

## Тромбоцитопатии

И.А. Дёмина<sup>1</sup>, М.А. Кумскова<sup>1</sup>, М.А. Пантелеев<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117198, Москва, ул. Саморы Машела, 1;

<sup>2</sup>ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России; Россия, 125167, Москва, Новый Зыковский проезд, 4а;

<sup>3</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН;

Россия, 119991, Москва, Ленинский просп., 38А, корп. 1;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»;

Россия, 119234, Москва, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 8

**Контакты:** Ирина Андреевна Дёмина [idemina@mail.ru](mailto:idemina@mail.ru)

Статья посвящена общим вопросам классификации и дифференциальной диагностики тромбоцитопатий. Освещены особенности патогенеза, течения и диагностики некоторых редких наследственных тромбоцитопатий. Особое внимание уделено молекулярным основам формирования данных заболеваний. Приведены основные генетические мутации, ассоциированные с рядом тромбоцитопатий.

**Ключевые слова:** тромбоциты, редкие наследственные гематологические заболевания, тромбоцитопатии, тромбастения Гланцмана, синдром Бернара—Суллье, синдром серых тромбоцитов

DOI: 10.17650/2311-1267-2015-1-54-60

### Thrombocytopathy

I.A. Demina<sup>1</sup>, M.A. Kumskova<sup>1</sup>, M.A. Panteleev<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitriy Rogachev, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117198, Russia;

<sup>2</sup>Hematological Research Center, Ministry of Health of Russia; 4a Novo-Zykovskiy Pr-d, Moscow, 125167, Russia;

<sup>3</sup>Theoretical Problems Center of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences;

38A, Bldg. 1, Leninskiy Prosp., Moscow, 119991, Russia;

<sup>4</sup>M.V. Lomonosov Moscow State University; 1, Bldg. 8 Leninskie Gory St., Moscow, 119234, Russia

The article is devoted to general issues of classification and differential diagnosis of thrombocytopathy. Features of pathogenesis, clinical course and diagnosis of certain rare inherited thrombocytopathies are highlighted. Particular attention is paid to the formation of the molecular basis of these diseases. The basic genetic mutations associated with a number of thrombocytopathies are given.

**Key words:** platelets, rare inherited hematologic disorders, thrombocytopathy, Glanzmann thrombasthenia, Bernard—Soulier syndrome, gray platelet syndrome

### Введение

Тромбоциты — самые мелкие клетки крови (2—4 мкм), которые участвуют в гемостазе, воспалении, ремоделировании тканей и заживлении ран. Они образуются в красном костном мозге отшнуровыванием участка цитоплазмы с мембраной от мегакариоцитов. Тромбоциты не имеют ядра, но содержат сложную систему органелл. К ним относятся секреторные гранулы, лизосомы, микротрубочки, микрофиламенты, митохондрии. Также внутри тромбоцита находится открытая каналикулярная система канальцев, пронизывающая его насквозь. Существует 3 типа секреторных гранул, которые отличаются по количеству, внутреннему содержанию и функциям. Каждый тромбоцит содер-

жит около 70  $\alpha$ -гранул, в которых определяются молекулы адгезии, такие как Р-селектин, цитокины, факторы коагуляции и фибринолиза, факторы роста (тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста эпителия (EGF), фактор роста фибробластов (FGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF)). Плотных, или  $\delta$ -гранул, гораздо меньше (3—8 на тромбоцит). Они содержат малые молекулы, такие как кальций, аденозиндифосфат (АДФ), аденозинтрифосфат, серотонин и пирофосфат. Тромбоцитарные лизосомы содержат различные протеолитические ферменты и гликозидазы. На наружной мембране тромбоцитов расположены рецепторы, иг-

рающие базовую роль в основных функциях тромбоцитов [1].

Тромбоциты являются важным компонентом системы гемостаза: адгезия тромбоцитов к месту повреждения сосуда, агрегация, секреция факторов свертывания, последующая ретракция сгустка, спазм мелких сосудов и образование белого тромбоцитарного тромба останавливают кровотечение в микроциркуляторных сосудах с диаметром до 100 нм. Активация свертывающей системы индуцирует образование фибрина на поверхности активированных тромбоцитов и формирование полноценного тромба. При активации тромбоцитов естественными стимуляторами, такими как тромбин или коллаген, обнажающиеся при повреждении сосудистой стенки, они способны выбрасывать содержимое своих гранул, содержащих факторы свертывания, пероксидазу, серотонин, ионы кальция —  $Ca^{2+}$ , АДФ, фактор Виллебранда, тромбоцитарный фибриноген, фактор роста тромбоцитов и др. Поверхность тромбоцитов при высшей степени активации становится прокоагулянтной за счет экспонирования фосфатидилсерина и стимулирует формирование тромба. Также тромбоциты играют существенную роль в заживлении и регенерации поврежденных тканей, высвобождая факторы роста, которые стимулируют деление и пролиферацию клеток в области повреждения.

