

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ ДЕФИЦИТА ПЛОТНЫХ ГРАНУЛ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНОЙ С ВЫРАЖЕННЫМ ГЕМОРРАГИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Кошеед И. В.^{1*}, Мамаев А. Н.^{1,2}, Мотин Ю. Г.¹, Кудинов А. В.², Момот А. П.², Бабаева Т. Н.³

¹ КГБУЗ «Краевая клиническая больница», 656024, Барнаул, Россия

² Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 656024, Барнаул, Россия

³ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 630031, Новосибирск, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Дефицит плотных гранул (ДПГ) тромбоцитов — группа редких гетерогенных нарушений системы свертывания крови, при которых кровоточивость возникает вследствие функционально-морфологических нарушений тромбоцитарных органелл, накапливающих фосфаты и биоактивные амины.

Цель — представить клиническое наблюдение 37-летней больной с выраженным геморрагическим синдромом.

Основные сведения. Описано наблюдение возникновения геморрагических проявлений неуточненного генеза у больной и результаты обследования 25 здоровых добровольцев обоего пола в качестве контроля для отработки методов диагностики ДПГ. Изучали методы оценки системы гемостаза, морфологические особенности тромбоцитов при помощи электронной микроскопии, а также накопление тромбоцитами мепакрина с помощью проточного цитометра. Обнаружен ДПГ при помощи электронной микроскопии и подтвержден методом проточной цитометрии у больной с выраженными геморрагическими проявлениями, у которой в течение длительного периода времени диагноз не был верифицирован.

Ключевые слова: тромбоцитопатия, тромбоцитарный гемостаз, плотные гранулы, дефицит плотных гранул, электронная микроскопия тромбоцитов

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Для цитирования: Кошеед И.В., Мамаев А.Н., Мотин Ю.Г., Кудинов А.В., Момот А.П., Бабаева Т.Н. Клиническое наблюдение дефицита плотных гранул тромбоцитов у больной с выраженным геморрагическим синдромом. Гематология и трансфузиология. 2023; 68(1): 90–97. <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2023-68-1-90-97>

PLATELET DELTA GRANULES STORAGE POOL DEFICIENCY IN FEMALE PATIENT WITH SEVERE HEMORRHAGIC SYNDROME

Kosheed I. V.^{1*}, Mamaev A. N.^{1,2}, Motin Y. G.¹, Kudinov A. V.², Momot A. P.², Babaeva T. N.³

¹ Altai Regional Hospital, 656024, Barnaul, Russian Federation

² Altai Branch of National Medical Research Center for Hematology, 656024, Barnaul, Russian Federation

³ Novosibirsk State Medical University, 630031, Novosibirsk, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Platelet dense granule disorders are a group of rare heterogeneous disorders of the blood coagulation system in which bleeding occurs due to functional and morphological disorders of platelet organelles accumulating phosphates and bioactive amines.

Aim — to present a clinical case of a 37-year-old patient with severe hemorrhagic syndrome.

Basic information. An observation of the occurrence of hemorrhagic manifestations of unspecified genesis in a patient is described. The results of 25 healthy volunteer examinations of both sexes were used as a control for testing methods of diagnosis of Platelet dense granule disorder. Methods of assessing the hemostasis system, platelet morphological features using electron microscopy, as well as platelet accumulation of mepacrine using a flow cytometer were studied. Platelet dense granule disorder was detected by electron microscopy and confirmed by flow cytometry in a patient with severe hemorrhagic manifestations, in whom the diagnosis was not verified for a prolonged period of time.

Keywords: thrombocytopathy, platelet hemostasis, dense granules, platelet -granules storage pool deficiency, electron microscopy of platelets

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: the study had no sponsorship.

For citation: Kosheed I.V., Mamaev A.N., Motin Y.G., Kudinov A.V., Momot A.P., Babaeva T.N. Platelet Delta granules storage pool deficiency in female patient with severe hemorrhagic syndrome. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2023; 68(1): 90–97 (in Russian). <https://doi.org/10.35754/0234-5730-2023-68-1-90-97>

Введение

Плотные гранулы тромбоцитов свое название получили за интенсивную визуализацию при электронной микроскопии вследствие высокого содержания в них кальция и фосфора [1]. Дефицит плотных гранул (ДПГ) тромбоцитов представляет собой группу гетерогенных нарушений системы гемостаза, в основе которых лежит количественный дефект дельта-гранул тромбоцитов [2]. Хорошо известны синдромальные формы ДПГ тромбоцитов — синдром Чедиака — Хигаси и Германского — Пудлака, сочетающиеся с альбинизмом, кровоточивостью и рядом других отклонений [3–5]. Однако изолированный ДПГ тромбоцитов в литературе представлен мало, генетические аномалии, ответственные за это нарушение, также изучены недостаточно, доступные лабораторные методы не всегда позволяют обнаружить это заболевание. Поэтому нередко больным с ДПГ тромбоцитов не устанавливается правильный диагноз.

