

Диагностика тромбоцитопатий у детей: корреляции исследования функциональной активности тромбоцитов с клинической картиной и результатами агрегометрии

Д.В. Федорова¹, П.А. Жарков¹, А.А. Игнатова¹, А.Ю. Федотов¹, Д.М. Полохов¹, А.В. Полетаев¹, Е.А. Серегина¹, А.В. Пшонкин^{1, 2}

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва
² ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Контактная информация:

Федорова Дарья Викторовна,
 врач-гематолог консультативного
 отделения НИИЦ детской гематоло-
 гии, онкологии и иммунологии
 им. Дмитрия Рогачева Минздрава
 России, Москва.
 Адрес: 117997, Москва, ГСП-7,
 ул. Саморы Машела, 1
 Тел.: 8 (495) 287-6570, доб. 1702
 E-mail: daria.fedorova@fccho-
 moscow.ru

Врожденные тромбоцитопатии – гетерогенная группа заболеваний, для диагностики которых используются световая трансмиссионная агрегометрия и обладающий рядом преимуществ более новый метод, тест функциональной активности тромбоцитов (ФАТ), основанный на проточной цитометрии тромбоцитов до и после активации. Цель работы – оценка взаимосвязи нарушений, выявляемых по данным агрегометрии и ФАТ, и корреляции выявленных дефектов с клинической картиной. В ретроспективный анализ включили 50 детей, обследованных на предмет наследственной патологии тромбоцитов. Всем пациентам был проведен тест ФАТ и агрегометрия с основными индукторами. Тромбоцитопения являлась критерием исключения. Тяжесть клинических проявлений оценивалась по шкале ISTH BAT. Диагноз «тромбастения Гланцмана» (ТГ) был установлен 7 пациентам, дефицит плотных и/или альфа-гранул тромбоцитов выявлен у 13, снижение концентрации активной фракции интегрин $\alpha\text{IIb}\beta 3$ после стимуляции – у 5, их сочетание – у 4 детей. Ни один из пациентов с изолированным дефицитом гранул не имел патологических изменений в агрегатограммах. Количество баллов по шкале ISTH BAT у пациентов с ТГ было достоверно выше, чем у остальных обследуемых. При исключении пациентов с ТГ из выборки различия в числе баллов у пациентов с изменениями в ФАТ и без таковых отсутствовали. Полученные результаты согласуются с данными литературы о низкой чувствительности световой агрегометрии к дефициту гранул тромбоцитов. Использование шкалы ISTH BAT не позволяло разграничить пациентов с изменениями по данным ФАТ и без таковых.

Ключевые слова: дети, геморрагический синдром, тромбоциты, тромбоцитопатии, световая агрегометрия, проточная цитометрия.

DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-1-16-22

Diagnostics of inherited functional platelet disorders (IFPD) in children: correlations between results of flow cytometry, clinical phenotype and results of light transmission aggregometry

D.V. Fedorova¹, P.A. Zharkov¹, A.A. Ignatova¹, A.Yu. Fedotov¹, D.M. Polokhov¹, A.V. Poletaev¹, E.A. Seregina¹, A.V. Pshonkin^{1, 2}

¹ Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow
² Department of Hematology, Oncology and radiotherapy Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

Correspondence:

Daria V. Fedorova, MD, hematologist
 of Outpatient Consultative Unit,
 Dmitry Rogachev National Research
 Center of Pediatric Hematology,
 Oncology and Immunology, Ministry of
 Health of the Russian Federation.
 Address: Russia 117997, Moscow,
 Samory Mashela st., 1
 Tel.: +7 (495) 287-6570, ext. 1702
 E-mail: daria.fedorova@fccho-
 moscow.ru