Наследственные нарушения функции тромбоцитов охватывают разнородную группу геморрагических заболеваний, вызванных врожденными дефектами морфологии и/или функции тромбоцитов при нормальном их количестве. Могут быть повреждены различные структуры и нарушены разнообразные процессы в тромбоцитах: мембранные рецепторы, внутритромбоцитарная сигнализация, гранулы и др. Это приводит к различным клиническим проявлениям кровоточивости [2–4]. Тромбоцитопатии характеризуются в первую очередь развитием спонтанных и посттравматических кожно-слизистых кровотечений. Распознавание и дифференциация тромбоцитопатий основывается на выявлении кровоточивости микроциркуляторного типа с нарушением функциональных свойств, морфологии и биохимических характеристик тромбоцитов. На основании этих проявлений основывается современная классификация тромбоцитопатий, которая подразделяется на 2 большие группы — наследственные и приобретенные.

Классификация по МКБ — 69.1 — качественный дефект тромбоцитов.

### Классификация

#### *А. Наследственные формы тромбоцитопатий*

##### *Основные патогенетические группы*

1. Связанные с мембранными аномалиями (синдромы Бернара—Сулье, Скотт, псевдоблезнь Виллебранда, тромбастения Гланцмана и др.).

2. Связанные с внутриклеточными аномалиями:

- болезни недостаточного пула хранения — дефицит плотных и  $\alpha$ -гранул (болезнь Германского—Пудлака, ТАР-синдром, синдром серых тромбоцитов (ССТ), синдромы Чедиака—Хигаси, Грисцелли, дефицит плотных гранул и др.);
  - нарушение реакции высвобождения гранул и их компонентов (дефект циклооксигеназы, тромбоксансинтетазы, липоксигеназы и др.).
3. Смешанные тромбоцитарные нарушения (синдромы Мея—Хегглина, Вискотта—Олдрича (СВО) и др.).
4. Дисфункция тромбоцитов плазменного генеза и при сосудистых дисплазиях (болезнь Виллебранда, болезнь Элерса—Данлоса и др.).

#### *Функционально-морфологические формы*

1. Нарушение адгезии тромбоцитов:
  - синдром Бернара—Сулье (дефицит или дефект комплекса GPIIb-IX-V);
  - болезнь Виллебранда (дефицит или дефект vWF).
2. Нарушение агрегации тромбоцитов:
  - тромбастения Гланцмана (дефицит или дефект GPIIb-IIIa);
  - наследственная афибриногемия (дефицит или дефект  $\alpha$ IIb $\beta$ 3, фибриногена).
3. Нарушение высвобождения и дефицит гранул:
  - дефицит пула хранения:
    - $\alpha$ -гранул (ССТ, APC-синдром, синдромы Квебека, Пари—Труссо);
    - $\delta$ -гранул (дефицит плотных гранул, болезнь Германского—Пудлака, синдром Чедиака—Хигаси, ТАР-синдром);
    - $\alpha$ - и  $\delta$ -гранул (дефицит плотных и  $\alpha$ -гранул).
4. Нарушение формирования и дефицит сигнальных путей:
  - дефекты рецепторов агонистов: тромбоксана  $A_2$ , коллагена, АДФ, эпинефрина;
  - дефект активации G-протеина: дефицит  $G_{\alpha q}$ , аномалия  $G_{\alpha s}$ , дефицит  $G_{\alpha i}$ ;
  - дефект метаболизма фосфатидилинозитола — дефицит фосфолипазы C-2;
  - дефект мобилизации кальция;
  - дефект фосфорилирования плекстрина — дефицит протеинкиназы-C;
  - нарушение обмена арахидоновой кислоты и тромбоксана:
    - нарушение высвобождения арахидоновой кислоты;
    - дефицит циклооксигеназы;
    - дефицит тромбоксансинтетазы;
  - аномалии элементов цитоскелета — СВО;
  - нарушение взаимодействия тромбоцитов — фактор свертывания (дефект фосфолипидов мембраны) — синдром Скотт;
  - сочетанные врожденные нарушения — аномалия Мея—Хегглина, болезнь Дауна, синдром мезенхимальной дисплазии, ТАР-синдром.