ДПГ тромбоцитов приводит к геморрагическому синдрому от легкой до тяжелой степени тяжести [6]. Abraham S. M. и соавт. [7] предоставили информацию о 6 больных с ДПГ тромбоцитов в возрасте от 19 месяцев до 17 лет, наиболее частым симптомом у которых было носовое кровотечение, у части больных возникали субдуральные гематомы, а у 17-летней больной наблюдались меноррагии и анемия, требовавшие переливания концентратов тромбоцитов и эритроцитов в дополнение к антифибринолитикам.

Одним из диагностических методов первой линии, оценивающих функцию тромбоцитов, является оптическая агрегометрия, основанная на оценке светопронускающей способности богатой тромбоцитами плазмы после добавления индукторов агрегации, таких как АДФ, адреналин, коллаген, ристомин, арахидоновая кислота и ряд других [8, 9]. При ДПГ тромбоцитов не всегда наблюдается нарушение агрегационной

функции тромбоцитов, лишь в ряде случаев выявляют отсутствие второй волны агрегации (чаще на АДФ) и снижение агрегации на коллаген [10–12]. «Золотым стандартом» диагностики ДПГ тромбоцитов является подсчет количества гранул и оценка их размеров с помощью электронной микроскопии [1, 13]. В последнее время все большее практическое значение приобретает исследование тромбоцитов методом проточной цитометрии [14, 15]. Для измерения содержания плотных гранул и их функциональной способности используют мепакрин, являющийся производным акридина. Методика основана на оценке разницы свечения, испускаемого тромбоцитами с накопленным мепакрином, до и после их активации [16–18], что позволяет дифференцировать ДПГ тромбоцитов и дефекты их мобилизации [19].

Цель настоящего сообщения — представить клиническое наблюдение 37-летней больной с выраженным геморрагическим синдромом, у которой ДПГ тромбоцитов обнаружен при помощи электронной микроскопии и подтвержден методом проточной цитометрии.

Материалы и методы

В работу включены образцы крови от 25 здоровых добровольцев обоего пола (средний возраст — 38 лет, диапазон возраста — от 18 до 51 года, 9 мужчин и 16 женщин) в качестве контроля и отработки методов диагностики ДПГ тромбоцитов, а также одна больная с геморрагическим синдромом неясного генеза.

Кровь для исследования забирали из локтевой вены в пластиковую пробирку, содержащую 3,2%-ный раствор натрия лимоннокислого трехзамещенного. Для взятия крови применяли иглу 19 G. Соотношение объемов крови и цитрата натрия — 9 : 1. Использовали вакуумные системы для забора крови. Кровь центрифугировали при 150–200 g в течение 5 мин.

Электронно-микроскопическое исследование нефиксированных тромбоцитов проводили в течение 2 часов после взятия крови. Для оценки количества плотных гранул 30 мкл богатой тромбоцитами плазмы наносили на покрытую формваром сетку (mesh-200) по методике J. White [15] в течение 15 сек. После отмывания в дистиллированной воде и высушивания сетки исследовали с помощью просвечивающего электронного микроскопа «Libra 120» (Carl Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 120 кВ с последующим фотографированием на увеличениях 1985, 6300 и 20 000. В первую очередь образцы исследовали на малом увеличении ($\times 250$) для оценки распределения материала на подложке, определения количества агрегатов и выбора репрезентативных участков для исследования. Количество плотных гранул подсчитывали в 60–120 нефиксированных тромбоцитах. В агрегатах тромбоцитов, а также тромбоцитах с явлениями распластывания, активации и дегрануляции,

пузырьковидными изменениями гиаломера плотные гранулы не подсчитывали. Плотными гранулами считали типичные электронноплотные образования округлой формы с «хвостами» или «в виде кошелька». Именно такие структуры большинство лабораторий NASCOLA расценивают как плотные гранулы. Образования средней и низкой электронной плотности небольших размеров или в виде «цепочек» не интерпретировали как плотные гранулы и исключали из подсчета. Морфометрические исследования проводили с использованием программной оболочки ITEM микроскопа «Libra 120» (Carl Zeiss, Германия). Для установления локальных особенностей пробоподготовки и уточнения нормальных диапазонов изучаемых морфологических параметров были изучены тромбоциты у 25 здоровых лиц.