Inherited functional platelet disorders (IFPD) are very heterogeneous group of hemorrhagic diseases. Light transmission aggregometry (LTA) and flow cytometry of platelets are used for diagnostics of IFPD. Flow cytometry is the newer method with some advantages. Our aim was to access correlation between results of LTA and platelet flow cytometry, as well as relationship between results of flow cytometry and clinical phenotypes. Fifty children with suspicion of IFPD were included in initial retrospective analysis. Patients with thrombocytopenia were excluded. Severity of clinical phenotype was accessed by means of ISTH BAT score. Seven patients were diagnosed as having Glanzmann thrombasthenia (GT). Deficiency of δ - and/or α -granules was discovered in 13 children, deficiency of active form of integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ in 5, and its combination in 4. None of patients with granules deficiency had pathological findings in LTA results. ISTH BAT score was significantly higher in children with GT in comparison with other patients. But difference in ISTH BAT score was absent between groups with other defects and without any pathological findings in laboratory tests. Our results correspond with previously published data on low sensivity of LTA towards platelet granule disorders. Use of ISTH BAT score was unable to distinguish patients with functional platelet defects and those without any defects accordingly flow cytometry results.

Key words: children, bleeding, platelets, inherited platelet functional disorders, light transmission aggregometry, flow cytometry.

Наследственные тромбоцитопатии (нарушения функций тромбоцитов) представляют собой весьма гетерогенную и трудную для диагностики группу заболеваний [1–3]. К нарушению функционирования тромбоцитарного звена гемостаза могут приводить различные дефекты, включая изменения экспрессии поверхностных интегрinov, нарушения внутриклеточных сигнальных путей тромбоцитов, дефицит альфа- и/или плотных гранул и нарушение их секреции [2]. Для большинства заболеваний из группы наследственных тромбоцитопатий постановка диагноза – сложный процесс, требующий проведения большого количества лабораторных тестов с последующей комплексной оценкой их результатов [1–3].

Авторы опубликованных в 2015 году рекомендаций Международного общества тромбоза и гемостаза (*International Society on Thrombosis and Hemostasis*) по диагностике наследственных тромбоцитопатий/тромбоцитопений разделили доступные на данный момент лабораторные тесты на три уровня [1]. К числу тестов первого уровня, необходимых в ходе инициального обследования, были отнесены световая трансмиссионная агрегометрия, оценка выброса маркеров альфа- и плотных гранул и анализ экспрессии основных поверхностных гликопротеинов посредством проточной цитометрии [1].

Разработка метода световой трансмиссионной агрегометрии в начале 1960-х годов положила начало диагностике качественной патологии тромбоцитов [4]. Эта методика до сих пор остается «золотым стандартом» диагностики тромбоцитопатий, хотя оптимальный спектр индукторов агрегации и их концентраций является предметом обсуждения [2, 5]. Согласно рекомендациям ISTH, на инициальном этапе необходимая панель включает ристоцетин, АДФ, коллаген, адреналин и арахидоновую кислоту [1].

К недостаткам световой агрегометрии относится ее зависимость от погрешностей преаналитического этапа и числа тромбоцитов (принято считать, что проведение адекватного анализа возможно, если число тромбоцитов в пробе составляет 150–600 тыс./мкл) [2, 5–8]. Кроме того, существенным ограничением возможностей методики является ее недостаточная чувствительность [5], что особенно актуально для пациентов с дефицитом и дефектами секреции гранул. Так, в работе *C.P. Hayward* и соавт. 86% пациентов с дефицитом плотных гранул не имели нарушений по данным агрегометрии [9].

Новый, весьма перспективный метод диагностики функциональных нарушений тромбоцитов – проточная цитометрия, которая позволяет давать количественную оценку экспрессии поверхностных рецепторов и компонентов альфа- и плотных гранул тромбоцитов после дегрануляции [10–13]. Важ-

