

М.А. Пантелеев<sup>1,2,3</sup>, Г.А. Новичкова<sup>1</sup>**МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА ПРИ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ, <sup>2</sup>Физический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, <sup>3</sup>Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, РФ

**Кровотечения и тромбозы, связанные с нарушениями количества и качества тромбоцитов, занимают важное место в структуре осложнений при онкогематологических заболеваниях (ОГЗ) у детей и взрослых. Однако механизмы этих нарушений плохо изучены, а методы лабораторного контроля качества тромбоцитов не развиты. В статье рассматриваются современные представления об устройстве и функционировании тромбоцитов, о влиянии ОГЗ и их терапии на количество и качество тромбоцитов, а также существующий прогресс и перспективы методов лабораторного контроля тромбоцитарного гемостаза.**

**Ключевые слова:** тромбоциты, онкогематологические заболевания, лейкоз, тромбоцитоз, кровотечения, проточная цитометрия.

**Цит.:** М.А. Пантелеев, Г.А. Новичкова. Механизмы нарушений тромбоцитарного гемостаза при онкогематологических заболеваниях. Педиатрия. 2018; 97 (4): 181–186.

М.А. Panteleev<sup>1,2,3</sup>, G.A. Novichkova<sup>1</sup>**MECHANISMS OF PLATELET HEMOSTASIS DISORDERS IN ONCOHEMATOLOGICAL DISEASES**<sup>1</sup>National Scientific-Practical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology n.a. D. Rogachev; <sup>2</sup>Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University; <sup>3</sup>Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology RAS, Moscow, Russia

**Bleeding and thrombosis associated with impaired number and quality of platelets have an important place in the structure of complications in oncohematological diseases in children and adults. However, the mechanisms of these disorders have been poorly studied, and methods of laboratory control of the platelets quality are not developed. The article reviews modern ideas about the structure and functioning of platelets, the impact of oncohematological diseases and their therapy on the number and quality of platelets, as well as the current progress and prospects for methods of laboratory monitoring of platelet hemostasis.**

**Keywords:** platelets, oncohematological diseases, leucosis, thrombocytosis, bleeding, flow cytometry.

**Quote:** M.A. Panteleev, G.A. Novichkova. Mechanisms of platelet hemostasis disorders in oncohematological diseases. Pediatrics. 2018; 97 (4): 181–186.

Нарушения функции тромбоцитов (Тр) играют важную роль в патогенезе разнообразных

заболеваний и состояний. Поскольку Тр в норме участвуют не только в гемостазе, но и в регене-

**Контактная информация:**

**Пантелеев Михаил Александрович** – д.м.н., проф. РАН, зав. лабораторией клеточного гемостаза и тромбоза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» МЗ РФ  
**Адрес:** Россия, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1  
**Тел.:** (495) 287-65-70 доб. 5315,  
**E-mail:** mapanteleev@yandex.ru  
Статья поступила 6.02.18,  
принята к печати 6.06.18.

**Contact Information:**

**Panteleev Mikhail Alexandrovich** – MD., prof. of RAS, head of laboratory of cellular hemostasis and thrombosis at National Scientific-Practical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology n.a. D. Rogachev  
**Address:** Russia, 117997, Moscow, Samora Mashel str., 1  
**Tel.:** (495) 287-65-70 ext. 5315,  
**E-mail:** mapanteleev@yandex.ru  
Received on Feb. 6, 2018,  
submitted for publication on Jun. 6, 2018.

рации, ангиогенезе и иммунитете, их патологические роли также очень широки. Это особенно справедливо для онкологических и онкогематологических состояний, которые не только сами по себе провоцируют разнонаправленные нарушения тромбоцитарного звена, но также дополнительно отягощены инфекциями и противоопухолевой терапией. В настоящее время проблема нарушений тромбоцитарного гемостаза при онкогематологических заболеваниях (ОГЗ), в т.ч. у детей, начала получать признание: при многих из них частота тромботических или геморрагических осложнений оценивается как 30–50%, и эти осложнения в конечном итоге являются ведущей причиной смертности [1]. Изменения количества и качества Тр оказывают критическое влияние на частоту и степень таких осложнений. В статье рассматриваются основные современные представления о том, что происходит с Тр при ОГЗ.