Исследование тромбоцитов при помощи проточной цитофлуориметрии проводили в течение 2 часов после взятия крови. Для детекции применяли меченые антитела против GPIIb (CD41a) (Invitrogen eBioscience, США). Для оценки функционального состояния плотных гранул использовали мепакрин. Активацию тромбоцитов осуществляли коллагеном (ООО «Технология-Стандарт»). Для разведения образцов использовали фосфатно-солевой буфер (Bio-Rad, США), который перед началом работы фильтровали через шприцевой фильтр 0,22 мкм.

Все измерения выполнены на проточном цитометре «CytoFlex» (Beckman Coulter, США) с фиолетовым, синим и красным твердотельным лазерами. Результаты получали и обрабатывали с помощью программы «CytExpert». Для установления размеров применяли калибровочные шарики: 1,0 и 2,0 мкм из набора «Flow Cytometry Sub-micron Particle Size Reference Kit, Green Fluorescent» (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкциями производителя. Для исключения взаимного засвечивания от флуорофоров данной панели предварительно проводили компенсационный эксперимент с помощью набора «VersaComp Antibody Capture Beads» (Beckman Coulter, США).

После пробоподготовки богатую тромбоцитами плазму разводили фосфатно-солевым буфером. После разведения в образец добавляли мепакрин и инкубировали смесь в течение 30 мин в темном месте. Далее тромбоциты активировали добавлением коллагена. Пробы инкубировали 10 мин. После этого окрашивали загруженные мепакрином тромбоциты антителами к CD41 и инкубировали смесь еще в течение 20 мин. Далее окрашенную пробу разбавляли буфером и проводили измерение. Для неактивированных тромбоцитов методика отличалась лишь отсутствием стадии активации. Для установления локальных особенностей пробоподготовки и уточнения нормальных диапазонов изучаемых параметров цитометрии были изучены тромбоциты у 25 здоровых добровольцев.

Клиническое наблюдение

Больная В.О., 1985 г. рождения, обратилась в Алтайский центр патологии гемостаза для уточнения диагноза. На момент осмотра предъявляла жалобы на обильные и продолжительные месячные, носовые и десневые кровотечения, легкое образование синяков, кровотечение после удаления зубов, родов. В детском возрасте носовые кровотечения были чаще, по информации из медицинской документации ранее было обнаружено снижение содержания в крови антигена фактора фон Виллебранда — до 36 %, в связи с чем больная наблюдалась гематологом с диагнозом «болезнь Виллебранда». Со слов больной, для профилактики геморрагий использовала фактор свертывания крови VIII без существенного эффекта. Из хронических заболеваний отмечала двусторонний пиелонефрит на фоне аномалии развития, частые, до 7–9 раз в течение года, простудные заболевания. При опросе, осмотре и изучении медицинской информации обнаружены проявления дисплазии соединительной ткани: неоднократно были вывихи голеностопных суставов, пролапс митрального клапана, грыжи дисков L₄–S₁, киста правого яичника, анома-

лии почек и мочеочника. Наследственность по геморрагическим заболеваниям была не отягощена.

При осмотре кожные покровы были нормальной окраски, имелись единичные петехии без четкой локализации, а также экхимоз в области икроножной мышцы слева, имелся умеренный сколиоз. Подкожная жировая клетчатка была выражена слабо, лимфатические узлы не увеличены. Выслушивалось везикулярное дыхание, хрипов не было, частота дыхания — 15 в мин. Тоны сердца были ясные, ритм — правильный, шумов и акцентов не было, частота сердечных сокращений — 78 в мин, артериальное давление — 110/70. Живот при пальпации был мягкий, безболезненный, печень и селезенка не увеличены.

Для уточнения диагноза проведено исследование системы гемостаза (табл. 1). Было выявлено снижение агрегации тромбоцитов лишь на адреналин-индуктор. Не обнаружено снижения концентрации антигена и активности фактора фон Виллебранда, а также недостаточности коагуляционных факторов, активность фибринстабилизирующего фактора не была снижена. Кроме того, выполнено исследование клеток периферической крови с целью определения размера тромбо-

Таблица 1. Результаты исследования системы гемостаза у пациентки В.О.
Table 1. The results of clotting tests in patient V.O.

