

УДК: 618.3:616.155.294:615.036.8

DOI: 10.37800/RM.3.2021.61-75

АНАЛИЗ ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА У БЕРЕМЕННЫХ С ИММУННОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЕЙ

Ю.В. Давыдова¹, В.З. Нетяженко², А.Н. Наумчик¹, Н.И. Козачишин², А.Ю. Лиманская¹¹ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», Киев, Украина;²Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Аннотация

Актуальность: Тромбоцитопения – частая гематологическая проблема, сопровождающая беременность. От 5% до 12% беременностей осложняются тромбоцитопенией. Ведущей причиной осложнений является гестационная тромбоцитопения (70-85%). Среди причин тромбоцитопении, предшествовавших беременности, основная роль принадлежит иммунной тромбоцитопении, ответственной за 1-4% всех случаев тромбоцитопении при беременности. Исследование функционального потенциала тромбоцитарного звена гемостаза в условиях сниженного их количества является актуальным.

Целью исследования был анализ тромбоцитарного звена гемостаза у беременных с иммунной тромбоцитопенией разной степени тяжести методом световой агрегометрии. Материалы и Методы: В акушерских клиниках ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины» с сентября 2018 года по февраль 2021 года наблюдали беременность и/или проходили лечение и родоразрешение 88 женщин с гестационной и 28 с иммунной тромбоцитопениями. Тромбоцитарное звено гемостаза исследовалось в группе женщин с иммунной тромбоцитопенией, среди которых у 6 (21,4%) наблюдалась тяжелая тромбоцитопения.

Результаты: при легкой и средней иммунной тромбоцитопении наблюдалось снижение спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов, при тяжелой – отсутствие спонтанной и снижение индуцированной агрегации тромбоцитов, что свидетельствует о сниженном потенциале тромбоцитов к выполнению своей непосредственной функции – образованию тромба.

Заключение: Иммунная тромбоцитопения является ведущей причиной среди предшествовавших беременности состояний, обуславливающих тромбоцитопению беременных. Использование метода световой агрегометрии является актуальным и показательным в анализе функциональной способности тромбоцитов к агрегации. С целью оказания эффективной акушерской помощи данной категории беременных, ведением такой беременно-

сти должна заниматься мультидисциплинарная команда в составе акушер-гинеколога, гематолога, анестезиолога, неонатолога. Оценка рисков для матери и плода/новорожденного должна осуществляться многократно в зависимости от срока беременности и клинико-лабораторной картины. Родоразрешение беременных с тяжелой тромбоцитопенией должно осуществляться в учреждении высшего уровня оказания акушерско-гинекологической помощи.

Ключевые слова: тромбоцитопения, беременность, иммунная тромбоцитопения, агрегация тромбоцитов, световая агрегометрия.

Введение:

Тромбоцитопения (ТПП) – состояние, характеризующееся уменьшением числа тромбоцитов в мазке крови ниже $150 \times 10^9/\text{л}$. ТПП занимает одну из лидирующих позиций среди гематологических проблем, сопровождающих беременность, уступая лишь анемии. От 5% до 12% беременных сталкиваются с этим состоянием [1-3]. Общая тенденция изменения числа тромбоцитов во время беременности отражена в результатах масштабного исследования Reese и др. (2018), проведенного среди 7351 беременных в Медицинском центре Университета Оклахомы в 2011-2014 гг. Обобщенные выводы гласят об общей тенденции к прогрессивному снижению числа тромбоцитов во всех триместрах с минимальным количеством в сроке родов и увеличением их числа в послеродовом периоде. При многоплодной беременности снижение значительнее. По данным авторов, ТПП наблюдалась у 9,9% беременных в сроке родов, а число тромбоцитов снизилось на 17% относительно состояния вне беременности [4]. В среднем число тромбоцитов во второй половине беременности снижается на 10% от исходного уровня, но редко опускается ниже $100 \times 10^9/\text{л}$ (1%), еще реже ниже $80 \times 10^9/\text{л}$ (0,1%) [5]. Данная тенденция при неосложненной беременности объясняется гемодиллюцией, повышенной активностью тромбоцитов и их клиренсом, секвестрацией в плаценте [1, 5]. Существует также ряд

осложнений беременности, которые одним из проявлений имеют ТРП, а также ряд заболеваний, существовавших до беременности, одним из проявлений которых тоже является ТРП. Итак, чем ближе к нижней границе нормы исходный уровень тромбоцитов, тем вероятнее возникновение ТРП во время беременности.