### Структура Тр и его активация

Рассмотрим основные особенности Тр. Его ключевой задачей является формирование тромбоцитарного агрегата в месте ранения, предотвращающего кровопотерю (рис. 1). В исходном неактивированном виде Тр напоминают двояковыпуклые «тарелочки». Только при активации форма Тр меняется, становясь в большинстве случаев амебовидной. Форма Тр поддерживается как спектриновым цитоскелетом, придающим их оболочке упругость, так и кольцом из тубулиновых микротрубочек, которое разрушается при активации. Цитоплазма клетки содержит многочисленные гранулы, главными из которых являются плотные гранулы, содержащие преимущественно низкомолекулярные вещества, такие как серотонин и аденозиндифосфат, и альфа-гранулы, содержащие белки — фибриноген, тромбоспондин, Р-селектин, фактор свертывания V, фактор фон Виллебранда (ФВ) и многие другие. Содержимое этих гранул секреторируется при активации.

Основными физиологическими активаторами Тр считаются: 1) коллаген — главный белок внеклеточного матрикса; 2) тромбин — сериновая протеиназа, центральный фермент плазменной системы свертывания; 3) аденозиндифосфат (АДФ), который выделяется из разрушенных клеток сосуда или секреторируется плотными гранулами самих Тр; 4) тромбоксан А<sub>2</sub> — липид из класса эйкозаноидов, синтезируемый и выделяемый Тр.

Действие каждого из тромбоцитарных активаторов опосредуется специализированными рецепторами (рис. 2) в мембране Тр [2]. Так, коллаген активирует Тр через гликопротеин VI, тромбин имеет два главных протеиназ-активируемых рецептора PAR1 и PAR4, действие АДФ происходит через пуринорецепторы P2Y1 и P2Y12. Стимуляция любого из рецепторов ведет к активации сложной сети каскадов внутриклеточной сигнализации, которые управляют ответом клетки; причем разные рецепторы в целом запускают разные пути.

Активация Тр внешне проявляется многочисленными внутренними перестройками и изменениями свойств, основными среди которых считаются: 1) изменение формы; 2) усиление способности к адгезии — прикреплению к месту повреждения; 3) появление способности к агрегации — прикреплению к другим Тр с целью формирования полноценной пробки; 4) секреция описанных выше многочисленных низко- и высокомолекулярных соединений из плотных гранул, альфа-гранул и других источников; 5) экспонирование прокоагулянтной мембраны [3].

Часть этих свойств служит для реализации главной функции Тр — формирования гемостатической пробки, другая — для ускорения реакций свертывания крови. Так, экспонирование прокоагулянтной мембраны и секреция альфа-гранул необходимы для осуществления именно второй функции Тр.

Многие ключевые реакции свертывания являются мембранозависимыми, ускоряясь на многие порядки в присутствии отрицательно заряженных фосфолипидных мембран, с которыми белки свертывания связываются посредством так называемых кальциевых мостиков [4]. В нормальном состоянии мембрана Тр не поддерживает реакций свертывания. Отрицательно заряженные фосфолипиды, в первую очередь фосфатидилсерин, сосредоточены на внутреннем слое мембраны, а фосфатидилхолин внешнего слоя связывает факторы свертывания гораздо хуже. Несмотря на то, что некоторые факторы свертывания могут связываться и с неактивированными Тр, это не приводит к формированию активных ферментативных комплексов.

Активация Тр приводит к активации фермента скрамблазы, который начинает быстро, специфично, двусторонне и АТФ-независимо перебрасывать отрицательно заряженные фосфолипиды из одного слоя в другой. В результате происходит ускоренное установление равновесия, при котором концентрация фосфатидилсерина в обоих слоях становится одинаковой. Кроме того, при активации Тр имеет место экспозиция и/или конформационное изменение

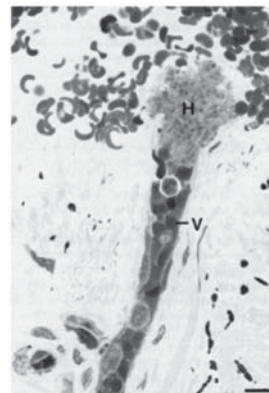


Рис. 1. Гемостатический агрегат, формируемый Тр в ране [12].

