снижение vWF:RCO могут быть потенциально ассоциированы с повышением риска кровоточивости. Но стоит учесть, что, по данным научной литературы, в большинстве случаев синдром Виллебранда является компенсаторным и протекает бессимптомно у большей половины пациентов с ЭТ детского возраста. Необходимо отметить, что у взрослых пациентов риск развития кровоточивости на фоне приобретенной болезни Виллебранда значительно выше (для массивных кровотечений — от 1,05 до 6,5 %, по разным данным [20]), в особенности он увеличивается у пожилых пациентов с ЭТ и взрослых пациентов с лейкоцитозом [11, 21, 22]. При этом стандартные времена свертывания крови (АЧТВ, протромбиновое время, ТВ), а также фибриноген остаются в основном в норме и у взрослых пациентов с ЭТ [23, 24]. Возможно, отсутствие выраженных геморрагических проявлений у детей с лабораторными признаками вторичного синдрома Виллебранда можно

объяснить интактностью эндотелия. По данным проведенных нами исследований статистически достоверных различий между концентрациями таких маркеров эндотелиальной дисфункции, как эндотелин-1 и тромбомодулин, в группах пациентов с ЭТ, реактивным тромбоцитозом и эритроцитозом получено не было. Все значения находились в пределах референсных интервалов.

Интегральные тесты исследования системы гемостаза, такие как ТЭГ и тромбодинамика, чувствительны не только к прокоагулянтным изменениям со стороны плазменных компонентов, но и к количеству клеток. В текущей работе выявлено увеличение показателей угла α и МА в ТЭГ и начальной и стационарной скоростей роста сгустка в тромбодинамике. Интересно, что на выборке детей с ИП без тромбоцитоза ранее нами продемонстрировано отсутствие изменений со стороны ТЭГ [25]. Выявленные гиперкоагуляционные изменения со стороны ТЭГ также отмечаются и у взрослых пациентов, у которых активно обсуждается роль данных показателей в прогнозировании тромботических событий [26, 27]. Учитывая редкость данных эпизодов в нашей выборке, использование показателей интегральных тестов как облигатных факторов риска тромботических осложнений у детей с МПН остается под вопросом. Проведенный корреляционный анализ показал значимые зависимости ($p < 0,05$) параметров ТЭГ и тромбодинамики как с количеством тромбоцитов, так и с количеством прокоагулянтных микровезикул (положительных по фосфатидилсерину на поверхности), выделенных из плазмы пациентов (см. рис. 5).

Везикуляция — это естественный процесс. Клетки везикулируют в процессе своей жизни. Микровезикулы могут участвовать в процессах свертывания крови. Скорее всего, большее количество микровезикул у пациентов с ЭТ связано именно с повышением количества тромбоцитов, а не с повышенной везикуляцией каждой отдельной клетки. Однако не было получено достоверной корреляции между количеством микровезикул и уровнем тромбоцитов, что, скорее всего, связано с крайне малым числом выборки.