*Тромбоцитопатии, сопровождающиеся  
тромбоцитопенией*

1. Малые размеры тромбоцитов – СВО, X-сцепленная тромбоцитопения.

2. Нормальные размеры – врожденная амегакариоцитарная тромбоцитопения, ТАР-синдром, амегакариоцитарная тромбоцитопения с врожденным радиоульнарным синостозом, аутосомно-доминантная тромбоцитопения, семейная тромбоцитопатия с предрасположенностью к развитию острого миелоидного лейкоза.

3. Крупные тромбоциты – синдромы Бернара–Сулье, Ди Джорджи, тромбоцитарный тип болезни Виллебранда, ССТ, АРС-синдром, группа синдромов МУН9, X-сцепленная тромбоцитопения с талассемией, синдром Пари–Труссо, средиземноморская макроцитопатическая тромбоцитопения, дизэритропоэтическая анемия с тромбоцитопенией.

**Б. Приобретенные (симптоматические)  
тромбоцитопатии**

1. При гемобластозах:

- дизагрегационные гипорегенераторные;
- формы потребления (при развитии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания);
- смешанного типа.

2. При миелопролиферативных заболеваниях и эссенциальной тромбоцитемии.

3. При витамин В<sub>12</sub>-дефицитной анемии.

4. При уремии (нарушение адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов, реже – ретракции сгустка).

5. При миеломной болезни, болезни Вальденстрема, гаммапатиях (блокаде тромбоцитов макро- и парапротеинами).

6. При циррозах, опухолях и паразитарных заболеваниях печени (нарушения адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов вследствие метаболических нарушений, секвестрация тромбоцитов в портальной системе, потребление кровяных пластинок при развитии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания).

7. При цинге (нарушение взаимодействия с эндотелием и АДФ-агрегацией).

8. При гормональных нарушениях – гипопаратиреозах, гипотиреозах.

9. Лекарственные и токсигенные формы (при лечении аспирином и другими нестероидными противовоспалительными препаратами, антибиотиками – карбенициллином, пенициллином; транквилизаторами, нитрофуранами, цитостатиками и др.).

10. При лучевой болезни.

11. При массивных гемотрансфузиях и инфузиях реополиглокина.

12. При больших тромбозах и гигантских ангиомах (тромбоцитопатия потребления).

Клинические проявления зависят от особенностей качественных и количественных дефектов тромбоцитов – тяжесть геморрагического синдрома может значительно варьироваться и не зависеть напрямую от степени дефекта. При легкой кровоточивости может отмечаться склонность к синяковости при малых и незначительных травмах, на месте сдавливания резинкой; периодические необильные носовые кровотечения, семейные длительные менструации у женщин и др. В случае развития массивного геморрагического синдрома могут развиваться жизнеугрожающие кровопотери. Рассмотрим некоторые тромбоцитопатии подробнее.

**Тромбастения Гланцмана** – наследственное заболевание, характеризующееся геморрагическими проявлениями, при которых отмечается удлинение времени кровотечения, а также полное отсутствие или резкое снижение интенсивности ретракции кровяного сгустка на фоне нормального содержания тромбоцитов в единице объема крови [5, 6]. Это является результатом снижения агрегационной способности тромбоцитов. Впервые заболевание было описано в 1918 г. доктором Эдвардом Гланцманом. Тромбастения Гланцмана является редким заболеванием и встречается с частотой приблизительно 1 случай на 1 млн [7]. Манифестация заболевания происходит в раннем детском возрасте. Основными клиническими проявлениями являются кожный геморрагический синдром, кровотечения из слизистых, в том числе и желудочно-кишечные, вплоть до жизнеугрожающих. Возможно образование гематом мягких тканей различной локализации. Геморрагический синдром может иметь как посттравматический, так и спонтанный характер. Проведение любых оперативных вмешательств без гемостатической терапии, в том числе экстракция зубов, сопровождается развитием кровотечения. В настоящее время выделяют 3 типа тромбастении Гланцмана: тип 1 – дефицит комплекса поверхностных рецепторов агрегации гликопротеинов GPIIb–IIIa < 5 % от нормы; тип 2 – дефицит комплекса GPIIb–IIIa 5–20 % от нормы, тип 3 – комплекс GPIIb–IIIa присутствует в нормальном или почти нормальном количестве, но функционально несостоятелен. Тем не менее корреляции между количеством GPIIb–IIIa на поверхности тромбоцитов и тяжестью клинических проявлений заболевания не наблюдается [6]. В основе патогенеза данного заболевания лежит дефицит или дисфункция мембранных белков тромбоцитов – интегрин αIIbβ3 (GPIIb–IIIa), формирующих на поверхности тромбоцитов гетеродимер – комплекс, связывающий фибриноген, фактор Виллебранда, фибронектин и витронектин. Этот мембранный комплекс является необходимым компонентом заключительного этапа агрегации, активированной физиологическими агонистами [8]. При активации комплекс GPIIb–IIIa меняет свою конформацию, связывает фибриноген