Поверхностная рана кожи, соответствующая тесту времени кровотечения, была нанесена на глубину 1,5 мм; биопсия проведена через 3 мин после ранения, окраска тетроксидом калия, шкала масштаба 10 мкм.

многих трансмембранных белков внешнего слоя мембраны, и они приобретают способность специфически связывать факторы свертывания, ускоряя реакции с их участием.

Вообще говоря, активированное состояние Тр может быть разным: активация Тр имеет несколько степеней, и экспрессия прокоагулянтной поверхности является одной из высших. Только тромбин или коллаген могут вызывать такой сильный ответ. Более слабые активаторы, особенно АДФ, могут вносить вклад в работу сильных активаторов [5]. Однако они не способны самостоятельно вызвать выход фосфатидилсерина на внешний слой мембраны; их эффекты сводятся к изменению формы Тр, агрегации и секреции части гранул.

### Формирование тромбоцитарных агрегатов *in vivo*

Современные знания о функционировании тромбоцитарного звена гемостаза базируются на нескольких ключевых представлениях [6] (рис. 2).

Для того, чтобы закрыть повреждение в стенке сосуда, Тр должны туда попасть. Несмотря на маленький размер, они не могут это сделать, как это делают молекулы – коэффициент диффузии броуновского движения Тр слишком мал. Тр не имеют систем активного движения – ни жгутиков, ни ресничек. Как же Тр попадают к месту повреждения на стенке сосуда? Первым шагом является вытеснение Тр к стенкам, осуществляемое эритроцитами. Красные клетки крови занимают почти половину ее объема, они на порядок превосходят Тр как по концентрации, так и по массе. Столкновения эритроцитов,двигающихся с разными скоростями на разных линиях тока, между собой ведут к их перераспределению и концентрации у оси сосуда. Легкие и малочисленные Тр оказываются постоянно вытеснены на периферию, что крайне удобно, так как именно там, около потенциальных мест повреждения, находится их рабочее место; таким образом, локальная концентрация Тр у стенки сосуда на порядок превышает среднюю по крови. Более того, даже у стенок сосуда Тр постоянно терпят столкновения с эритроцитами, что ведет фактически к тому самому перемешиванию, которое необходимо для возникновения взаимодействия. Благодаря таким столкновениям, Тр часто прижимаются к стенке, и, если там оказывается место повреждения, они могут к нему прикрепиться. Помимо двух главных механизмов – вытеснения и постоянного толкания – сейчас обсуждаются и другие, но бесспорным является экспериментальный факт: присутствие эритроцитов больше чем в 10 раз увеличивает скорость роста тромбоцитарного агрегата на поврежденной поверхности.

Второй проблемой является необходимость быстрой и бережной остановки Тр, оказавшегося у места повреждения или около растущего тромба. Для этого служит специальный рецептор на Тр, гликопротеин IIb-V-IX, и растворенный в крови ФВ. Этот фактор, циркулирующий в виде больших мультимеров до 100 нанометров в диаметре, способен обратимо связываться с колла-