Заключение

Нами выполнено первое исследование лабораторных особенностей системы гемостаза у детей с МПН и вторичным тромбоцитозом. В результате проведенной работы выявлены особенности функционирования плазменного и клеточного звеньев, а также отсутствие нарушений со стороны исследованных эндотелиальных показателей данной системы. Учитывая отсутствие значимых корреляций с клиническими проявлениями, с позиции доказательной медицины в настоящее время мы не можем рекомендовать рутинно оценивать систему гемостаза у детей с ЭТ, однако эти данные могут быть потенциально полезными в случае проведения оперативных вмешательств или планирования инвазивных процедур, а выявленные изменения — служить отправной точкой для дальнейшего изучения особенностей свертывающей системы крови у детей с МПН, особенно в динамике.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tefferi A., Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2020;95(12):1599–613.
2. Tefferi A., Pardanani A. Essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2019;381(22):2135–44. doi: 10.1056/NEJMc1816082.
3. Alvarez-Larrán A., Cervantes F., Bellosillo B., Giral M., Juliá A., Hernández-Boluda J.C., Bosch A., Hernández-Nieto L., Clapés V., Burgaleta C., Salvador C., Arellano-Rodrigo E., Colomer D., Besses C. Essential thrombocythemia in young individuals: frequency and risk factors for vascular events and evolution to myelofibrosis in 126 patients. *Leukemia*. 2007;21(6):1218–23. doi: 10.1038/sj.leu.2404693.
4. Awada H., Voso M.T., Guglielmelli P., Gurnari C. Essential thrombocythemia and acquired von Willebrand syndrome: the shadowlands between thrombosis and bleeding. *Cancers (Basel)*. 2020;12(7):1746. doi: 10.3390/cancers12071746.
5. Chan K.W., Kaikov Y., Wadsworth L.D. Thrombocytosis in childhood: a survey of 94 patients. *Pediatrics*. 1989;84(6):1064–7.
6. Абдулкадыров К.М., Шуваев В.А., Мартынкевич И.С. Миелопролиферативные новообразования. СПб.–М.: Литтера, 2016. [Abdulkadyrov K.M., Shuvaev V.A., Martynkevich I.S. Myeloproliferative neoplasms. St. Petersburg–Moscow: Littera, 2016. (In Russ.)].
7. Thiele J., Kvasnicka H.M., Orazi A., Gianelli U., Gangat N., Vannucchi A.M., Barbui T., Arber D.A., Tefferi A. The international consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemias: Myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol*. 2023;98(3):544–5. doi: 10.1002/ajh.26821.
8. Michiels J.J., van Genderen P.J. Essential thrombocythemia in childhood. *Semin Thromb Hemost*. 1997;23(3):295–301. doi: 10.1055/s-2007-996102.
9. Moulard O., Mehta J., Fryzek J., Olivares R., Iqbal U., Mesa R.A. Epidemiology of myelofibrosis, essential thrombocythemia, and polycythemia vera in the European Union. *Eur J Haematol*. 2014;92(4):289–97. doi: 10.1111/ajh.12256.
10. Gangat N., Szuber N., Jawaid T., Hanson C.A., Pardanani A., Tefferi A. Young platelet millionaires with essential thrombocythemia. *Am J Hematol*. 2021;96:E93–5. doi: 10.1002/ajh.26114.
11. Lipets E.N., Ataullakhanov F.I. Global assays of hemostasis in the diagnostics of hypercoagulation and evaluation of thrombosis risk. *Thromb J*. 2015;13(1):4. doi: 10.1186/s12959-015-0038-0.
12. Park M.S., Martini W.Z., Dubick M.A., Salinas J., Butenas S., Kheirabadi B.S., Pusateri A.E., Vos J.A., Guymon C.H., Wolf S.E., Mann K.G., Holcomb J.B. Thromboelastography as a better indicator of hypercoagulable state after injury than prothrombin time or activated partial thromboplastin time. *J Trauma*. 2009;67(2):266. doi: 10.1097/TA.0b013e3181ae6f1c.
13. Seregina E.A., Poletaev A.V., Bondar E.V., Vuimo T.A., Ataullakhanov F.I., Smetanina N.S. The hemostasis system in children with hereditary spherocytosis. *Thromb Res*. 2019;176:11–7. doi: 10.1016/j.thromres.2019.02.004.
14. Hincker A., Feit J., Sladen R.N., Wagener G. Rotational thromboelastometry predicts thromboembolic complications after major non-cardiac surgery. *Crit Care*. 2014;18(5):549. doi: 10.1186/s13054-014-0549-2.