и другие растворимые адгезивные белки, которые с участием ионов  $Ca^{2+}$  опосредуют агрегацию смежных тромбоцитов в формирующемся сгустке [9–11].

Тромбастения Гланцмана имеет аутомно-рецессивный тип наследования [6, 12]. Оба гена интегринов  $\alpha IIb$  и  $\beta 3$  расположены на длинном плече хромосомы 17q21.32 и кодируются в генах *ITGA2B* и *ITGB3* соответственно. Экспрессия генов происходит независимо друга от друга [8, 13]. Малые делеции и модификации встречаются чаще, чем большие реаранжировки генов [14]. Несмотря на то что фрагмент *ITGB3* имеет меньший размер, по причине наличия большего количества экзонов его мутация встречается с большей частотой [15]. В результате мутации у пациентов с тромбастенией Гланцмана может возникать дефицит или нарушение структуры GPIIb–IIIa. Наличие молекулярного дефекта в одном или двух генах достаточно для формирования тромбоцитопатии [16–19]. Тяжесть клинической картины тромбастении Гланцмана не зависит от выявленных мутаций и может варьироваться внутри одной семьи.

**Синдром серых тромбоцитов.** Впервые ССТ (ОММ #139090) был описан Рассуглиа в 1971 г. [20]. Он был охарактеризован как патологическое состояние, сопровождающееся тромбоцитопенией, достаточно мягкими проявлениями кровоточивости и наличием агранулярных тромбоцитов в периферической крови. Биохимическими и электронно-микроскопическими методами было показано, что все органеллы, кроме  $\alpha$ -гранул, не изменены и присутствуют в нормальных количествах [21–23]. Предполагается, что причиной возникновения этого синдрома является неспособность мегакариоцитов к образованию специфических везикул и наполнению их  $\alpha$ -гранулярными компонентами [24]. При этом количество мегакариоцитов в костном мозге, как правило, нормальное [25]. Микроскопически в мазке обнаруживаются крупные, бледно окрашенные тромбоциты. Нарушение функции тромбоцитов проявляется в снижении агрегации с коллагеном и/или с тромбином.

Для пациентов с ССТ зачастую характерны макротромбоцитопения различной степени, кровоточивость слизистых оболочек, с течением жизни развиваются миелофиброз и спленомегалия [26, 27]. Кровотечения обычно не являются жизнеугрожающими, однако при хирургических вмешательствах или серьезных травмах возможна массивная кровопотеря, не останавливаемая стандартными методами.

У таких пациентов тесты агрегации тромбоцитов дают весьма вариабельные результаты, общего вектора изменения этого показателя выявить не удалось [28]. В большинстве семей имеется всего лишь 1 случай ССТ или страдают одновременно несколько братьев и сестер. Пути наследования и гены, сцепленные с данным заболеванием, разнообразны. Известны случаи X-сце-

пленного наследования мутации в *GATA-1*, что приводит к общему уменьшению числа гранул в тромбоцитах и появлению дефектных эритроцитов [29]. В 2014 г. D. Monteferrario et al. [30] сообщили о идентификации ранее неизвестной нонсенс-мутации в гене транскрипционного фактора (репрессора) *GFI1B* в семье с аутомно-доминантным ССТ. Наиболее часто при ССТ повреждается ген *NBEAL2*, разнообразные мутации в котором были выявлены в 2011 г. С.А. Albers et al. [31].