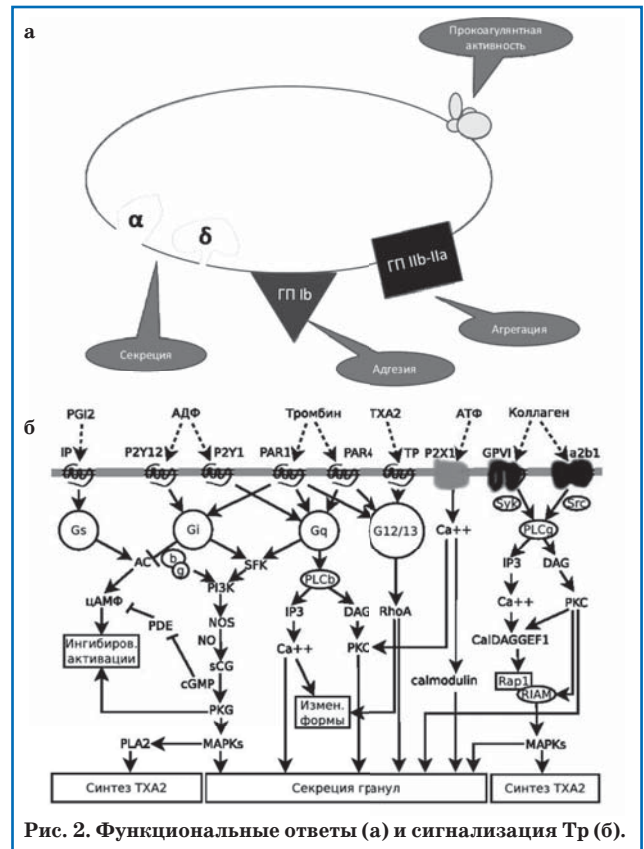


Рис. 2. Функциональные ответы (а) и сигнализация Тр (б).

геном и Тр в составе тромба, так что он быстро покрывает их. Проносящиеся мимо Тр цепляются за ФВ и начинают останавливаться. Слабо привязанный ФВ может отсоединиться и вновь присоединяться к коллагену, так что Тр могут достаточно быстро остановиться, проскользив всего несколько своих длин.

Обратимо связавшийся с местом повреждения Тр может оторваться; однако активация способна его стабилизировать. Тр первого слоя, севшие непосредственно на ФВ/коллаген, активируются коллагеном через рецептор гликопротеин VI и затем связываются с коллагеном прочно через рецептор интегрин  $\alpha 2\beta 1$ : белки этого семейства способны менять свою конформацию и прочность связывания с мишенью под действием внутриклеточных сигналов. В своем обычном состоянии интегрин  $\alpha 2\beta 1$  не взаимодействует с коллагеном, а при активации крепится к нему прочно.

Прикрепление следующих слоев Тр, т.е. собственно рост тромба, происходит аналогичным образом: сначала клетки непрочно садятся на ФВ, а после активации надежно закрепляются через рецепторы-интегрины. Разница заключается в том, что Тр между собой связываются через другой интегрин, называемый  $\alpha 1\text{Ib}\beta 3$  (или гликопротеин IIb-IIIa): эти рецепторы хватают с двух сторон молекулы фибриногена и через такие «фибриногеновые мостики» связывают отдельные Тр. Второе различие заключается в том, что следующие слои Тр активируются не контактом с коллагеном (который уже закрыт первым слоем), а растворимыми активаторами, которые либо секретируются самими Тр (АДФ, тромбосан  $A_2$ ), либо образуются в ходе работы плазменной системы свертывания (тромбин).



## Эпидемиология нарушений гемостаза при ОГЗ

Риски нарушения гемостаза при ОГЗ хорошо известны на протяжении более чем 100 лет. Связь между раком и тромбозом впервые была обнаружена в 1865 г. Арманом Труссо и в настоящий момент для большинства онкологических заболеваний исследована достаточно тщательно. Риски венозного тромбоза варьируют в широких пределах (от 0,1 до 50%), но в среднем составляют 10–15% [7]. Молекулярные механизмы этих нарушений до сих пор являются предметом интенсивного изучения, но нет сомнений, что связь системы гемостаза и опухоли работает в обе стороны: онкологические заболевания сопровождаются повышенными рисками тромбозов, а Тр и свертывание крови играют ключевые роли в развитии опухоли, формировании сети сосудов в ней и метастазах.

Напротив, риски тромбозов (и в меньшей степени кровотечений) при ОГЗ долго не были ясны, в особенности у детей. Относительная редкость, гетерогенность и сложность течения этих заболеваний, высокие вклады инфекций и терапии в их осложнения, а также отсутствие чувствительных интегральных методов оценки состояния гемостаза затрудняли получение количественных данных. Лишь в последние десятилетия ситуация начала изменяться.