По уровню тромбоцитов, ТРП делится на легкую ($100-150 \times 10^9/\text{л}$), умеренную ($50-100 \times 10^9/\text{л}$) и тяжелую ($<50 \times 10^9/\text{л}$) [6].

70-85% всех случаев ТРП во время беременности обусловлены гестационной тромбоцитопенией (ГТП) [1-3] – потенциально доброкачественным состоянием, возникающим в основном в III триместре, с числом тромбоцитов, редко меньшим $70-80 \times 10^9/\text{л}$, не иммунного генеза, чем обусловлена безопасность для плода. Гестационная ТРП не имеет специфического диагностического метода и является диагнозом исключения [1, 2, 7].

Среди осложнений беременности, приводящих к ТРП, на первом месте стоят преэклампсия (15-20%), а также HELLP-синдром, острая жировая дистрофия печени [8].

Если рассматривать заболевания, предшествовавшие беременности, сопровождающиеся ТРП, безусловным лидером выступает иммунная тромбоцитопения (ИТП), которая обуславливает от 1 до 4% ТРП при беременности [3]. Ежегодно выявляется 2-4 новых случая ИТП на 100 000 взрослого населения [1]. Общая распространенность явления составляет 3,9 - 6,6 на 100 000 населения, частота среди беременных составляет 0,1-1 на 1 000 [1, 2, 5, 7]. Менеджмент беременности ставит множество контроверсионных вопросов, начиная от прегравидарного консультирования, ведения непосредственно беременности, просчета рисков для матери и плода/новорожденного, обеспечения послеродового периода.

В 2009 году на Консенсусной конференции в Виченце была проведена стандартизация терминологии, определены цели и критерии инициации терапии и ответа на нее [9]. Термином «иммунная тромбоцитопения» заменили прежде существовавший термин «идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура», чтобы подчеркнуть иммунный характер заболевания. Для постановки диагноза ИТП число тромбоцитов было определено как меньшее $100 \times 10^9/\text{л}$ [9].

В патогенезе заболевания основная роль принадлежит аутоиммунному процессу посредством (с участием) аутоантител к тромбоцитарным гликопротеидам, в частности Пб/IIIa и Пб/IX комплексам. Покрытые антителами тромбоциты удаляются из циркуляции путем прикрепления к Fc-рецепторам макрофагов ретикулоэндотелиальной системы, в частности селезенки [10]. Существует мнение, что, кроме иммуноопосредованного разрушения тромбоцитов, в патогенезе ИТП определенная роль принадлежит угнетению мегакариоцитов в костном мозге [1,

11]. Поскольку ИТП обусловлена Ig класса G, которые способны проникать сквозь плаценту, существует риск фетальной ТРП [1, 7, 11].

Поиск методов исследования функционального состояния тромбоцитов и потенциальной возможности выполнять свою основную функцию по гемостазу при их уменьшенном количестве является контроверсионным. В последних рекомендациях «Обновленного международного консенсусного отчета по исследованию и лечению первичной иммунной тромбоцитопении», опубликованного в 2019 году Американским обществом гематологов, роль тромбоэластографии и ротационной тромбоэластометрии не определена и их использование не может быть рекомендовано [5].

Целью исследования был анализ тромбоцитарного звена гемостаза у беременных с иммунной тромбоцитопенией разной степени тяжести методом световой агрегометрии.