Методы исследования/Research Methods	Результат Result	Контроль Control
АПТВ, с/APTT, sec	24	26
Протромбиновое время, с/Prothrombin time, sec	11,8	12,3
Показатель по Квику, %/Prothrombin Quick, %	110	Более 60
МНО/INR	1,0	0,9–1,4
Тромбиновое время, с/Thrombin time, sec	19	19
Фибриноген, г/л/Fibrinogen, g/L	3,2	2,0–4,0
Активность фактора VIII, /FVIII activity, %	199	50–150
Активность фактора IX/FIX activity, %	158	50–150
Антиген фактора Виллебранда в плазме, (VWF:Ag), %/vWF Antigen (vWF:Ag), %	200	50–160
Активность фактора фон Виллебранда (vWF:RCO), %/vWF activity (vWF:RCO), %	90	60–150
Коллаген-связывающая способность фактора фон Виллебранда, % vWF collagen binding activity	134	40–250
Тромбоциты, ×10 ⁹ /л/Platelets ×10 ⁹ /L	187	170–380
Агрегация тромбоцитов — АДФ (10,0 мкг/мл = 2,0 × 10 ⁻⁵), % ADP-induced platelet aggregation (10 mcg/mL = 2.0 × 10 ⁻⁵), %	76	70–80
Агрегация тромбоцитов — адреналин (10 мкг/мл), % Epinephrine-induced platelet aggregation (10 mcg/mL), %	25	70–80
Агрегация тромбоцитов — коллаген (20 мг/мл), % Collagen-induced platelet aggregation (20 mg/mL)	86	70–80
Агрегация тромбоцитов — ристомицин (15 мг/мл), % Ristomycin-induced platelet aggregation (15 mg/mL), %	90	70–90
Агрегация тромбоцитов — ристомицин, низкие дозы, % Ristomycin-induced platelet aggregation (low doses), %	13	до 45

Примечание. АПТВ — активированное парциальное тромбопластиновое время; МНО — международное нормализованное отношение; АДФ — аденозиндифосфат.

Note vWF — von Willebrand factor; APTT — activated partial thromboplastin time; INR — international normalized ratio; ADP — adenosine diphosphate

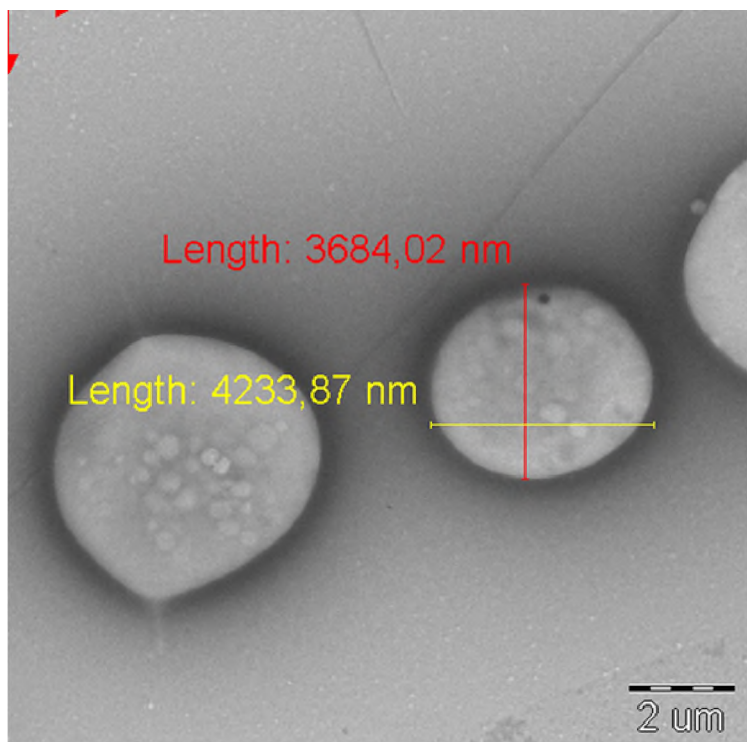


Рисунок 1. Тромбоциты при электронной микроскопии у больной В.О. Размер тромбоцитов умеренно увеличен: средний размер на подложке — 3,85–4,33 мкм; элементы ОКС немногочисленные, мелкие, грануломер скудный, δ-гранулы мелкие, располагаются преимущественно на границе грануломера

Figure 1. Electron microscopy of platelets in patient V.O. The average size of platelet spotted onto formvar-coated grids moderately increased up to 3.85–4.33 μm. The OCS elements are few and small, scant granulomere. Dense granules are small, located predominantly on the periphery of the granulomere.

цитов и наличия включений в лейкоциты, при котором не было обнаружено гигантских форм тромбоцитов.

Значимых нарушений коагуляционного гемостаза у больной с геморрагическими проявлениями не обнаружено, имелась лишь умеренная дисфункция тромбоцитов. Было выполнено исследование морфологии тромбоцитов при помощи электронной микроскопии. Исследованы 4 сетки Mesh 200. Определялись многочисленные тромбоциты округлой формы, расположенные поодиночке и малыми скоплениями. Размер тромбоцитов был незначительно увеличен: средний размер на подложке — 3,85–4,33 мкм; элементы канальцевой системы — немногочисленные, мелкие, грануломер скудный, плотные гранулы мелкие, располагались преимущественно на границе грануломера. Тромбоциты были с выраженными элементами грануломера, единичные. Немногочисленные агрегаты тромбоцитов, а также тромбоциты с явлениями расплывания, активации и дегрануляции в исследовании не учитывали. Среднее количество плотных гранул в одном тромбоците было 1,43, что существенно ниже нормы (норма — более 4,9).