Риски тромбозов в онкогематологии очень вариабельны в зависимости от заболевания, но в целом считаются сопоставимыми с солидными опухолями. Для отдельных категорий (множественная миелома, лимфома ЦНС) частота тромбозов на химиотерапии (ХТ) может составлять 50–60%. Венозные тромбозы доминируют над артериальными: их доля составляет от 80% (при лейкозах) до 100% (при неходжкинских лимфомах) [7, 8]. Исключения наблюдаются только в очень специальных случаях (например, при терапии понатинибом, для которой характерны артериальные тромбозы).

Риски кровотечений при ОГЗ в целом превышают таковые при солидных опухолях. Так, при остром лимфолейкозе (ОЛЛ) частота геморагий на этапе диагноза составляет 40–70%, и вклад в смертность достигает 7%. Вплоть до введения трансретиноевой кислоты в практику терапии промиелоцитарного лейкоза фатальные кровотечения при нем были широко распространены; сейчас ситуация улучшилась. Однако даже «невинные» заболевания могут принести сюрпризы: так, хронический лимфолейкоз сам по себе не связан с частыми кровотечениями или тромбозами, но конкретно при терапии ибрутинибом частота кровотечений достигает 40–50%.

Статистика по педиатрической онкогематологии несколько менее надежная и подробная, но основные тенденции считаются установленными [8]. Ситуация с тромбозами для детей хорошо изучена при ОЛЛ: частота симптоматических венозных тромбозов в разных исследованиях варьирует от 1 до 14% (важно понимать, что даже 1% — это в 500 раз чаще здоровой популяции детей), а бессимптомных (в основном

связанных с катетерами) достигает 40%. При остром миелоидном лейкозе (ОМЛ) и лимфомах эта частота оценивается как 11 и 16% соответственно. При эссенциальном тромбоцитозе и истинной полицитемии распространенность тромбозов составляет около 40%.

Кровотечения считаются главной причиной смерти детей с ОЛЛ и ОМЛ на ранних стадиях заболевания, отвечая за 50–70% смертельных случаев (преимущественно внутричерепные и легочные кровотечения). На более поздних этапах терапии их роль в структуре причин смертности и инвалидности заметно снижается, но распространенность остается достаточно существенной. ХТ, инфекции, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток могут быть связаны с соответствующими рисками кровотечений.

## Механизмы нарушения тромбоцитарного гемостаза при ОГЗ и их терапии

Какую роль в описанных выше процессах играют Тр, а насколько — другие компоненты системы гемостаза? Насколько изменяются количество и качество Тр при ОГЗ? Насколько эти изменения отвечают за кровотечения и тромбозы?

Тр являются ключевыми участниками процессов тромбоза и гемостаза независимо от того, как они были инициированы. Тем не менее, многие непосредственные причины тромботических рисков при ОГЗ связаны в первую очередь с изменениями в системе свертывания крови и фибринолиза (например, повышенной экспрессией тканевого фактора; при лимфоме Ходжкина раковые клетки производят TGFβ, который повышает PAI-1) или изменениями вязкости крови (в результате лейкоцитоза; эффекты зависят от размеров и деформируемости раковых клеток). В каких-то из этих процессов Тр играют менее существенные роли, в каких-то — более. Так, при ряде заболеваний показано, что Тр могут переносить на себе микровезикулы с тканевым фактором.

Напротив, в кровотечениях именно тромбоцитарное звено играет ведущую роль, хотя другие факторы (локальные повреждения эндотелия, стимуляция фибринолиза, дисфункция печени) тоже могут вносить вклад.

На первом месте среди причин кровотечений стоит проблема количества Тр, т.е. тромбоцитопения, вызванная как самим заболеванием, так и его терапией [9]. Корреляция между уровнем Тр и рисками кровоизлияний для большинства состояний хорошо установлена, но вопрос о безопасных уровнях Тр и порогах переливания тромбоцитомассы остается открытым. Тромбоцитопения как следствие основного заболевания широко распространена в первую очередь при ОЛЛ и ОМЛ. Она считается обусловленной в первую очередь самой по себе инфильтрацией костного мозга, но также может быть связана со спленомегалией, системной активацией свертывания, аутоиммунной реакцией и другими механизмами.