Материалы и Методы:

В акушерских клиниках ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины» с сентября 2018 года по февраль 2021 года наблюдали беременность и/или проходили лечение и родоразрешение 88 женщин с ГТП и 28 с ИТП. Тромбоцитарное звено гемостаза исследовалось в группе женщин с ИТП, среди которых у 6 (21,4%) наблюдалась тяжелая ТРП. Исследование проведено методом световой агрегометрией на агрегометре Aggregation Analyzer LA220 компании Biola Ltd. (Москва, Россия) с использованием индукторов агрегации: аденозин 5-дифосфат (АДФ), коллаген, адреналин, арахидоновая кислота. Анализ спонтанной и индуцированной агрегации проводился при помощи лицензированной компьютерной программы путем построения графика кривой светопротекания.

Результаты:

Нами было определено функциональное состояние тромбоцитарного звена гемостаза под влиянием выше указанных индукторов агрегации. В таблице 1 приведены данные относительно результатов тестов агрегации тромбоцитов у беременных с ИТП легкой и средней степени тяжести.

Таблица 1 – Функциональное состояние тромбоцитов по данным тестов агрегации с разными агонистами у беременных с иммунной тромбоцитопенией легкой и средней степени тяжести

Индуктор	Степень	N	Скорость	N	Время	N
Спонтанная агрегация: Кривая светопропускания	0,75	0,83±0,5	1,51	1,99±0,06	1,44	1,5-4,5
Средний размер агрегатов	0,89	0,94±0,24	0,34	0,63±0,01	2,57	3,5-4,5
Индукцированная агрегация с АДФ: Кривая светопропускания	41,5	45,7±4,2	49,1	54,8±2,5	1,19	4-5
Средний размер агрегатов	6,98	9,17±0,4	3,0	4,22±0,8	0,9	0,11-1
Индукцированная агрегация с АК: Кривая светопропускания	0	38,9±1,2	9,45	44,3±2,9	0	3,5-4,5
Средний размер агрегатов	0,59	6,9±0,8	1,17	17,8±0,5	0,04	0,25-1,5
Индукцированная агрегация с коллагеном: Кривая светопропускания	20,3	20,8±5	20	22±4,3	358	4-4,5
Средний размер агрегатов	5,84	6,5±2,5	11,4	8,47±3,74	3,25	3,5-4,5
Индукцированная агрегация с адреналином: Кривая светопропускания	23,39	37,9±2,42	25,49	43,34±2,5	1,26	2,5-4
Средний размер агрегатов	3,61	5,22±1,13	2,36	4,71±1,13	0,19	0,2-0,4

Из таблицы 1 следует, что у беременных с ИТП легкой и средней степени тяжести наблюдалось угнетение спонтанной агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ и адреналином. Важен факт отсутствия агрегации с ацетилсалициловой кислотой. Индуцированная агрегация с коллагеном оставалась в относительно нормальных границах. Учитывая факт, что коллаген выступает мощным активатором тромбоцитов и для эффективной агрегации в ответ на коллаген нет необходимости в наличии экзогенного фибриногена, у беременных данной группы агрегация тромбоцитов еще поддерживалась. Среднее количество тромбоцитов в данной группе составило – 150-80х10⁹/л.

Данные о функциональном состоянии тромбоцитарного звена гемостаза под влиянием индукторов агрегации у беременных с ИТП тяжелой степени представлено в таблице 2.

По данным таблицы 2 можно сделать вывод, что у исследуемых беременных с ИТП тяжелой степени наблюдается отсутствие спонтанной агрегации тромбоцитов. Относительно показателей индуцированной агрегации важным является отсутствие АК-индуцированной и адреналин-индуцированной агрегации. Также отмечается значительно угнетенная коллаген-индуцированная агрегация.

