DOI 10.34883/PI.2021.7.4.013
УДК 616.155.2-07-78-053.2

Ярец Ю.И.^{1,2}, Ромашевская И.П.^{1,2}, Ходулева С.А.², Малишевская И.А.¹, Демиденко А.Н.¹,
Мицура Е.Ф.¹

¹ Республиканский научно-практический центр радиационной медицины
и экологии человека, Гомель, Беларусь

² Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Yarec Y.^{1,2}, Romashevskaya I.^{1,2}, Choduleva S.², Malishevskaya I.¹, Dzemidzenko A.¹, Mitsura E.¹

¹ Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology,
Gomel, Belarus

² Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Агрегатометрия в диагностике тромбоцитопатий у детей

Aggregatometry in the Diagnosis
of Thrombocytopathies in Children

Резюме

Диагностика тромбоцитопатий (ТП) имеет свои сложности. Чаще всего ТП проявляются носовыми кровотечениями, меноррагиями и другими кровотечениями слизистых. Поэтому при наличии в анамнезе кровотечений по микроциркуляторному типу необходимо проводить подробный сбор анамнеза и соответствующие диагностические исследования. Оценку функциональной активности тромбоцитов в большинстве случаев осуществляют методом агрегатометрии. Современной лабораторной технологией является импедансная агрегатометрия, которая позволяет проводить исследование в цельной крови, т. е. в условиях, максимально приближенных к физиологическим. В представленном исследовании в ретроспективный анализ включили показатели агрегации тромбоцитов 31 ребенка, которых обследовали на предмет патологии тромбоцитов. Тромбоцитопения являлась критерием исключения. Полученные результаты согласовывались с данными литературы о диагностической значимости агрегатометрии у детей с подозрением на ТП.

Ключевые слова: дети, тромбоцитопатии, импедансная агрегатометрия.

Abstract

The diagnosis of thrombocytopathies (TP) has its own complexities. Most often, TP are manifested by nosebleeds, menorrhagias and other mucosal bleeding. Therefore, if there is a history of microcirculatory bleeding, it is necessary to conduct a detailed history collection and appropriate diagnostic studies. Evaluation of the functional activity of platelets is generally carried out by the method of aggregometry. A modern laboratory technology is impedance aggregometry, which makes it possible to conduct research in whole blood, i. e. in conditions as close as possible to physiological. In the presented study, the indicators of platelet aggregation of 31 children examined for platelet pathology were included in the retrospective analysis. Thrombocytopenia was the exclusion criterion. The results obtained were consistent with the literature data on the diagnostic value of aggregometry in children with suspected TP.

Keywords: children, thrombocytopathies, impedance aggregometry.

■ ВВЕДЕНИЕ

Тромбоцитопатии (ТП) – геморрагические заболевания, характеризующиеся нарушением функции тромбоцитов при их нормальном или субнормальном количестве (ВОЗ, 1969). По частоте ТП преобладают над тромбоцитопеническими состояниями. Считается, что 5–10% населения земного шара страдает функциональными нарушениями тромбоцитов в той или иной степени (чаще легкой). В основе ТП лежат качественные нарушения тромбоцитов за счет их функциональной неполноценности. При наследственных ТП это врожденный дефект, при приобретенных функциональные свойства кровяных пластинок страдают вследствие основного заболевания. ТП часто лежат в основе неясных носовых и десневых кровотечений, повышенной «синячковости», упорных маточных кровотечений у девочек в период полового созревания. По данным различных авторов, от 36 до 65% всех кровотечений у детей связаны с ТП. На долю ТП приходится 36% среди всех наследственных геморрагических заболеваний. Причем наследственные ТП чаще регистрируются у детей с легкой степенью кровоточивости, у детей с тяжелой пурпурой – нередко сочетанные нарушения гемостаза. К сожалению, ТП зачастую своевременно не диагностируются и пациенты долгое время безуспешно лечатся у специалистов узкого профиля – оториноларингологов (поскольку носовые кровотечения в ряде случаев являются единственным симптомом заболевания при геморрагическом диатезе), гинекологов, стоматологов и др. В то же время у большинства пациентов с этой патологией первые признаки кровоточивости появляются в детском возрасте [1].