Тромбоцитопения, связанная с ХТ ОГЗ, характерна для многих препаратов: по грубым оценкам, частота тромбоцитопенических ослож-

нений ХТ в среднем в онкогематологии достигает 70–80%, в то время как для солидных опухолей она составляет 15–30%. Предположительно, основным механизмом ее развития является миелосупрессия, но для разных препаратов существенный вклад могут вносить аутоиммунные механизмы, увеличенное потребление Тр в селезенке за счет гепатотоксичности, прямые эффекты на производство Тр или индукция у них апоптоза. Распространенность и тяжесть тромбоцитопении могут варьировать в широких пределах в зависимости от заболевания, препарата и схемы терапии. Классическим примером ХТ-индуцированной тромбоцитопении является фаза индукции при терапии ОМЛ, когда тромбоцитопения возникает практически обязательно.

На втором месте стоит дисфункция Тр, особенно актуальная для миелопролиферативных заболеваний. Парадоксальным образом при эссенциальном тромбоцитозе и истинной полицитемии она достигает такой степени, что риски кровотечений могут превышать риски тромбозов. Влияние ХТ на функцию Тр (за исключением прямой цитотоксичности) также изучено заметно хуже, чем их способность вызывать тромбоцитопению. Можно предположить, что это связано с тем, что само представление о функции Тр, изложенное в начале нашего обзора, сформировалось не так давно, а также с плохой применимостью теста агрегации при комбинации дисфункции и тромбоцитопении. Однако тут также есть яркие исключения: например, препарат нового поколения ибрутиниб, использующийся для терапии лимфопролиферативных заболеваний, вызывает кровоизлияния у 50% пациентов именно из-за нарушения ответа Тр на коллаген.

В целом, терапия ОГЗ может вести к разнообразным нарушениям гемостаза, которые преобладают по своим масштабам изменения, вызываемые самой болезнью. Какие-то из них также в основном связаны со свертыванием крови: так, L-аспарагиназа известна тем, что вызывает кровотечения во время терапии (из-за того, что снижаются уровни белков свертывания) и тромбозы у 40% пациентов после ее окончания (из-за того, что уровни природных антикоагулянтов тоже снижаются на терапии, а восстанавливаются медленнее). Широкий круг методов ХТ, ведущих к массовой смерти клеток, также считается фактором прокоагулянтного риска. Повышение факторов свертывания при использовании глюкокортикоидов считается причиной повышенного риска венозных тромбозов (до 15%) при их использовании. Свыше двух десятков широко используемых препаратов (от даунорубина до циклоспорина А) считаются ассоциированными с рисками тромботических микроангиопатий. Более сложен вопрос с такими препаратами, как ингибиторы эндотелиального фактора роста или его рецепторов: они вызывают разнообразные изменения в составе крови и сосудистой стенки, и для них сообщались как риски тромбозов, так и кровотечений.

Развитие препаратов нового поколения приводит к неожиданным последствиям в вопросах

тромбоза и гемостаза. В частности, интенсивная разработка препаратов на основе ингибиторов внутриклеточной сигнализации (в первую очередь, ингибиторов тирозин-киназ) приводит к неожиданным сюрпризам именно со стороны тромбоцитарного гемостаза, у которых тирозин-киназы играют существенные роли в механизмах передачи сигнала. Впрочем, нельзя исключать, что эти ингибиторы влияют на какие-то еще клетки. Сейчас эти проблемы лучше всего изучены для взрослых пациентов, так как именно у них эти препараты применяются в первую очередь. Два ярких противоположных примера — ибрутиниб и понатиниб. Первый из них представляет собой ингибитор тирозин-киназы Брутона, применяется, в частности, для терапии хронического лимфолейкоза. По оценкам различных клинических испытаний, частота кровоизлияний у пациентов на ибрутинибе составляла 26–55%, преимущественно легких. Интересно, что со временем эти кровоизлияния проходили, что заставляет предполагать, что они являются комбинацией эффекта препарата (который блокирует ответ Тр на коллаген) и самого заболевания (возможно, повышенное количество клеток с CD39 – ферментом, разрушающим аденозиндифосфат). Напротив, применяющийся при хроническом миелолейкозе понатиниб ассоциирован с артериальными (средний риск 33%) и венозными тромбозами (средний риск 6%) по неизвестному механизму.