Дополнительно для подтверждения диагноза было проведено исследование способности тромбоцитов к накоплению и секреции мепакрина до и после их активации, которую оценили с помощью метода проточной цитометрии. Для отобранной популяции CD41⁺ ис-

следовали интенсивность свечения до и после загрузки тромбоцитов мепакрином, а также после активации коллагеном загруженных мепакрином тромбоцитов. Появление свечения для CD41-положительных событий свидетельствовало о наличии плотных гранул в тромбоцитах и их функциональной способности к накоплению субстанций, в том числе мепакрина. После активации тромбоцитов оценили уменьшение количества положительных событий CD41⁺/FITC⁺, за счет выделения мепакрина тромбоцитами. Границу контроля ($n = 25$) для положительных событий проводили по неокрашенным образцам. При исследовании образцов богатой тромбоцитами плазмы в группе здоровых добровольцев положительные события после загрузки тромбоцитов мепакрином были в диапазоне 15–40 % и снижались в среднем до 5 % после активации тромбоцитов. У больной было получено снижение мепакриновой флуоресценции для CD41-положительных событий до 1,94 %, что свидетельствовало о нарушении функционирования плотных гранул тромбоцитов (рис. 2). После активации тромбоцитов коллагеном положительные события CD41⁺/FITC⁺ у больной были 1,09 % (рис. 3).

На основании полученных данных (уменьшение количества плотных гранул при электронной микроскопии, снижение мепакриновой флуоресценции для CD41-положительных событий) больной был установлен диагноз: «Тромбоцитопатия: дефицит плотных гранул, дисплазия соединительной ткани по типу недифференцированной». Были даны рекомендации по использованию ингибиторов фибринолиза, осмотр гинеколога для решения вопроса о применении гормональных контрацептивов и др.

Обсуждение

Дифференциация многочисленных вариантов тромбоцитопатий чрезвычайно затруднена в клинической практике вследствие недостаточной технической оснащённости гематологических лабораторий. Синдромальные формы ДПГ легче распознать, поскольку у таких больных имеется сопутствующая клиническая симптоматика (глазокожный альбинизм, иммунодефицит и другие нарушения) [20]. Изолированный ДПГ тромбоцитов диагностировать намного сложнее, при исследовании плазменного гемостаза не обнаруживаются какие-либо изменения, агрегационная функция тромбоцитов не всегда нарушена. Методы диагностики этого заболевания плохо стандартизированы, поэтому подавляющая часть клинических лабораторий не оценивают количество гранул тромбоцитов. Ограниченный перечень диагностических методик и низкая техническая оснащённость клинических лабораторий закономерно ведут к тому, что больных изолированным ДПГ тромбоцитов называют больными болезнью, «подобной болезни Виллебранда» (vWD-like), поскольку

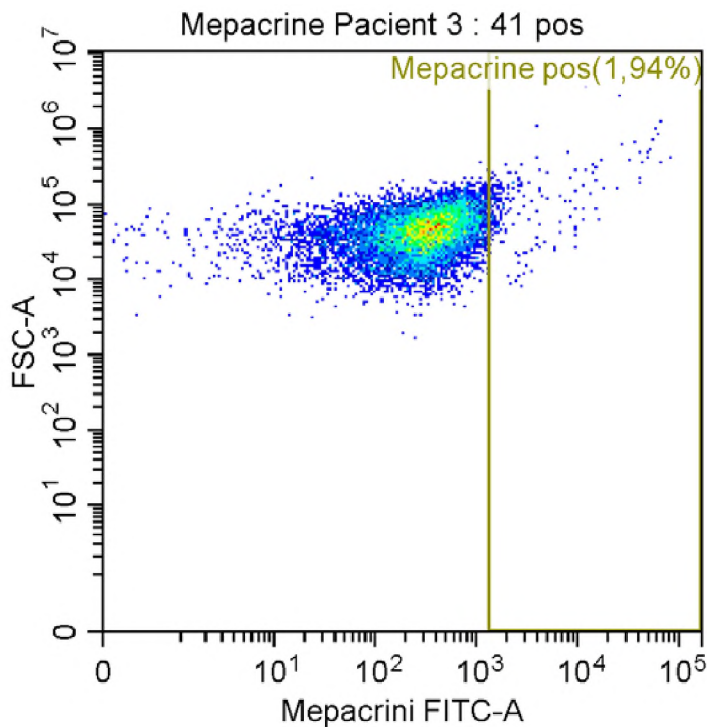


Рисунок 2. Уменьшение количества положительных событий по каналу FITC для CD41⁺ тромбоцитов после загрузки тромбоцитов мепакрином

Figure 2. Decreased fluorescence on the FITC channel for CD41⁺ platelets after platelet mepacrine loading

оба состояния проявляются одинаковыми симптомами [21]. В описываемом нами клиническом примере больная также длительное время наблюдалась гематологом с диагнозом «болезнь Виллебранда».