15. Пшонкин А.В., Богданов А.В., Полетаев А.В., Сeregina E.A., Лебедева С.А., Лотонина О.В., Сметанина Н.С., Жарков П.А. Особенности мультимерного профиля и функции фактора Виллебранда у детей и молодых взрослых с эссенциальной тромбоцитемией. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. 2025;24(1):126–32. [Pshonkin A.V., Bogdanov A.V., Poletaev A.V., Seryogina E.A., Lebedeva S.A., Lotonina O.V., Smetanina N.S., Zharkov P.A. Von Willebrand factor multimer profile and function in children and young adults with essential thrombocythemia. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii* = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology. 2025;24(1):126–32. (In Russ.)].
16. Kubo M., Sakai K., Hayakawa M., Kashiwagi H., Yagi H., Seki Y., Hasegawa A., Tanaka H., Amano I., Tomiyama Y., Matsumoto M. Increased cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS13 may contribute strongly to acquired von Willebrand syndrome development in patients with essential thrombocythemia. *J Thromb Haemost*. 2022;20(7):1589–98. doi: 10.1111/jth.15717.
17. Janjetovic S., Rolling C.C., Budde U., Schneppenhem S., Schafhausen P., Peters M.C., Bokemeyer C., Holstein K., Langer F. Evaluation of different diagnostic tools for detection of acquired von Willebrand syndrome in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Thromb Res*. 2022;218:35–43. doi: 10.1016/j.thromres.2022.08.002.
18. Lancellotti S., Dragani A., Ranalli P., Petrucci G., Basso M., Tartaglione R., Rocca B., De Cristofaro R. Qualitative and quantitative modifications of von Willebrand factor in patients with essential thrombocythemia and controlled platelet count. *J Thromb Haemost*. 2015;13(7):1226–37. doi: 10.1111/jth.12967.
19. Budde U., Schaefer G., Mueller N., Egli H., Dent J., Ruggeri Z., Zimmerman T. Acquired von Willebrand's disease in the myeloproliferative syndrome. *Blood*. 1984;64(5):981–5.
20. Nicol C., Lacut K., Pan-Petes B., Lippert E., Ianotto J.-C. Hemorrhage in essential thrombocythemia or polycythemia vera: epidemiology, location, risk factors, and lessons learned from the literature. *Thromb Haemost* 2021;121(05):553–64. doi: 10.1055/s-0040-1720979.
21. Gangat N., Karrar O., Al-Kali A., Begna K.H., Elliott M.A., Wolanskyj-Spinner A.P., Pardanani A., Hanson C.A., Ketterling R.P., Tefferi A. One thousand patients with essential thrombocythemia: the Mayo Clinic experience. *Blood Cancer J*. 2024;14(1):11. doi: 10.1038/s41408-023-00972-x.
22. Chen D., Tange J.I., Meyers B.J., Pruthi R.K., Nichols W.L., Heit J.A. Validation of an automated latex particle-enhanced immunoturbidimetric von Willebrand factor activity assay. *J Thromb Haemost*. 2011;9(10):1993–2002. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04460.x.
23. Yang E., Lv Y., Wang Z., Wang D., Li Y., Sun Y., Zhang Y., Niu J., Chen Z., Liu W., Hu X. Coagulation status and determinants of possible aspirin resistance in patients with essential thrombocythemia. *Front Med*. 2022;9:1092281. doi: 10.3389/fmed.2022.1092281.
24. Yakami Y., Yagyu T., Bando T., Hanada M. Asymptomatic essential thrombocytosis presenting with extrahepatic portal vein thrombosis: a case report. *Am J Case Rep* 2023;24:e938547. doi: 10.12659/AJCR.938547.
25. Пшонкин А.В., Богданов А.В., Полетаев А.В., Свешникова А.Н., Сметанина Н.С., Жарков П.А. Особенности системы гемостаза при истинной полицитемии у детей. Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 2024;103(6):25–32. doi: 10.24110/0031-403X-2024-103-6-25-32. [Pshonkin A.V., Bogdanov A.V., Poletayev A.V., Sveshnikova A.N., Smetanina N.S., Zharkov P.A. Features of the hemostasis system in polycythemia vera in children. *Pediatrya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo* = Pediatrics. *Journal n. a. G.N. Speransky*. 2024;103(6):25–32. (In Russ.)].
26. Yang E., Lv Y., Wang Z., Wang D., Li Y., Sun Y., Zhang Y., Niu J., Chen Z., Liu W., Hu X. Coagulation status and determinants of possible aspirin resistance in patients with essential thrombocythemia. *Front Med*. 2022;9:1092281. doi: 10.3389/fmed.2022.1092281.
27. Hauschner H., Bokstad Horev M., Misgav M., Nagar M., Seligsohn U., Rosenberg N., Koren-Michowitz M. Platelets from Calreticulin mutated essential thrombocythemia patients are less reactive than JAK2 V617F mutated platelets. *Am J Hematol*. 2020;95(4):379–86. doi: 10.1002/ajh.25713.

Статья поступила в редакцию: 05.09.2025. Принята в печать: 16.09.2025.

Article was received by the editorial staff: 05.09.2025. Accepted for publication: 16.09.2025.