Авторы опубликованных в 2015 году рекомендаций Международного общества тромбоза и гемостаза (International Society on Thrombosis and Hemostasis) по диагностике тромбоцитопатий/тромбоцитопений разделили доступные на данный момент лабораторные тесты на три уровня. К числу тестов первого уровня, необходимых в ходе инициального обследования, были отнесены агрегатометрия, оценка выброса маркеров альфа- и плотных гранул и анализ экспрессии основных поверхностных гликопротеинов посредством проточной цитометрии. Разработка метода агрегатометрии в начале 1960-х гг. положила начало диагностике качественной патологии тромбоцитов. Эта методика до сих пор остается «золотым стандартом» диагностики тромбоцитопатий, хотя оптимальный спектр индукторов агрегации и их концентраций является предметом обсуждения [2].

В исследовании используются различные индукторы агрегации, к которым относят аденозинфосфат (АДФ), коллаген, ристоцетин, а также индуктор, активирующий рецептор тромбина (АРТ) на тромбоцитах (TRAP-тест). АДФ стимулирует активацию тромбоцитов арахидоновой кислотой, которая является субстратом для циклооксигеназы. Циклооксигеназа продуцирует тромбоксан A₂ – мощный активатор тромбоцитов. Снижение агрегации с агонистом АДФ наблюдается при тромбастении Гланцмана, дефекте P2Y₁₂, синдроме «серых» тромбоцитов, дефиците фосфолипазы A₂, дефицитах плотных гранул, синдроме Вискотта – Олдрича. Снижение агрегации в TRAP-тесте наблюдается при синдроме Бернара – Сулье, нарушениях секреции, синдроме «серых» тромбоцитов [3].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить показатели агрегации тромбоцитов у детей с подозрением на ТП.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы результаты лабораторных исследований агрегационной функции тромбоцитов у 31 пациента в возрасте от 4 до 18 лет, находившегося на стационарном лечении в гематологическом отделении для детей ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Показаниями для назначения исследования явились клинические признаки ТП в виде кровоточивости микроциркуляторного типа. Критериями исключения из исследования были тромбоцитопения любой степени и коагулопатии. Объектом исследования являлись тромбоциты цельной периферической венозной крови, которую получали с антикоагулянтом гирудином в стандартные системы S-Monovette 1,7 мл. Методом импедансной агрегатометрии оценивали агрегационную функцию тромбоцитов (агрегометр Multiplate, Roche, Германия). В качестве индукторов агрегации использовали индукторы АДФ и АРТ на тромбоцитах (TRAP-тест).

Импедансная агрегатометрия проводится в одноразовых диспосистемах, имеющих специальное покрытие, предотвращающее спонтанную активацию тромбоцитов. В диспосистеме встроены две пары измерительных электродов и мешалка с тефлоновым покрытием. Благодаря наличию двух пар электродов каждый тест в образце проводится в дубли для повышения точности исследования. Агрегационная кривая и ее основные параметры рассчитываются автоматически. Изменение сопротивления выражается в условных единицах, названных агрегационными – AU (aggregation unit). Повышение импеданса, возникающее в результате прикрепления тромбоцитов к сенсорам, выражается в виде условных агрегационных единиц (AU), соотнесенных ко времени (мин.) [4].

Референтными считали значения, указанные в инструкциях к диагностическим наборам, для агрегации с АДФ – 530–1220 AU/мин, для агрегации с АРТ – 940–1560 AU/мин соответственно. Расчеты и графические построения выполняли в пакетах PAST (version 3.19) и TrX (version 1.5).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

К числу клинических проявлений повышенной кровоточивости относились: кожный геморрагический синдром (у 8 пациентов), носовые кровотечения (у 21 пациента), меноррагии (у 2 пациенток).

Анализ распределения значений агрегации тромбоцитов с индуктором АДФ показал наличие сниженных значений (менее 530 AU/мин) у 19,4% (6) пациентов. У большинства пациентов (80,6%, n=25) значения агрегации с АДФ составляли от 556 до 1235, т. е. находились в пределах нормальных значений (рис. 1).

Показатели TRAP-теста у пациентов чаще были снижены и в 48,4% (15) случаев составляли 525–940 AU/мин. У 16 пациентов (51,6%) наблюдались нормальные значения от 967 до 1498 AU/мин (рис. 2).