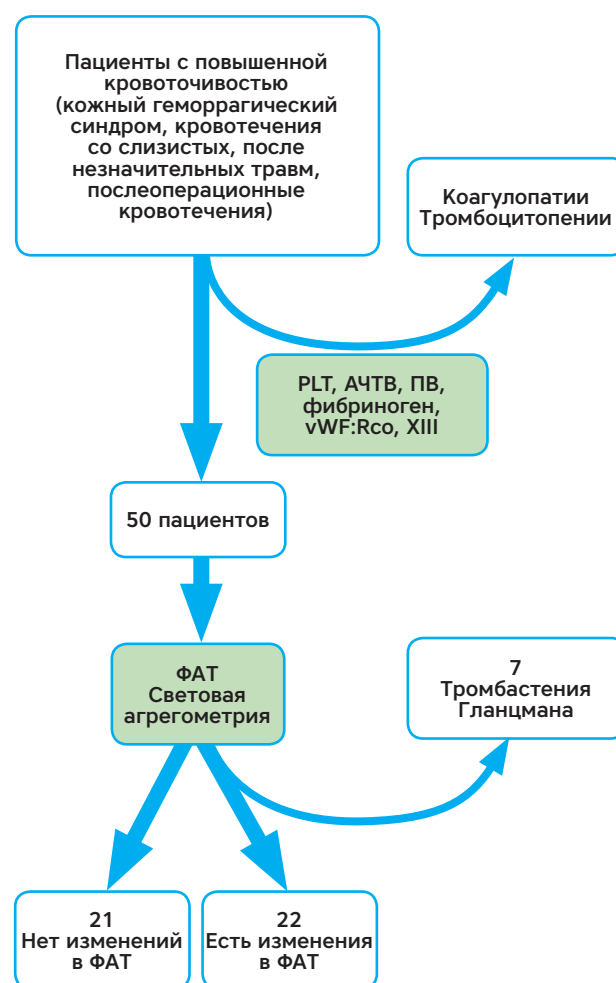
нейшее преимущество этого метода – возможность оценивать активацию тромбоцитов после добавления специфических агонистов. К маркерам активации относятся конформационные изменения интегрина $\alpha\text{IIb}\beta_3$, поверхностная экспрессия компонентов гранул и сборка комплексов факторов свертывания на поверхности тромбоцитов. В качестве маркера дегрануляции альфа-гранул используется Р-селектин (CD62P). Выброс плотных гранул определяют по появлению на поверхности тромбоцитов белка CD63, а также путем оценки захвата и выброса мепакрина – красителя, селективно связывающегося с адениновыми нуклеотидами в плотных гранулах [11–15].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ретроспективное исследование были включены 50 пациентов (22 мальчика и 28 девочек) в возрасте от 7 мес. до 18 лет, проходивших обследование на предмет наследственной патологии тромбоцитов на базе Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России с мая 2016 по июнь 2017 года (рис. 1).

Рисунок 1

Схема исследования



У всех пациентов, включенных в исследование, по данным первичного скрининга (гемограмма, активированное частичное тромбопластиновое время, протромбиновое время, тромбиновое время, фибриноген по Квику, активность фактора Виллебранда и фактора свертывания XIII), было исключено наличие геморрагической коагулопатии и тромбоцитопении. Пациенты с доказанными (генетически подтвержденными) наследственными тромбоцитопатиями/тромбоцитопениями не вошли в исследование в связи с потенциальной возможностью влияния тромбоцитопении на результаты агрегатограмм.

С целью объективизации оценки геморрагических проявлений у пациентов использовали шкалу оценки кровоточивости ISTH BAT [16] (табл.).

Исследование показателей в группе пациентов с тромбастенией Гланцмана (ТГ) проводили отдельно, его результаты не вошли в общий анализ.