### Тр и инфекции

Инфекционные осложнения, широко распространенные у пациентов с ОГЗ, ведут к системным тромбозам и вследствие этого к потреблению Тр и факторов свертывания, угрожающим кровотечениями. Сейчас считается, что главным механизмом развития системного свертывания при инфекции является экспрессия тканевого фактора эндотелием, связанная с воспалением. Однако прямая активация Тр бактериями разных штаммов и липополисахаридами была описана в ряде работ и может вносить вклад в тромбозы и кровотечения.

### Оценка функции Тр при ОГЗ

Лабораторное исследование функционального состояния Тр в настоящее время в целом находится в плачевном состоянии. Фактически, за исключением узкоспециализированных тестов (например, определения генетических дефектов или состояния мультимеров ФВ) и только развиваемых ныне интегральных тестов (на основе микрофлюидики и других подходов), в клинике сколько-нибудь преимущественно используются три подхода — подсчет числа Тр, исследование морфологии Тр в мазке крови и агрегометрия. Из них только последний является «функциональным» в полном смысле слова, но возможности его применения ограничены, и для сложных изменений состояния Тр у детей с ОГЗ он работает слабо. Для большинства ОГЗ тромбоцитопения делает его применение бессмысленным, так как

агрегометрия требует 100 000 Тр в 1 микролитре. Тем не менее для некоторых описанных выше ситуаций, когда уровень Тр достаточен, – риски кровотечения при терапии ибрутинибом или при эссенциальном тромбоцитозе — есть сведения об успешном применении агрегометрии для оценки рисков.

Многообещающим инструментом для исследования функции Тр при ОГЗ является проточная цитометрия [10, 11]. Используя флуоресцентно меченные антитела против рецепторов Тр или против компонентов гранул, а также маркеры выхода фосфатидилсерина (аннексин V или лактадгерин), а также активируя Тр различными стимуляторами, можно детектировать конкретные молекулярные изменения в составе мембранных гликопротеинов Тр, объем и выброс гранул, изменение формы, активацию интегринов и практически любые показатели одиночных Тр. Количество гликопротеинов I<sub>b</sub>, интегринов αIIbβ3, степень активации интегринов, выход гранул и др. можно охарактеризовать буквально в количестве молекул на клетку. В настоящее время идут активная разработка новых вариантов этого подхода, определение оптимальных условий и межлабораторная стандартизация. Вплоть до последнего времени такие тесты были «прикованы» к цитометрам — достаточно редким и дорогим приборам, которые требуют профессионального оператора и которые непрактично ставить в каждую клинику. Однако в последнее время разработаны варианты фиксации Тр, позволяющие сохранять их в исходном или активированном виде на несколько дней, чтобы производить удаленный анализ большинства их функций.

Второе возможное направление развития — разработка так называемых «глобальных» или «интегральных» тестов [4]. Их идея заключается в том, чтобы имитировать *in vitro* ключевые процессы, происходящие в организме при гемостазе или тромбозе. В некоторых из интегральных тестов (тест генерации тромбина, тромбоэластография, тромбодинамика) Тр играют вспомогательную роль, и только часть их функций может

быть оценена. Однако, как сейчас становится ясно, адекватно оценить функцию Тр в приближенных к организму условиях могут только интегральные методы, где рост тромба в цельной крови воспроизводится по согласию физиологическим представлениям, описанным в начале статьи [3]. В таких подходах кровь прокачивается через картриджи, губки, проточные камеры с коллагеном или иным активатором, и по формированию тромбов (либо чисто тромбоцитарных, либо смешанных фибриново-тромбоцитарных) делается заключение о состоянии гемостаза. Регистрация осуществляется либо видеомикроскопически, либо по нарастанию гидродинамического сопротивления в канале. В настоящее время исследование адгезии Тр в таких системах используется все чаще и приносит важные результаты, часто противоречащие данным классических методов. Многочисленные проточные камеры, разработанные различными компаниями или лабораториями, сейчас доступны коммерчески.