Таблица 2 – Функциональное состояние тромбоцитов по данным тестов агрегации с разными агонистами у беременных с иммунной тромбоцитопенией тяжелой степени

Индуктор	Степень	N	Скорость	N	Время	N
Спонтанная агрегация: Кривая светопропускания	0,00	0,83±0,5	0,00	1,99±0,06	0,00	1,5-4,5
Средний размер агрегатов	1,48	0,94±0,24	0,36	0,63±0,01	0,00	3,5-4,5
Индукцированная агрегация с АДФ: Кривая светопропускания	8,37	45,7±4,2	38,5	54,8±2,5	0,31	4-5
Средний размер агрегатов	2,66	9,17±0,4	6,61	4,22±0,8	0,32	0,11-1
Индукцированная агрегация с АК: Кривая светопропускания	0,00	38,9±1,2	6,14	44,3±2,9	0,00	3,5-4,5
Средний размер агрегатов	1,35	6,9±0,8	1,19	17,8±0,5	4,43	0,25-1,5
Индукцированная агрегация с коллагеном Кривая светопропускания	5,20	20,8±5	4,46	22±4,3	4,06	4-4,5
Средний размер агрегатов	0,78	6,5±2,5	1,06	8,47±3,74	0,06	3,5-4,5
Индукцированная агрегация с адреналином: Кривая светопропускания	0,85	37,9±2,42	0,96	43,34±2,51	0,02	2,5-4
Средний размер агрегатов	0,71	5,22±1,13	0,08	4,71±1,13	0,05	0,2-0,4

Следует отметить, что индуцированная агрегация пропорционально снижалась при условии снижения количества тромбоцитов. Учитывая, что средний показатель числа тромбоцитов у беременных с ИТП тяжелой степени составлял от $50 \times 10^9/\text{л}$ до единичных в поле зрения, отсутствие спонтанной и индуцированной агрегации у исследуемых данной группы не является исключением.

На рисунке 1 представлены кривые светопропускания во время спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов в норме и у беременных с тяжелой степенью ИТП.

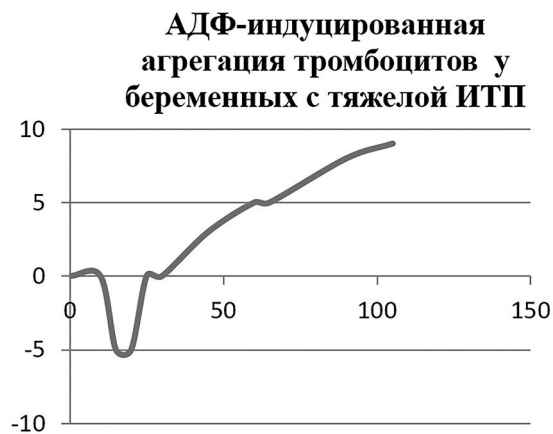
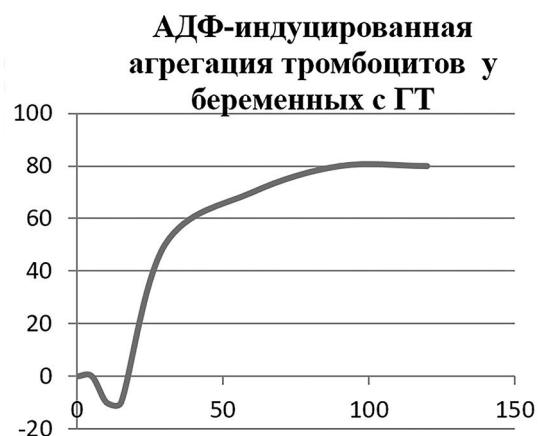




Рисунок 1 – Кривая светопропускания у беременных с ГТ и ИТП тяжелой степени. Ось ординат – светопропускание (%), ось абсцисс – время (минуты).