Статистическая обработка данных. Для статистических расчетов использовали программное обеспечение Stata 13.1 (StataCorp LP, USA). Количественные переменные представлены средними значениями и интерквартильными интервалами (IQR). Сравнение групп независимых переменных прово-

Таблица

Шкала оценки кровоточивости ISTH Bleeding Assessment Tool [16, с сокращениями]

Симптом	Оценка в баллах				
	0	1	2	3	4
Носовые кровотечения	Нет/ тривиальные	> 5 раз в год или > 10 мин	Только консультация*	Тампонада, антифибринолитики	Трансфузии компонентов крови, введение концен- тратов факторов свертывания
Кожный геморрагический синдром	Нет/ тривиальный	Более 5 экхимозов (> 1 см) на открытых участках тела	Только консультация*	Выраженный	Спонтанные гематомы, требующие терапии
Кровотечения из незначительных ран	Нет/ тривиальные	> 5 раз в год или > 10 мин	Только консультация*	Хирургический гемостаз	Трансфузии компонентов крови, введение концентратов факторов свертывания
При удалении зубов	Нет/ тривиальные/ не производилось	Менее чем в 25% всех процедур, не требуют вмешательства	Более чем в 25% всех процедур, не требуют вмешательства	Тампонада лунки, наложение швов	Трансфузии компонентов крови, введение концентратов факторов свертывания
Постоперационные кровотечения	Нет/ тривиальные/ не производилось	Менее чем в 25% всех процедур, не требуют вмешательства	Более чем в 25% всех процедур, не требуют вмешательства	Хирургический гемостаз или антифибринолитики	Трансфузии компонентов крови, введение концентратов факторов свертывания
Меноррагии	Нет/ тривиальные	Только консультация или смена гигиенических про- кладок чаще, чем 1 раз за 2 ч, наличие сгустков	Требуют гормональной терапии, или антифи- бринолитиков, или сапплементации железом, или необходимость пропу- скать работу/школу более 2 раз в год	Требуют гормональной терапии и антифибри- нолитиков или присутствуют с момента менархе и продолжаются более 12 мес.	Требуют экстренной госпитализации, гемотрансфузий, хирургических вмешательств (кюретаж, абляция эндометрия)
Внутричерепные кровоизлияния	Нет	—	—	Субдуральные	Субарахноидальные, внутричерепные
Гемартрозы	Нет	Посттравматические, не требуют терапии	Спонтанные, не требуют терапии	Спонтанные или посттравматиче- ские, требуют заме- стительной терапии	Требуют гемотрансфузий

* Пациент обращался за консультацией и был направлен на обследование.

дили посредством U-критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считали значения $p < 0,05$. Все тесты были двусторонними.

Забор крови. Для проведения исследования забор крови осуществляли из периферической вены путем вакуумной аспирации в стандартные пробирки (*S-Monovette* 3,0 мл), содержащие 3,2%-ный раствор цитрата натрия в объемном соотношении 1:9. Забор крови проводили утром (9–10 ч), натощак. Лабораторные тесты выполняли в течение 2 ч после забора крови.

Световая трансмиссионная агрегометрия. Световую агрегометрию измеряли на богатой тромбоцитами плазме (PRP), полученной после центрифугирования при 200 g 10 мин (центрифуга *Labofuge* 400, *ThermoScientific*, Германия) на лазерном агрегометре АЛАТ-2 (НПО «Биола», Россия). Число тромбоцитов в PRP измеряли на гематологическом анализаторе *SysmexKH-21N*. Исследования проводили со следующими индукторами: АДФ – 5 мкМ (аденозиндифосфат, *SigmaAldrich*, Германия); коллаген – 2 мг/мл (НПО «Ренам», Россия); ристомидин – 15 мг/мл (НПО Ренам, Россия); адреналин – 5 мкМ (эпинефрин, МЭЗ, Россия); TRAP – 32 мкМ (*Verum Diagnostica GmbH*, Германия).

Тест ФАТ: 20 мкл цельной крови разводили буфером А (NaCl – 1,5 М; KCl – 27 мМ; MgCl₂ – 10 мМ; Na₂HPO₄ – 4 мМ; HEPES – 200 мМ; глюкоза – 50 мМ; BSA – 5%) в 20 раз. Тромбоциты нагружали мепакрином (1 мМ) в течение 30 мин при температуре 37 °С, затем активировали смесью пептидных аналогов тромбина и коллагена TRAP (88 нмоль) и CRP (0,27 мкг/мкл) в течение 10 мин при комнатной температуре. Окрашивание проводили антителами PAC1-FITC, CD42b-PE, CD62P-Alexa 647, CD61-PE, Annexin V – Alexa 647 (*Biolegend*, США) в течение 10 мин при комнатной температуре. Перед измерением на проточном цитофлуориметре *Novocyte* (*Acea Bioscience*, США) образцы разводили в 10 раз буфером А, содержащим 2,5 мМ хлорида кальция.