**Синдром Бернара–Сулье** – наследственная тромбоцитопатия, обусловленная генетическим дефектом или снижением функциональной активности комплекса GPIb–IX–V тромбоцитов. Этот комплекс является рецептором фактора Виллебранда, а также необходим для фиксации тромбина на поверхности тромбоцитов. С функциональной точки зрения нарушается адгезия тромбоцитов к сосудистому субэндотелиальному матриксу, что характерно и для болезни Виллебранда. Основным диагностическим критерием этой патологии служат макротромбоцитопения и отсутствие фактор Виллебранда-зависимой агрегации с ристоцетином, при нормальном количестве и нормальной активности самого фактора. Также может наблюдаться понижение агрегации с тромбином на фоне нормальной агрегации с другими агонистами. Дефицит поверхностного комплекса гликопротеинов GPIb–IX–V может быть подтвержден методом проточной цитофлуориметрии и при генетическом анализе генов *GPIBA*, *GPIBB* и *GP9*. Синдром Бернара–Сулье проявляется значительной кровоточивостью микроциркуляторного и смешанного типа, которая проявляется сразу после рождения. Наследование – аутомно-рецессивное [32].

**Синдром Вискотта–Олдрича.** Макротромбоцитопения и нарушение агрегации тромбоцитов указывает на наличие качественного или количественного дефекта специфического белка WASP (Wiskott–Aldrich syndrome protein). Для классической формы СВО характерен комплекс нарушений, в который входят повышенная кровоточивость, рецидивирующие бактериальные, вирусные и грибковые инфекции, а также кожная экзема. Существует более легкая форма течения заболевания – X-сцепленная тромбоцитопения. Заболевание характеризуется отсутствием выраженных признаков иммунодефицита и экземы. С целью верификации диагноза данной группе больных необходимо проводить пункцию костного мозга и анализ миелограммы. В миелограмме при СВО отмечается нормальное количество неизмененных мегакариоцитов. Иммунологические дефекты у больных СВО являются результатом нарушения гомеостаза лимфоцитов, проявляющегося в резком снижении пропорции Т- и В-лимфоцитов. При исследовании функциональных нарушений тромбоцитов у больных СВО обнаруживается повышенная экспрессия фосфатидилсерина и образование микрочастиц в ответ на стимул. Вероятным механизмом

развития тромбоцитопении является повышенное удаление тромбоцитов, экспрессирующих фосфатидилсерин, макрофагами селезенки. Для подтверждения диагноза «синдром Вискотта—Олдрича» и X-сцепленной тромбоцитопении необходимо провести анализ экспрессии белка и определение мутации гена *WASP* [33].

**Группа синдромов *МУН9*.** Наличие в гранулоцитах и моноцитах больших базофильных включений (телец Деле) в мазке крови при окраске по Романовскому—Гимзе является маркером группы синдромов *МУН9*. В данную группу синдромов входят аномалия Мея—Хегглина, синдромы Фехтнер, Эпштейна, Себастьяна. Аномалия Мея—Хегглина описана немецким врачом R. May (1863—1937), а позднее швейцарским — R.M. Hegglin (1907—1969). В основе патологии лежит мутация гена *МУН9*, кодирующего тяжелую цепь немышечного миозина IIА (NMMHC—IIА). Протекает в большинстве случаев бессимптомно, но у некоторых больных проявляется повышенной кровоточивостью. Тип наследования — аутосомно-доминантный. Сопровождается тромбоцитопенией, поражением почек (нефрит), нейро-сенсорной тугоухостью и катарактой, но наличие данных патологий не является обязательным, особенно у детей. Зачастую у пациентов с аномалией Мея—Хегглина нарушена агрегация тромбоцитов с коллагеном при нормальной агрегации с другими агонистами, особенно с ристоцетином. Обнаружение агрегатов NMMHC—IIА в нейтрофилах методом иммунофлуоресценции подтверждает диагноз данной группы синдромов. С целью определения конкретной мутации рекомендуется проведение генетического анализа [34].

**Синдромы дефицита пула хранения.** К ним относятся синдромы Германски—Пудлака и Чедиака—Хигаси. Они наследуются аутосомно-рецессивным путем. При этих синдромах наблюдается альбинизм, частые инфекции, легочный фиброз, гранулематозный колит, удлинение времени кровотечения и незначительное нарушение свертываемости крови. Причиной заболевания является дефицит содержимого плотных гранул и/или их самих. Исследования функции тромбоцитов выявляют нарушение агрегации в реакции с АДФ, адреналином, ристоцетином и коллагеном. При синдроме Чедиака—Хигаси плотные гранулы, определяемые при электронной микроскопии, крупнее нормальных и по размеру похожи на гранулы меланоцитов, лейкоцитов и фибробластов [35].