На рисунке 1 отображен адекватный ответ на индукторы агрегации тромбоцитов (существенное возрастание светопропускания в течении определенного времени) у беременных с ГТП, что коррелирует с отсутствием геморрагических осложнений и необходимостью специального лечения. Однако, у беременных с ИТП отмечается значительное угнетение, или почти отсутствующее светопропускание во время индуцированной агрегации. У всех женщин данной группы с ИТП тяжелой степени присутствовали признаки геморрагического синдрома разной степени выраженности.

Обсуждение:

Тромбоцит имеет поверхностную мембрану сложной структуры, наружная поверхность покрыта гликокаликсом, богатым гликопротеинами. В цитоплазме тромбоцитов расположены гранулы с различными веществами. α -гранулы хранят белки, δ -гранулы хранят субстанции, вызывающие сосудистые реакции и агрегацию тромбоцитов. В лизосомах (γ -гранулы) находятся гидролитические ферменты.

Осуществление специфических функций тромбоцитов в гемостазе невозможно без активного взаимодействия с другими клетками, плазменными белками и небелковыми веществами. Посредниками в этом выступают рецепторы тромбоцитов, которых на мембране более тридцати (рисунок 2). Свою ведущую роль в запуске образования тромба тромбоциты способны выполнять после активации. Процесс активации заключается в изменении формы тромбоцита из диска в сферы, обладающие повышенной способностью к адгезии, образованию агрегатов, секреции биологически активных соединений [12].

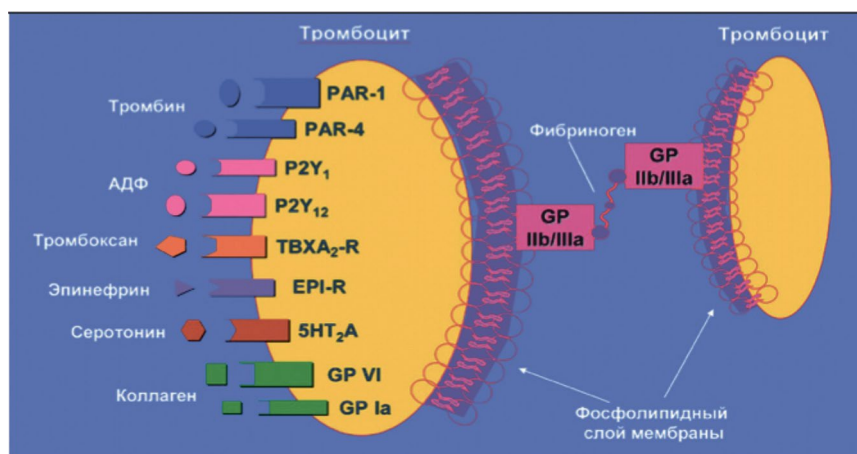


Рисунок 2 – Рецепторы тромбоцитов [12].

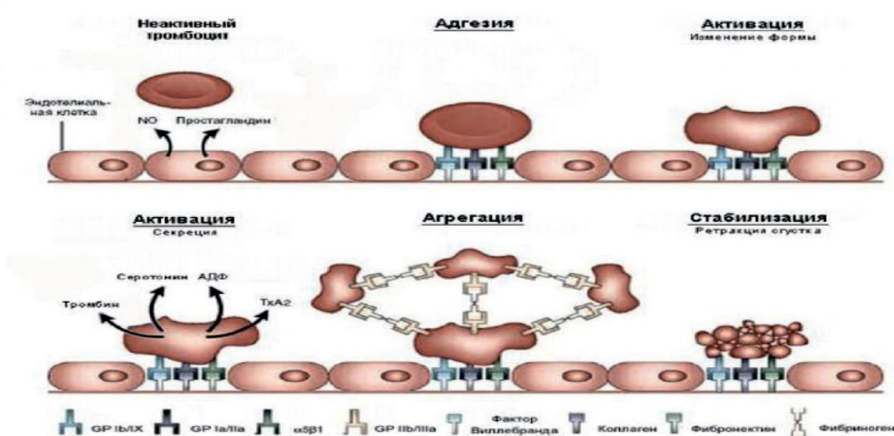


Рисунок 3 – Процесс адгезии и агрегации тромбоцитов [12].