Для анализа связи между нарушениями функций тромбоцитов и клиническими проявлениями кровоточивости выбраны следующие характеристики: экспрессия активного интегрина $\alpha\text{IIb}\beta 3$ после стимуляции (связывание PAC1), степень выброса плотных гранул (разница флуоресценции загруженного мепакрина до и после активации) и экспрессия Р-селектина после активации (маркер альфа-гранул).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинические характеристики пациентов

Диагноз ТГ был установлен у 7 из 50 пациентов. Характеристики пациентов данной подгруппы анализировали отдельно. Их возраст на момент обращения

составлял от 9 мес. до 10 лет. Проявления геморрагического синдрома были отмечены у них в течение первых трех месяцев жизни (у 4 детей – в первые дни жизни). У всех пациентов с ТГ проявления кровоточивости имели системный характер (кожный геморрагический синдром, носовые кровотечения, кровотечения при прорезывании и смене зубов, кровотечения после забора крови, гематомы после инъекций). У 5 пациентов кровотечения приводили к анемизации, у четырех из них требовали трансфузий компонентов крови и/или введения активированного рекомбинантного VII фактора свертывания (Эптаког альфа).

У остальных пациентов возраст дебюта геморрагических проявлений имел значительный разброс – от 0 (с рождения) до 216 мес. (в среднем – 60 мес., или 5 лет; IQR – 12–84 мес., или 1–12 лет).

К числу клинических проявлений повышенной кровоточивости относились: кожный геморрагический синдром (у 31 пациента), носовые кровотечения (у 25 пациентов), кровотечения при смене/удалении зубов (у 5 пациентов), длительные послеоперационные кровотечения (у 3 пациентов), меноррагии (у 3 девушек). У 21 из 43 пациентов отмечены системные проявления кровоточивости (более одной локализации).

Кровотечения приводили к анемизации у 5 пациентов; экстренное обращение за медицинской помощью требовалось 8 пациентам; 2 пациентам для остановки кровотечения хотя бы однократно требовалось введение активированного рекомбинантного VII фактора свертывания (Эптаког альфа). Семейный анамнез повышенной кровоточивости имел место у 9 детей.

Индексы кровоточивости

У пациентов с ТГ расчетный индекс кровоточивости по шкале ISTH BAT находился в диапазоне от 8 до 12 баллов (в среднем – 9,7; IQR – 8–10). У остальных пациентов оценка по шкале ISTH BAT находилась в интервале от 2 до 11 (в среднем – 3,7; IQR – 2–5), то есть была статистически значимо ниже, чем у пациентов с ТГ ($p = 0,00014$; U-критерий Манна–Уитни).

При сравнении тяжести клинических проявлений среди пациентов, имевших какие-либо отклонения, по данным ФАТ, и не имевших таковых, были получены следующие данные: сумма баллов для первых составляла от 2 до 11 (в среднем – 3,8; IQR – 2–5), для вторых – от 2 до 7 (в среднем – 3,5; среднее IQR – 2–5). Различия между группами статистически недостоверны ($p = 0,88076$, U-критерий Манна–Уитни). Не получено достоверных различий при сравнении доли пациентов с системными проявлениями кровоточивости и анемизирующими кровотечениями, а также при сравнении возраста дебюта геморрагических проявлений у пациентов обеих групп. Вместе с

тем обе пациентки, нуждавшиеся во введении Эптакога альфа, относились к числу детей с сочетанным дефицитом альфа- и плотных гранул.