**Синдром Скотт.** Тромбоцитопатия, наследуемая по аутосомно-рецессивному типу, обусловленная дефектом выхода фосфатидилсерина при активации тромбоцитов и, как следствие, нарушением взаимодействия тромбоцитов с плазматическими факторами свертываемости. При этом на мембране образуются неполноценные комплексы факторов свертываемости Va—X и VIII—IXa. Дефекты связывания этих комплексов при-

водят к неполной активации фактора X и протромбина, а также к нарушениям активности тромбоцитарного фактора 3 [36].

#### Алгоритм диагностики

Дифференциальная диагностика тромбоцитопатий маскируются носовыми кровотечениями, меноррагиями и другими кровотечениями слизистых оболочек. Первым звеном диагностики является подробный сбор анамнеза. Обязательным является составление родословной с тщательным сбором сведений о минимальной кровоточивости у родственников. Важными вопросами являются: первый эпизод кровотечения, наличие кровотечения при прорезывании/смене или экстракции зубов; проводилась ли тонзилэктомия, были ли осложнения в виде длительного кровотечения; кровоточивость десен при чистке зубов; наличие носовых кровотечений, если да, то когда появляются/частота/длительность; объем менструации у девочек пубертатного возраста; проводились ли оперативные вмешательства, были ли геморрагические осложнения?

При наличии клинических признаков тромбоцитопатий вторым звеном диагностики является общий анализ крови. При многих тромбоцитопатиях показатели могут оставаться в пределах нормы. Однако при изменении размеров тромбоцитов автоматический анализатор может не зафиксировать фактическое их количество, поэтому важно проводить подсчет вручную в мазке с окраской по Романовскому—Гимзе. Морфологический анализ тромбоцитов позволяет получить дополнительную информацию о количестве и размерах тромбоцитов, наличие их конгломератов и другие особенности: отсутствие  $\alpha$ -гранул в крупных серых тромбоцитах указывает на болезнь серых тромбоцитов, при включениях в лейкоциты — болезни, обусловленные мутацией гена *МУН9*, аномалии морфологии эритроцитов могут свидетельствовать о болезнях, связанных с мутацией гена *GATA-1*. При обнаружении в мазке конгломератов тромбоцитов необходимо провести дифференциальную диагностику с дефектом забора крови. Псевдотромбоцитопения может быть следствием склеивания тромбоцитов в пробирке с этилендиаминтетраацетатом. Это легко подтвердить, если сделать повторный забор крови в пробирку с цитратом.

Несмотря на то что на сегодняшний день было проведено относительно небольшое количество сравнительных исследований агрегации тромбоцитов у взрослых и детей, на основании имеющихся данных мы можем сделать вывод, что различия в агрегации имеются только у детей до года жизни. Дети с года и до 18 лет не имеют специфических возрастных норм как внутри группы, так и в сравнении со взрослыми.

*Нарушение агрегации тромбоцитов при некоторых тромбоцитопатиях*

Диагноз	Нарушение агрегации	Дополнительные признаки, исследования
Синдром Бернара—Сулье	Отсутствие ответа на ристоцетин	Макротромбоцитопения Исключить болезнь Виллебранда Исследование количества GPIb методом проточной цитофлуориметрии
Тромбастения Гланцмана	Отсутствие ответа на все агонисты, кроме ристоцетина	Проточная цитофлуориметрия – исследование количества и функциональной активности интегрин $\text{IIb/IIIa}$
Дефект секреции, $\delta$ -гранул (синдромы Германски—Пудлака и Чедиака—Хигаси)	Наличие сниженного ответа к нескольким агонистам: АДФ, коллагену, эпинефрину	Электронная микроскопия для оценки плотных гранул, проточная цитофлуориметрия
Дефект рецепторов АДФ	Снижение или отсутствие ответа на АДФ	В анамнезе прием ингибиторов АДФ Проточная цитофлуориметрия для оценки количества $\text{P2Y}_{12}$
ССТ	Понижение ответа на активацию тромбином и/или коллагеном	Наличие в мазке слабо окрашенных тромбоцитов, электронная микроскопия, проточная цитофлуориметрия

Скрининговыми тестами, указывающими на нарушение тромбоцитарного звена гемостаза, являются удлинение времени капиллярного кровотечения (пробы Дьюка, Айви) и автоматический анализ функции тромбоцитов на приборе PFA-100. Однако они не обладают достаточной чувствительностью и специфичностью для постановки диагноза.