Активация тромбоцитов происходит в ответ на воздействие нуклеотидов (АДФ – аденозиндифосфорная кислота), аминов (адреналин, серотонин), белков (тромбин, коллаген), арахидоновой кислоты и ее производных и др. Большинство из них действуют как лиганды, специфически связывающиеся с поверхностно ориентированными белковыми структурами плазматической мембраны – рецепторами или разрушающие участки рецепторных молекул (протеолитические ферменты), что приводит к активации. Способность к активации – залог выполнения тромбоцитами своего функционального предназначения (рисунок 3) [12].

Световая трансмиссионная агрегометрия, предложенная Густавом фон Борном в 1962 году, многими исследователями рассматривается как наиболее оптимальный метод оценки функции тромбоцитов [12, 13].

Суть метода состоит в изменении степени прохождения луча света через плазму, обогащенную тромбоцитами и содержащую тромбоцитарные агрегаты (рисунок 4) [12].

Тромбоцитарный ответ на воздействие индуктора активации можно разделить на три типа:

1. Обратимый ответ. Реализуется при действии слабых агонистов. Тромбоцитарный агрегат распадается, тромбоциты могут вернуться в свое первоначальное дисковидное состояние.
2. Необратимая агрегация тромбоцитов на действие сильных агонистов, при этом происходит выброс содержимого α и δ -гранул.
3. Реакция дезагрегации, индуцируемая антагонистами [12, 14].

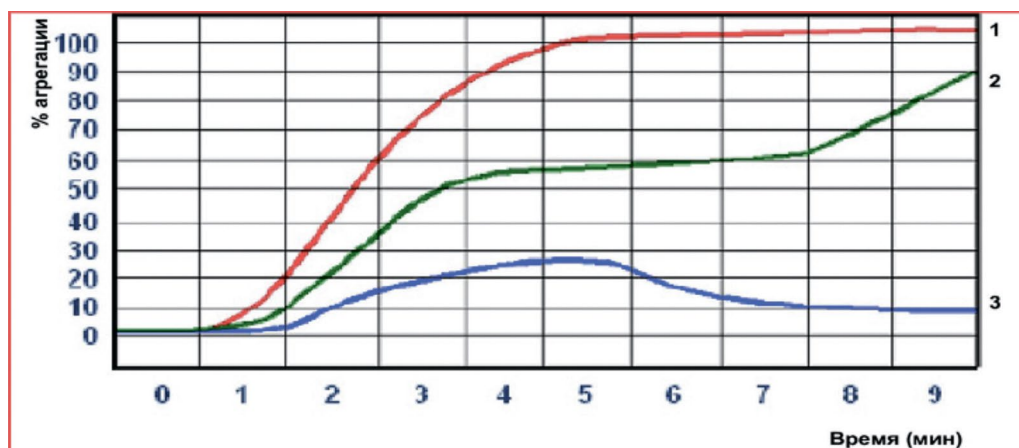


Рисунок 4 – Пример агрегационной кривой (1 – нормальный ответ на 10мкМ АДФ, агрегация >60%, 2 – нормальный ответ на 5мкМ АДФ, типичная бифазная кривая, 3 – патологический ответ на 10мкМ АДФ, агрегация <60%) [12].

Агрегация тромбоцитов происходит в двухступенчатом процессе, содержащем первичную и вторичную волны агрегации (рис.5)

Первичная волна агрегации наблюдается при адгезии тромбоцитов друг к другу в присутствии внешних агонистов (АДФ, ристоцетин, др.) Вторичная агрегация происходит после секреции веществ из гранул тромбоцита [12, 14].