Исследование тромбоцитов методом проточной цитометрии было рекомендовано Международным обществом специалистов по тромбозу и гемостазу в качестве инструмента для диагностики нарушений функции тромбоцитов, в том числе ДПГ [15]. Накопление и высвобождение мепакрина плотными гранулами тромбоцитов также оценивают при помощи проточной цитометрии. В лаборатории патологии гемостаза г. Барнаула разработана методика диагностики ДПГ тромбоцитов при помощи проточной цитометрии, предварительные результаты ее внедрения (исследование 42 больных с геморрагическими проявлениями) весьма обнадеживают, результаты клиниче-

Литература

1. White J.G. Electron opaque structures in human platelets: Which are or are not dense bodies? *Platelets*. 2008; 19(6): 455–66. DOI: 10.1080/09537100802132671.
2. Шитикова А.С. Тромбоцитопатии, врожденные и приобретенные. Санкт-Петербург: ИИЦ ВМА; 2008.
3. Dupuis A., Bordet J.C., Eckly A., Gachet C. Platelet δ -storage pool disease: An update. *J Clin Med*. 2020; 9(8): 2508. DOI: 10.3390/jcm9082508.
4. 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(5): 603–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.06343.x.

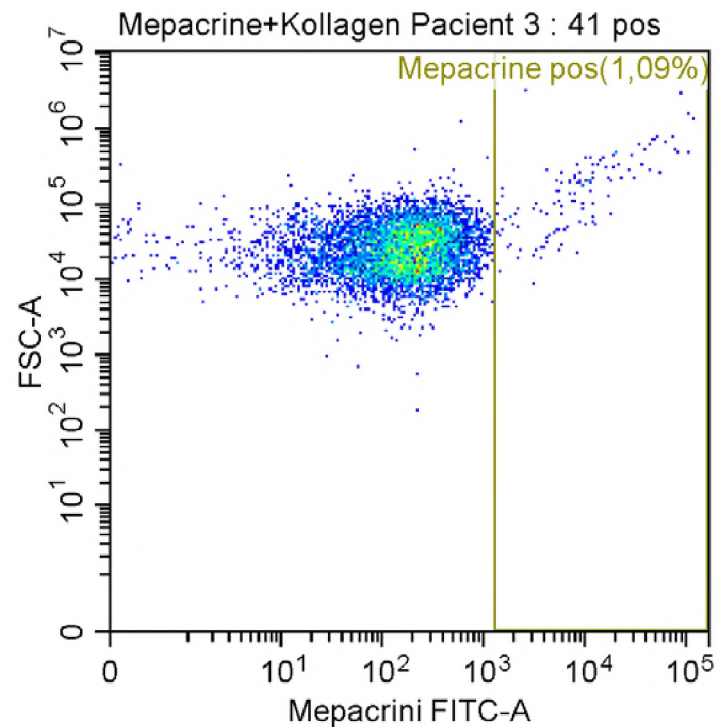


Рисунок 3. Свечение по каналу FITC для CD41⁺-тромбоцитов после активации их коллагеном

Figure 3. FITC channel luminescence for CD41⁺-platelets after activation by collagen

ской апробации этого современного диагностического метода будут представлены в очередной публикации.

Отсутствие возможности оценить плотные гранулы тромбоцитов у больных с рецидивами разных локализаций является причиной того, что в ряде клинических ситуаций больные с выраженным геморрагическим синдромом остаются без правильного диагноза и лечения. Представленное клиническое наблюдение демонстрирует, что исследование накопления мепакрина в тромбоцитах методом проточной цитометрии позволяет эффективно обнаружить ДПГ тромбоцитов. Кроме того, изучение поглощения и высвобождения мепакрина тромбоцитами на проточном цитометре имеет перспективное значение в диагностической практике гематолога, поскольку позволяет дифференцировать дефицит плотных гранул и дефект секреции (нарушение реакции высвобождения гранул).

References

1. White J.G. Electron opaque structures in human platelets: Which are or are not dense bodies? *Platelets*. 2008; 19(6): 455–66. DOI: 10.1080/09537100802132671.
2. Shitikova A.S. Thrombocytopathies, congenital and acquired. St. Petersburg: IIC VMA Publ.; 2008. (In Russian).
3. Dupuis A., Bordet J.C., Eckly A., Gachet C. Platelet δ -storage pool disease: An update. *J Clin Med*. 2020; 9(8): 2508. DOI: 10.3390/jcm9082508.
4. 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(5): 603–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.06343.x.