У 24 пациентов оценка по шкале ISTH BAT составила 2 балла – это верхняя граница нормы для здоровых детей. Тем не менее по решению лечащего врача эти пациенты были направлены на обследование, в результате у 13 из них выявили нарушения функций тромбоцитов: дефициты гранул – у 7; снижение связывания PAC1 после активации – у 3; сочетанные дефекты – у 3 детей.

Результаты ФАТ и световой агрегометрии

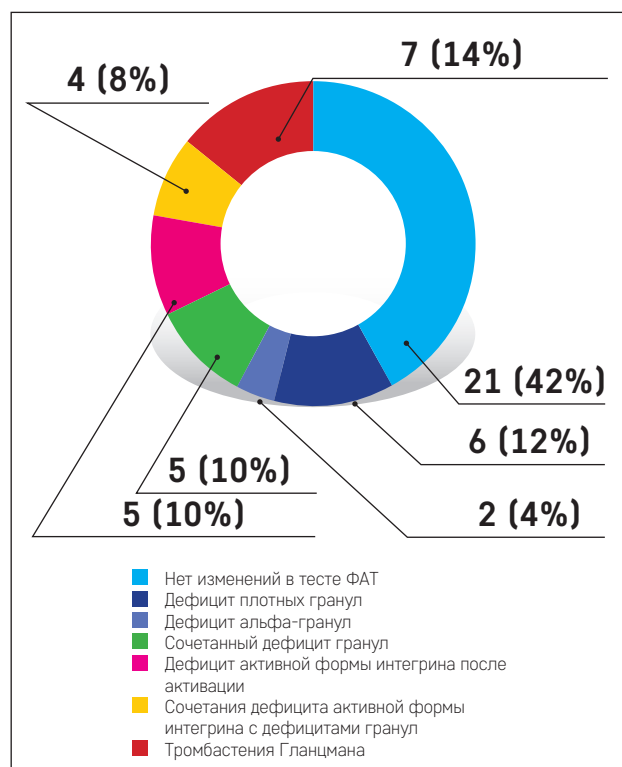
В группе пациентов с ТГ результаты лабораторных тестов во всех 7 случаях соответствовали критериям диагноза (практически полное отсутствие агрегации со всеми индукторами за исключением ристоцетина, резкое снижение связывания PAC1).

У остальных 43 пациентов изменения результатов ФАТ были выявлены в 22 случаях: дефицит плотных и/или альфа-гранул тромбоцитов – у 13; снижение экспрессии активной фракции интегрин $\alpha\text{IIb}\beta 3$ после стимуляции (связывания PAC1) – у 5, а также их сочетание – у 4 пациентов (рис. 2).

У 20 пациентов не выявлено отклонений ни по данным ФАТ, ни по данным агрегометрии.

У 2 из 13 пациентов с дефицитом гранул пациентов была отмечена дезагрегация с АДФ (у одного – в сочетании с гипоагрегацией с адреналином), еще у одного – изолированное снижение агрегации с адреналином.

Рисунок 2
Результаты теста ФАТ



Среди 6 пациентов со снижением активной фракции интегрин $\alpha\text{IIb}\beta 3$ у одного имело место изолированное снижение агрегации с коллагеном, еще у одного – дезагрегация с АДФ.

В группу пациентов с сочетанием дефицита гранул и снижения активной фракции интегрин вошло 4 человека: у одного из них имело место изолированное снижение агрегации с коллагеном, еще у одного – гипоагрегация с адреналином и TRAP.

Только у одной пациентки изменения агрегации (деагрегация с АДФ, снижение агрегации с адреналином) были отмечены на фоне нормальных показателей ФАТ.