**Оценка функции тромбоцитов**

«Золотым стандартом» оценки функциональной активности тромбоцитов был признан метод оптической агрегометрии (light transmission aggregometry, LTA). Метод основан на оценке фотометром светопропускающей способности (% агрегации) цитратной богатой тромбоцитами плазмы при добавлении в нее агониста агрегации (АДФ, эпинефрин, коллаген, арахидоновая кислота, тромбоксан, ристоцетин). Агрегация тромбоцитов, индуцированная ристоцетином, который активирует связывание фактора Виллебранда с комплексом гликопротеинов GPIb-IX-V, также измеряется с помощью LTA. При проведении этого анализа необходимо учитывать данные о приеме медикаментозных и гомеопатических препаратов, которые могут влиять на агрегацию тромбоцитов.

На сегодняшний день известны агрегометрические особенности ряда тромбоцитопатий (таблица).

Отсутствие агрегации со всеми агонистами, кроме ристоцетина, указывает на тромбастению Гланцмана. Этот диагноз может быть подтвержден проточной цитофлуориметрией – количественной оценкой рецептора мембраны тромбоцитов  $\text{IIb/IIIa}$ . Значительно пониженный ответ на все концентрации АДФ указывает на наличие дефекта АДФ-рецепторов  $\text{P2Y}_{12}$ . Понижение второй волны агрегации под действием АДФ и эпинефрина и понижение агрегации с коллагеном может указывать на дефицит пула хранения. С целью подтверждения дефицита плотных гранул необходимо провести исследование функциональной состоятельности плотных гранул методом проточной цитофлуориметрии и электронную микроскопию.

Таким образом, распознавание и дифференциальная диагностика тромбоцитопатий должны базироваться на комплексном исследовании гемостаза, изучении морфологии тромбоцитов методами световой и электронной микроскопии, оценке функциональной активности методом проточной цитофлуориметрии, а также проведении генетического анализа для выявления мутаций, коррелирующих с различными типами тромбоцитопатий.

**ЛИТЕРАТУРА**

- Thon J.N., Italiano J.E. Platelets: production, morphology and ultrastructure. *Handb Exp Pharmacol* 2012;210:3–22.
- Bolton-Maggs P.H., Chalmers E.A., Collins P.W. et al. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *Br J Haematol* 2006;135:603–33.
- Salles I.I., Feys H.B., Iserbyt B.F. et al. Inherited traits affecting platelet function. *Blood Rev* 2008;22:155–72.
- Nurden A.T., Nurden P. Congenital platelet disorders and understanding of platelet function. *Br J Haematol* 2014;165:165–78.
- Nurden A.T., Fiore M., Nurden P. et al. Glanzmann thrombasthenia: a review of ITGA2B and ITGB3 defects with emphasis on variants, phenotypic variability, and mouse models. *Blood* 2011;118:5996–6005.
- Nurden A.T., Pillois X., Nurden P. Understanding the genetic basis of Glanzmann thrombasthenia: Implications for treatment. *Exp Rev Hematol* 2012;5:487–503.
- George J.N., Caen J.P., Nurden A.T. Glanzmann's thrombasthenia: The spectrum of clinical disease. *Blood* 1990;75:1383–95.
- Cong N.V., Uzan G., Gross M.S. et al. Assignment of human platelet GP2B (GPIIb) gene to chromosome 17, region q21.1–q21.3. *Hum Genet* 1988;80:389–92.