5. Демина И.А., Зозуля Н.И., Лихачева Е.А., и др. Синдром Германского – Пудлака: особенности дифференциальной диагностики редкой формы наследственной тромбоцитопатии. *Гематология и трансфузиология*. 2015; 60(4): 41–4.
6. Brunet J., Badin M., Chong M., et al. Bleeding risks for uncharacterized platelet function disorders. *Res Pract Thromb Haemost*. 2020; 4(5): 799–806. DOI: 10.1002/rth2.12374.
7. Abraham S.M., Boayue K., Ahmed I. Platelet delta storage pool deficiency in children: A case series. *Blood*. 2013; 122(21): 4747. DOI: 10.1182/blood.V122.21.4747.4747.
8. Мамаев А.Н. Практическая гемостазиология. М.: Практическая медицина; 2014.
9. Gesele 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. DOI: 10.1111/jth.12792.
10. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. М.: Медицина; 1989.
11. Ambrosio A.L., Di Pietro S.M. Storage pool diseases illuminate platelet dense granule biogenesis. *Platelets*. 2017; 28(2): 138–46. DOI: 10.1080/09537104.2016.1243789.
12. Aliotta A., Bertaggia Calderara D., Zermatten M.G., et al. Thrombocytopathies: Not just aggregation defects—the clinical relevance of procoagulant platelets. *J Clin Med*. 2021; 10(5): 894. DOI: 10.3390/jcm10050894.
13. Gunning W.T., Yoxheimer L., Smith M.R. Platelet aggregation assays do not reliably diagnose platelet delta granule storage pool deficiency. *J Hematol*. 2020; 10(4): 196–201. DOI: 10.14740/jh832.
14. Васильев С.А., Мазуров А.В., Пантелеев М.А. и др. Современная классификация наследственных тромбоцитопатий. *Гематология и трансфузиология*. 2018; 63(S1): 47.
15. Van Asten I., Blaauwgeers M., Granneman L., et al. Flow cytometric mepacrine fluorescence can be used for the exclusion of platelet dense granule deficiency. *J Thromb Haemost*. 2020; 18(3): 706–13. DOI: 10.1111/jth.14698.
16. Wall J.E., Buijs-Wilts M., Arnold J.T., et al. A flow cytometric assay using mepacrine for study of uptake and release of platelet dense granule contents. *Br J Haematol*. 1995; 89(2): 380–5. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1995.tb03315.x.
17. Ramström A.S., Fagerberg I.H., Lindahl T.L. A flow cytometric assay for the study of dense granule storage and release in human platelets. *Platelets*. 1999; 10(2–3): 153–8. DOI: 10.1080/09537109976239.
18. Ignatova A.A., Ponomarenko E.A., Polokhov D.M., et al. Flow cytometry for pediatric platelets. *Platelets*. 2019; 30(4): 428–37. DOI: 10.1080/09537104.2018.1513473.
19. Федорова Д.В., Жарков П.А., Плясунова С.А. и др. Диагностика врожденных нарушений функций тромбоцитов: современное состояние вопроса. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2017; 16(1): 83–95. DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-1-83-95.
20. Демина И.А., Кумскова М.А., Пантелеев М.А. Тромбоцитопатии. *Российский журнал детской гематологии и онкологии*. 2015; 2(1): 54–60. DOI: 10.17650/2311-1267-2015-1-54-60.
21. Gunning W.T. 3rd, Raghavan M., Calomeni E.P., et al. A morphometric analysis of platelet dense granules of patients with unexplained bleeding: A new entity of delta-microgranular storage pool deficiency. *J Clin Med*. 2020; 9(6): 1734. DOI: 10.3390/jcm9061734.
5. Demina I.A., Zozulya N.I., Likhachyova E.A., et al. The Germansky – Pudlack syndrome: Differential diagnosis of a rare hereditary thrombocytopathy. *Gematologiya I Transfusiologiya*. 2015; 60(4): 41–4. (In Russian).
6. Brunet J., Badin M., Chong M., et al. Bleeding risks for uncharacterized platelet function disorders. *Res Pract Thromb Haemost*. 2020; 4(5): 799–806. DOI: 10.1002/rth2.12374.
7. Abraham S.M., Boayue K., Ahmed I. Platelet delta storage pool deficiency in children: A case series. *Blood*. 2013; 122(21): 4747. DOI: 10.1182/blood.V122.21.4747.4747.
8. Mamaev A.N. Practical hemostasiology. Moscow: Practical medicine Publ.; 2014. (In Russian).
9. Gesele 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. DOI: 10.1111/jth.12792.
10. Barkagan Z.S. Hemorrhagic diseases and syndromes. Moscow: Meditsina Publ.; 1989. (In Russian).
11. Ambrosio A.L., Di Pietro S.M. Storage pool diseases illuminate platelet dense granule biogenesis. *Platelets*. 2017; 28(2): 138–46. DOI: 10.1080/09537104.2016.1243789.
12. Aliotta A., Bertaggia Calderara D., Zermatten M.G., et al. Thrombocytopathies: Not just aggregation defects—the clinical relevance of procoagulant platelets. *J Clin Med*. 2021; 10(5): 894. DOI: 10.3390/jcm10050894.
13. Gunning W.T., Yoxheimer L., Smith M.R. Platelet aggregation assays do not reliably diagnose platelet delta granule storage pool deficiency. *J Hematol*. 2020; 10(4): 196–201. DOI: 10.14740/jh832.
14. Vasiliev S.A., Mazurov A.V., Panteleev M.A., et al. Modern classification of hereditary thrombocytopathies. *Gematologiya I Transfusiologiya*. 2018; 63(S1): 47. (In Russian).
15. Van Asten I., Blaauwgeers M., Granneman L., et al. Flow cytometric mepacrine fluorescence can be used for the exclusion of platelet dense granule deficiency. *J Thromb Haemost*. 2020; 18(3): 706–13. DOI: 10.1111/jth.14698.
16. Wall J.E., Buijs-Wilts M., Arnold J.T., et al. A flow cytometric assay using mepacrine for study of uptake and release of platelet dense granule contents. *Br J Haematol*. 1995; 89(2): 380–5. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1995.tb03315.x.
17. Ramström A.S., Fagerberg I.H., Lindahl T.L. A flow cytometric assay for the study of dense granule storage and release in human platelets. *Platelets*. 1999; 10(2–3): 153–8. DOI: 10.1080/09537109976239.
18. Ignatova A.A., Ponomarenko E.A., Polokhov D.M., et al. Flow cytometry for pediatric platelets. *Platelets*. 2019; 30(4): 428–37. DOI: 10.1080/09537104.2018.1513473.
19. Fedorova D.V., Zharkov P.A., Plyasunova S.A., et al. Diagnosis of congenital platelet dysfunctions: state of the art. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii*. 2017; 16(1): 83–95. DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-1-83-95. (In Russian).
20. Demina I.A., Kumsikova M.A., Panteleev M.A. Thrombocytopathy. *Российский журнал детской гематологии и онкологии*. 2015; 2(1): 54–60. DOI: 10.17650/2311-1267-2015-1-54-60. (In Russian).
21. Gunning W.T. 3rd, Raghavan M., Calomeni E.P., et al. A morphometric analysis of platelet dense granules of patients with unexplained bleeding: A new entity of delta-microgranular storage pool deficiency. *J Clin Med*. 2020; 9(6): 1734. DOI: 10.3390/jcm9061734.