Необходимо отметить, что дезагрегация с АДФ, изолированная гипоагрегация с адреналином и их сочетание рассматриваются как вариант нормы [1]. Таким образом, изменения в агрегации, которые могут расцениваться как патологические (изолированная гипоагрегация с коллагеном, снижение агрегации с адреналином и TRAP), были выявлены только у 4 пациентов – у каждого из них, по данным ФАТ, отмечено снижение активной фракции интегрин. Ни один из пациентов с изолированным дефицитом гранул не имел патологических изменений в агрегограммах.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные нами результаты согласуются с данными литературы [9, 16] и свидетельствуют о том, что световая агрегометрия обладает крайне низкой чувствительностью к дефициту гранул тромбоцитов. Данный факт подчеркивает необходимость применения метода проточной цитометрии для диагностики нетяжелых тромбоцитопатий, которые не могут быть выявлены посредством агрегометрии.

В небольшой группе пациентов с ТГ результаты ФАТ и агрегометрии полностью соответствовали друг другу.

Применение шкалы оценки кровоточивости ISTH BAT в нашей когорте пациентов не позволяло разграничить пациентов с тромбоцитопатиями и тех, у кого, по данным проведенного обследования, не было получено убедительных данных о наличии функциональных расстройств тромбоцитов. Помимо недостаточной мощности выборки, это объясняется и рядом объективных причин. Большинство тромбоцитопатий характеризуется весьма умеренными проявлениями кровоточивости, которые бывает трудно отличить от проявлений геморрагического синдрома у здоровых лиц [17, 18]. Еще сложнее провести подобное разграничение в педиатрической практике. С одной стороны, 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 сталкивалось 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.

В исследованной нами когорте пациентов у 24 (48%) детей оценка по шкале кровоточивости ISTH BAT составляла 2 балла – это верхняя граница нормы для детей согласно результатам исследования на больших группах здоровых лиц [19]. Тем не менее сами пациенты и/или их родители оценивали данные проявления как существенные, они стали причиной обращений ко врачу. В группе с «физиологическими» проявлениями кровоточивости у 13 из 24 пациентов были выявлены те или иные нарушения, по данным ФАТ (в большинстве случаев – дефицит гранул тромбоцитов). Таким образом, в педиатрической практике, с нашей точки зрения, низкая сумма баллов по формализованным шкалам оценки кровоточивости сама по себе не может являться основанием для отказа от обследования.

Интересно, что в недавней работе G.C. Lowe и соавт. о применении шкалы ISTH BAT у взрослых пациентов с подозрением на тромбоцитопатию оценка в группе обследуемых была выше (в среднем – 12; IQR – 8–16), чем в нашей когорте, и достоверно отличалась от оценки в группе здоровых добровольцев [20]. Данное различие, возможно, объясняется именно большим числом ситуаций «высокого риска» в анамнезе у взрослых пациентов. В этой работе оценка по шкале ISTH BAT не отличалась у пациентов с наличием и отсутствием изменений в результатах лабораторных тестов [20].

ВЫВОД

«Нетяжелые» 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. Проточная цитометрия тромбоцитов (метод ФАТ), с нашей точки зрения, – перспективная методика, позволяющая выявлять легкие дефекты тромбоцитарного звена гемостаза. Основными ограничениями в проведенном исследовании были небольшой размер выборки и исключительная ее разнородность. Тем не менее полученные нами данные свидетельствуют о том, что нормальные результаты агрегометрии в сочетании с умеренными проявлениями кровоточивости не позволяют однозначно исключить наличие наследственных нарушений функций тромбоцитов у пациентов детского возраста.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Д.В. Федорова <http://orcid.org/0000-0003-4567-1871>