Полученные данные согласуются с результатами других исследований, которые оценивали агрегацию тромбоцитов с помощью оптического (турбидиметрического) метода. До 50% пациентов

Рис. 1. Распределение показателей агрегации тромбоцитов с индуктором АДФ: распределение носило нормальный характер (критерий Шапиро – Уилка $W_{(31)}=0,97$; $p=0,6$)

Fig. 1. Distribution of indicators of platelet aggregation with an ADP inducer: the distribution was normal (Shapiro – Wilk test $W_{(31)}=0.97$; $p=0.6$)

Рис. 2. Распределение показателей агрегации тромбоцитов с индуктором АРТ: распределение носило нормальный характер (критерий Шапиро – Уилка $W_{(31)}=0,96$; $p=0,32$)

Fig. 2. Distribution of indicators of platelet aggregation with an ART inducer: the distribution was normal (Shapiro – Wilk test $W_{(31)}=0.96$; $p=0.32$)

с наследственными ТП или подозрением на ТП не имели отклонений по данным световой агрегатометрии [3]. Недостаточная чувствительность, с одной стороны, объяснялась ограничениями самого метода. С другой стороны, большинство ТП характеризуются весьма умеренными проявлениями кровоточивости, которые бывает трудно отличить от проявлений геморрагического синдрома у здоровых лиц. Еще сложнее провести подобное разграничение в педиатрической практике. Кроме того, у активных детей кожный геморрагический синдром может быть

достаточно выражен за счет наличия посттравматических экхимозов, а частота инфекций верхних дыхательных путей, часто провоцирующих носовые кровотечения, выше, чем у взрослых. Вместе с тем большинство детей еще не сталкивались с «ситуациями высокого риска» (хирургические операции, экстракции постоянных зубов и т. д.). Таким образом, у значительной части пациентов нарушения функций тромбоцитов не успевают «заявить о себе» в детском возрасте. Тем не менее сами пациенты и/или их родители оценивали данные проявления как существенные, они стали причиной обращений к врачу.

В настоящем исследовании при подозрении на ТП у детей наибольшую чувствительность показали результаты TRAP-теста – 48,4% детей имели сниженные значения агрегации, выполненные с помощью импедансной агрегатометрии.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тромбоцитопатии могут не вызывать выраженных проявлений кровоточивости в повседневной жизни, однако таят в себе пожизненный риск развития тяжелых, потенциально жизнеугрожающих кровотечений при хирургических вмешательствах, в родах и т. п., что делает проблему их диагностики весьма актуальной. Нормальные результаты агрегатометрии в сочетании с умеренными проявлениями кровоточивости не позволяют однозначно исключить наличие наследственных нарушений функций тромбоцитов у пациентов детского возраста.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ozhegov A.M. (2007) Trombocitopatii u detej [Thrombocytopathy in children]. *Prakticheskaja medicina*, vol. 5, no 24, pp. 18–20.
2. Fedorova D.V., Zharkov P.A., Ignatova A.A., Fedotov A.Yu., Polokhov D.M., Poletaev A.V., Seregina E.A., Pshonkin A.V. (2018) Diagnostika trombocitopatij u detej: korrelyacii issledovaniya funkcional'noj aktivnosti trombocitov s klinicheskoy kartinoj i rezul'tatami agregometrii [Diagnostics of inherited functional platelet disorders (IFPD) in children: correlations between results of flow cytometry, clinical phenotype and results of light transmission aggregometry]. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*, vol. 17, no 1, pp. 16–22. doi: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-16-22.
3. Fedorova D.V., Zharkov P.A., Plyasunova S.A., Seregina E.A., Ignatova A.A. (2017) Diagnostika vrozhdennyh narushenij funkcij trombocitov: sovremennoe sostojanie voprosa [Modern approach to diagnosis of inherited functional platelet disorders]. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*, vol. 16, no 1, pp. 83–95. doi: 10.24287/1726-1708-2017-16-1-83-95.
4. Mel'nik A.A. (2016) Laboratornye metody ocenki funkcional'noj aktivnosti trombocitov i ih klinicheskoe znachenie [Laboratory methods for assessing the functional activity of platelets and their clinical significance]. *Zdorov'e Ukrainy*, vol. 380, no 7, pp. 90–91.

Подана/Submitted: 12.10.2021

Принята/Accepted: 05.11.2021

Контакты/Contacts: artyut@mail.ru