Информация об авторах

Кошеед Ирина Васильевна*, врач клинической лабораторной диагностики, лаборатория патологии гемостаза, КГБУЗ «Краевая клиническая больница»,

e-mail: ikosheed@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7432-8098>

Мамаев Андрей Николаевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: amamaev@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3313-7295>

Мотин Юрий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, патологоанатом, КГБУЗ «Краевая клиническая больница»,

e-mail: ygmotin@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4282-6401>

Кудинов Алексей Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: kudinovalexej@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0967-6117>

Момот Андрей Павлович, доктор медицинских наук, профессор, директор, Алтайский филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: xyzan@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8413-5484>

Бабеева Татьяна Николаевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

e-mail: babaeva_tatyana@inbox.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2708-1133>

* Автор, ответственный за переписку

Поступила: 28.10.2022

Принята в печать: 20.03.2023

Information about the authors

Irina V. Kosheed*, Clinical Diagnostitian, Laboratory of Hemostasis Pathology, Altai Regional Hospital,

e-mail: ikosheed@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7432-8098>

Andrey N. Mamaev, Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Altai Branch of National Medical Research Center for Hematology,

e-mail: amamaev@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3313-7295>

Yuri G. Motin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Pathologist, Altai Regional Hospital,

e-mail: ygmotin@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4282-6401>

Alexey V. Kudinov, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Altai Branch of National Medical Research Center for Hematology,

e-mail: kudinovalexej@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0967-6117>

Andrey P. Momot, Dr. Sci. (Med.), Professor, Director, Altai Branch of National Medical Research Center for Hematology,

e-mail: xyzan@yandex.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8413-5484>

Tatiana N. Babaeva, Cand. Sci. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Therapy, Hematology and Transfusiology, Novosibirsk State Medical University,

e-mail: babaeva_tatyana@inbox.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2708-1133>

* Corresponding author

Received 28.10.2022

Accepted 20.03.2023