А.Ю. Игнатова <http://orcid.org/0000-0002-5217-3937>

П.А. Жарков <http://orcid.org/0000-0003-4384-6754>

А.В. Полетаев <http://orcid.org/0000-0001-5209-2099>

Литература

- Gresele P. Subcommittee on Platelet Physiology of the International Society on Thrombosis and Hemostasis. Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost 2015; 13 (2): 314–22.
- Dovlatova N. Current status and future prospects for platelet function testing in the diagnosis of inherited bleeding disorders. Br J Haematol. 2015; 170 (2): 150–61.
- Watson S.P., Lowe G.C., Lordkipanidzé M., Morgan N.V., GAPP consortium. Genotyping and phenotyping of platelet function disorders. J Thromb Haemost 2013; 1 (Suppl 1): 351–63.
- Born G. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. Nature 1962; 9 (194): 927–9.
- Boender J., Kruip M.J., Leebeek F. A diagnostic approach to mild bleeding disorders. J Thromb Haemost 2016; 14 (8): 1507–16.
- Cattaneo M., Cerletti C., Harrison P., Hayward C.P., Kenny D., Nugent D., et al. Recommendations for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH. J Thromb Haemost 2013; 11: 1183–9.
- Harrison P., Mackie I., Mumford A., Briggs C., Liesner R., Winter M., Machin S., et al. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. Br J Haematol 2011; 155 (1): 30–44.
- Norman J.E., Westbury S.K., Jones M.L., Mumford A.D. How should we test for nonsevere heritable platelet function disorders? Int J Lab Hematol 2014; 36 (3): 326–33.
- Hayward C.P., Pai M., Liu Y., Moffat K.A., Seetharan J., Webert K.E., et al.

- Diagnostic utility of light transmission platelet aggregometry : results from a prospective study of individuals referred for bleeding disorder assessments. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (4): 676–84.
10. Демина И.А., Жарков П.А., Пантелеев М.А. Использование метода функциональной активности тромбоцитов у детей с геморрагическим синдромом. *Гематология и трансфузиология. Восточная Европа* 2015; 1: 157–64.
 11. Linden M.D. Platelet Flow Cytometry. *Methods Mol Biol* 2013; 992: 241–62.
 12. Michelson A.D. Evaluation of platelet function by flow cytometry. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2006; 35 (1, 2): 67–82.
 13. Carubbi C., Masselli E., Gesi M., Galli D., Mirandola P., Vitale M., Gobbi G. Cytofluorimetric platelet analysis. *Semin Thromb Hemost* 2014; 40: 88–98.
 14. Wall J.E., Buijs-Wilts M., Arnold J.T., Wang W., White M.M., Jennings L.K., Jackson C.W. A flow cytometric assay using mepacrine for study of uptake and release of platelet dense granule contents. *Br J Haematol* 1995; 89: 380–5.
 15. Cai H., Mullier F., Frotscher B., Briquel M.E., Toussaint M., Massin F., Lecompte T., et al. Usefulness of flow cytometric mepacrine uptake / Release combined with CD63 assay in diagnosis of patients with suspected platelet dense granule disorder. *Semin Thromb Hemost* 2016; 42 (3): 282–91.
 16. Dawood B.B., Lowe G.C., Lordkipanidzé M., Bem D., Daly M.E., Makris M., Mumford A., et al. Evaluation of participants with suspected heritable platelet function disorders including recommendation and validation of a streamlined agonist panel. *Blood* 2012; 120 (25): 5041–50.
 17. Rodeghiero F., Tosi A., Abshire T., Arnold D.M., Collier B., James P., et al. ISTH/SSC bleeding assessment tool : a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 2063–5.
 18. Mauer A.C., Khazanov N.A., Levenkova N., Tian S., Barbour E.M., Khalida C., et al. Impact of sex, age, race, ethnicity and aspirin use on bleeding symptoms in healthy adults. *J Thromb Haemost* 2011; 9 (1): 100–8.
 19. Elbatarny M., Mollah S., Grabel J., Bae S., Deforest M., Tuttle A., et al. Normal range of bleeding scores for the ISTH-BAT: adult and pediatric data from the merging project. *Haemophil* 2014; 20 (6): 831–5.
 20. Lowe G.C., Lordkipanidzé M., Watson S.P. UK GAPP study group. et al. Utility of the ISTH bleeding assessment tool in predicting platelet defects in participants with suspected inherited platelet function disorders. *J Thromb Haemost* 2013; 11 (9): 1663–8.