9. Collier B.S., Shattil S.J. The GPIIb/IIIa (integrin  $\alpha$ Ib $\beta$ 3) odyssey: a technology-driven saga of a receptor with twists and turns and even a bend. *Blood* 2008;112:3011–25.
10. Thornton M.A., Poncz M., Korotishvsky M. et al. The human platelet  $\alpha$ Ib gene is not closely linked to its integrin partner  $\beta$ 3. *Blood* 1999;94:2039–47.
11. Shattil S.J. Signaling through platelet integrin alpha Iib beta 3: inside-out, outside-in, and sideways. *Thromb Haemost* 1999;82:318–25.
12. Emambokus N.R., Frampton J. The glycoprotein IIb molecule is expressed on early murine hematopoietic progenitors and regulates their numbers in sites of hematopoiesis. *Immunity* 2003;19:33–45.
13. Arnaout M.A., Mahalingam B., Xiong J.P. Integrin structure, allostery, and bidirectional signalling. *Annu Rev Cell Biol* 2005;21:381–41.
14. Calvete J.J. On the structure and function of platelet integrin alpha Iib beta 3, the fibrinogen receptor. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995;208:346–60.
15. Mitchell W.B., Li J.H., French D.L. et al. AlphaIibbeta3 biogenesis is controlled by engagement of alphaIib in the calnexin cycle via the N15-linked glycan. *Blood* 2006;107:2713–9.
16. Wilcox D.A., Wautier J.L., Pidard D. et al. A single amino acid substitution flanking the fourth calcium binding domain of alphaIib prevents maturation of the alphaIibbeta3 integrin complex. *J Biol Chem* 1994;269:4450–7.
17. Nelson E.J., Li J., Mitchell W.B. et al. Three novel betapropeller mutations causing Glanzmann thrombasthenia result in production of normally stable pro-alphaIib but variably impaired progression of pro-alphaIibbeta3 from endoplasmic reticulum to Golgi. *J Thromb Haemost* 2005;3:2773–83.
18. Gonzalez-Manchon C., Arias-Salgado E.G., Butta N. et al. A novel homozygous splice junction mutation in GPIIb associated with alternative splicing, nonsense-mediated decay of GPIIbmRNA, and type II Glanzmann's thrombasthenia. *J Thromb Haemost* 2003;1:1071–8.
19. Mansour W., Einav Y., Hauschner H. et al. An  $\alpha$ Ib mutation in patients with Glanzmann thrombasthenia located in the N-terminus of blade 1 of the betapropeller (Asn2Asp) disrupts a calcium binding site in blade 6. *J Thromb Haemost* 2011;9:192–200.
20. Raccuglia G. Grey platelet syndrome: a variety of qualitative platelet disorder. *Am J Med* 1971;51:818–28.
21. Gerrard J.M., Phillips D.R., Rao G.H. et al. Biochemical studies of two patients with the grey platelet syndrome. *J Clin Invest* 1980;66:102–9.
22. Levy-Toledano S., Caen J.P., Breton-Gorius J. et al. Gray platelet syndrome: alpha-granule deficiency. Its influence on platelet function. *J Lab Clin Med* 1981;98:831–48.
23. Nurden A.T., Kunicki T.J., Dupuis G. et al. Specific protein and glycoprotein deficiencies in platelets isolated from two patients with the grey platelet syndrome. *Blood* 1982;59:709–18.
24. Maynard D.M., Heijnen H.F., Gahl W.A. et al. The alpha granule proteome: novel proteins in normal and ghost granules in gray platelet syndrome. *J Thromb Haemost* 2010;8:1786–96.
25. White J.G. Ultrastructural studies of the gray platelet syndrome. *Am J Pathol* 1979;95:445–62.
26. Nurden A.T., Nurden P. The gray platelet syndrome: clinical spectrum of the disease. *Blood Rev* 2007;21:21–36.
27. Nurden A.T., Nurden P. Inherited defects of platelet function. *Rev Clin Exp Hematol* 2001;5:314–34.
28. Gunay-Aygun M., Zivony-Elboun Y., Gumruket F. et al. Gray platelet syndrome: natural history of a large patient cohort and locus assignment to chromosome 3p. *Blood* 2010;116:4990–5001.
29. Tubman V.N., Levine J.E., Campagnaet D.R. et al. X-linked gray platelet syndrome due to a GATA1 Arg216Gln mutation. *Blood* 2007;109:3297–9.
30. Monteferrario D., Bolar N.A., Marneth A.E. et al. A dominant-negative *GFI1B* mutation in the gray platelet syndrome. *N Engl J Med* 2014;370:245–53.
31. Albers C.A., Cvejic A., Favier R. et al. Exome sequencing identifies NBEAL2 as the causative gene for gray platelet syndrome. *Nat Genet* 2011;43:735–7.
32. Andrews R.K., Berndt M.C. Bernard – Soulier syndrome: an update. *Semin Thromb Hemost* 2013;39:656–62.
33. Buchbinder D., Nugent D.J., Fillipovich A.H. Wiskott–Aldrich syndrome: diagnosis, current management, and emerging treatments. *Appl Clin Genet* 2014;7:55–66.
34. Zhang S., Zhou X., Liu S. et al. MYH9-related disease: description of a large Chinese pedigree and a survey of reported mutations. *Acta Haematol* 2014;132:193–8.
35. Nurden A.T. Qualitative disorders of platelets and megakaryocytes. *J Thromb Haemost* 2005;3:1773–82.
36. Zwaal R.F., Comfurius P., Bevers E.M. Scott syndrome, a bleeding disorder caused by defective scrambling of membrane phospholipids. *Biochim Biophys Acta* 2004;1636:119–28.