### Заключение

Нарушения системы гемостаза широко распространены при ОГЗ, в т.ч. у детей, и занимают важное место в списке причин смертности и инвалидности. Они обусловлены как самими заболеваниями, так и их терапией, а также многочисленными сопутствующими проблемами. Тромботические ситуации чаще всего связаны с плазменным гемостазом и в большинстве случаев имеют венозный характер (однако при некоторых ситуациях — как с понатинибом — имеют место яркие исключения). Напротив, геморрагии в первую очередь зависят от нарушений тромбоцитарного гемостаза, связанных как с тромбоцитопенией, так и с дисфункцией Тр. В настоящее время нет стандартизированных инструментов для определения рисков кровотечений, но интенсивная работа над их созданием активно ведется.

**Конфликт интересов:** работа поддержана грантами эндаумент-фонда «Врачи, инновации, наука — детям».

Pantelev M.A.  0000-0002-8128-7757

Novichkova G.A.  0000-0002-2322-5734

### Литература

1. Athale UH, Chan AK. Hemorrhagic complications in pediatric hematologic malignancies. *Semin. Thromb. Hemost.* 2007; 33 (4): 408–415.
2. Sveshnikova AN, Balatskiy AV, Demianova AS, Shepelyuk TO, Shakhidzhanov SS, Balatskaya MN, Pichugin AV, Ataullakhanov FI, Pantelev MA. Systems biology insights into the meaning of the platelet's dual-receptor thrombin signaling. *J. Thromb. Haemost.* 2016; 14 (10): 2045–2057.
3. Podoplelova NA, Sveshnikova AN, Kotova YN, Eckly A, Receveur N, Nepochurenko DY, Obyednnyi SI, Kireev II, Gachet C, Ataullakhanov FI, Mangin PH, Pantelev MA. Coagulation factors bound to procoagulant platelets concentrate in cap structures to promote clotting. *Blood.* 2016; 128 (13): 1745–1755.
4. Pantelev MA, Dashkevich NM, Ataullakhanov FI. Hemostasis and thrombosis beyond biochemistry: roles of geometry, flow and diffusion. *Thromb. Res.* 2015; 136 (4): 699–711.
5. Shakhidzhanov SS, Shaturny VI, Pantelev MA, Sveshnikova AN. Modulation and pre-amplification of PAR1 signaling by ADP acting via the P2Y12 receptor during platelet subpopulation formation. *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1850 (12): 2518–2529.
6. Jackson SP. Arterial thrombosis—insidious, unpredictable and deadly. *Nat. Med.* 2011; 17 (11): 1423–1436.
7. Franchini M. Thromboembolic risk in hematological

- malignancies. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015; 53 (8): 1139–1147.
8. Athale UH, Chan AK. Thromboembolic complications in pediatric hematologic malignancies. *Semin. Thromb. Hemost.* 2007; 33 (4): 416–426.
9. Tamamyran G, Danielyan S, Lambert MP. Chemotherapy induced thrombocytopenia in pediatric oncology. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2016; 99: 299–307.
10. Ignatova AA, Karpova OV, Trakhtman PE, Rumiantsev SA, Pantelev MA. Functional characteristics and clinical effectiveness of platelet concentrates treated with riboflavin and ultraviolet light in plasma and in platelet additive solution. *Vox. Sang.* 2016; 110 (3): 244–252.
11. Suntsova EV, Demina IM, Ignatova AA, Ershov NM, Trubina NM, Dobrynina J, Serkova IV, Supik ZS, Orekhova EV, Hachtryan LA, Kotskaya NN, Pshonkin AV, Maschan AA, Novichkova GA, Pantelev MA. Bleeding tendency and platelet function during treatment with romiplostim in children with severe immune thrombocytopenic purpura. *Int. J. Hematol.* 2017; 105 (6): 841–848.
12. Sixma JJ, van den Berg A. The haemostatic plug in haemophilia A: a morphological study of haemostatic plug formation in bleeding time skin wounds of patients with severe haemophilia A. *Br. J. Haematol.* 1984; 58 (4): 741–753.