Заключение:

ИТП является ведущей причиной среди предшествовавших беременности состояний, обуславливающих ТРП беременных. Учитывая аутоиммунное происхождение заболевания, существует риск геморрагических осложнения как для матери, так и для плода и новорожденного. Исследование исключительно числа тромбоцитов не есть достаточным для оценки их функционального потенциала. Использование метода световой агрегометрии является актуальным и показательным в анализе функциональной способности тромбоцитов к агрегации. У беременных с легкой и средней ТРП отмечалось снижение спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов, а при тяжелой – отсутствие спонтанной и снижение индуцированной, что свидетельствует о сниженном потенциале тромбоцитов к выполнению своей непосредственной функции – образованию тромба. С целью оказания эффективной акушерской помощи данной категории беременных, ведением такой беременности должна заниматься мультидисциплинарная команда в составе акушер-гинеколога, гематолога, анестезиолога, неонатолога. Оценка рисков для матери и плода/новорожденного должна осуществляться многократно в зависимости от срока беременности и клинико-лабораторной картины. Родоразрешение беременных с тяжелой ТРП должно осуществляться в учреждении высшего уровня оказания акушерско-гинекологической помощи.

ANALYSIS OF THE PLATELET HEMOSTASIS AMONG PREGNANT WOMEN WITH IMMUNE THROMBOCYTOPENIA

Yu.V. Davidova¹, V.Z. Netyazhenko², A.N. Naumchik¹, N.I. Kozachishin², A. Yu. Limanskaya¹

¹SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of NAMS of Ukraine,» Kyiv, Ukraine;

²Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Abstract

Relevance: Thrombocytopenia is a common hematological problem that accompanies pregnancy. From 5% to 12% of pregnancies are complicated by thrombocytopenia. Gestational thrombocytopenia is the leading cause of complications (70-85%). Immune thrombocytopenia (ITP) is the most frequent reason among pre-pregnancy causes of thrombocytopenia and is responsible for 1-4% of all thrombocytopenia cases during pregnancy. Investigation of the functional potential of the thrombocyte link of hemostasis in conditions of a reduced number of thrombocytes is relevant.

The purpose of the study was to analyze the platelet link of hemostasis in pregnant women with ITP of varying severity by the method of light aggregometry.

Materials and Methods: Eighty-eight women with gestational and 28 with immune thrombocytopenia were undergoing treatment and delivery at the Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of NAMS of Ukraine (Kyiv, Ukraine) from September 2018 to February 2021. The platelet link of hemostasis was studied in a group of women with immune thrombocytopenia; six (21.4%) of them had severe thrombocytopenia.

Results: In mild and moderate immune thrombocytopenia, we noted a decrease in spontaneous and induced platelet aggregation; in severe immune thrombocytopenia, there was no spontaneous and a decreased induced platelet aggregation. This indicated a reduced potential of platelets to perform their direct function – the formation of a thrombus.

Conclusion: Immune thrombocytopenia accounts for most pre-pregnancy conditions causing thrombocytopenia in pregnant women. Light aggregometry is a relevant and indicative way to analyze the aggregative ability of platelets. A multidisciplinary team consisting of an obstetrician-gynecologist, hematologist, anesthesiologist, and neonatologist should be involved in the management of such cases to provide effective obstetric care for this category of pregnant women. Risks for the mother and the fetus/newborn should be assessed throughout the pregnancy, considering clinical and laboratory aspects. Delivery of pregnant women with severe thrombocytopenia should be managed at institutions providing the highest level of obstetric and gynecological care.

Keywords: *thrombocytopenia, pregnancy, immune thrombocytopenia, platelet aggregation, light aggregometry.*

Introduction:

Thrombocytopenia (TP) is characterized by a decrease in platelet count in a blood smear below $150 \times 10^9/L$. TP is among the leading hematological conditions accompanying pregnancy, second only to anemia. It affects 5% to 12% of pregnant women [1-3]. The general trend in platelet count change during pregnancy was shown in a large-scale study by Reese et al. (2018) in 7351 pregnant women at the University of Oklahoma Medical Center in 2011-2014. The summarized conclusions suggest a general trend towards a progressive decrease in platelet count in all trimesters with a minimum number at delivery date followed by an increase in the postpartum period. This decrease is more significant in multiple pregnancies. As reported by the authors, TP was observed in 9.9% of pregnant women at the time of labor, with platelet count decreased by 17% relative to the nonpregnant state [4]. On average, the platelet count in the second half of pregnancy decreases by 10% from baseline but rarely drops below $100 \times 10^9/L$ (1%) and even less often below $80 \times 10^9/L$ (0.1%) [5]. This tendency in uncomplicated pregnancy is explained by hemodilution, increased platelet activity and clearance, sequestration in the placenta [1, 5]. Many complications of pregnancy have TP as one of the manifestations; several preexisting conditions are also associated with TP.

So, the closer to the lower limit of the normal baseline platelet count, the more likely is the occurrence of TP during pregnancy.

According to the platelet level, TP is divided into mild ($100-150 \times 109/L$), moderate ($50-100 \times 109/L$), and severe ($<50 \times 109/L$) [6].

70-85% of all cases of TP during pregnancy are caused by gestational thrombocytopenia (GTP) [1-3], a potentially benign condition that occurs mainly in the third trimester, with a platelet count rarely less than $70-80 \times 109/L$, of non-immune origin, which ensures the fetus safety. Gestational TP has no specific diagnostic method and is diagnosed by exclusion [1, 2, 7].

Among pregnancy complications leading to TP, preeclampsia (15-20%), HELLP-syndrome, and acute fatty liver syndrome lead the list [8].

Among conditions preceding pregnancy and accompanied by TP, immune thrombocytopenia (ITP) is an undisputed leader responsible for 1 to 4% of TP cases during pregnancy [3]. Every year, 2-4 new cases of ITP are identified per 100,000 adults [1]. The overall prevalence of the phenomenon is 3.9 - 6.6 per 100,000 people, with a frequency among pregnant women being 0.1-1 per 1,000 [1, 2, 5, 7].

Pregnancy management raises many controversial issues, ranging from pre-conceptual counseling, direct management of pregnancy, weighing of risks for the mother and fetus/newborn, and management in the postpartum period.

In 2009, the Vicenza Consensus Conference has standardized the terminology and defined the goals and criteria for initiating therapy and responding to it [9]. The term «immune thrombocytopenia» has replaced the previously existing term «idiopathic thrombocytopenic purpura» to emphasize the immune nature of the disease. A platelet count of less than $100 \times 109/L$ was defined as a measure of ITP in diagnostics [9].

The disease pathogenesis is dominated by the autoimmune process involving autoantibodies to platelet glycoproteins, particularly IIb/IIIa and Ib/IX complexes. Antibody-coated platelets are removed from the circulation by attaching to Fc receptors of macrophages of the reticuloendothelial system, particularly the spleen [10]. There exists an opinion that, in addition to the immune-mediated destruction of platelets, in the pathogenesis of ITP, a certain role belongs to the inhibition of megakaryocytes in the bone marrow [1, 11]. ITP mediation by class G Ig, which can cross the placenta, produces a fetal TP risk [1, 7, 11].

The search for methods of studying the functional state of platelets and the potential to perform their main function in hemostasis, while reduced in number, is controversial. In the latest recommendations of the «Updated International Consensus Report on the Investigation and Treatment of Primary Immune Thrombocytopenia» published in 2019 by the American Society of Hematology, the role of thromboelastography and rotational thromboelastometry is not defined, and their use cannot be recommended [5].

The purpose of the study was to analyze the platelet link of hemostasis in pregnant women with ITP of varying severity by the method of light aggregometry.

Materials and Methods:

Eighty-eight women with gestational and 28 with immune thrombocytopenia were undergoing treatment and delivery at the Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of NAMS of Ukraine (Kyiv, Ukraine) from September 2018 to February 2021. The platelet link of hemostasis was studied in a group of women with immune thrombocytopenia; six (21.4%) of them had severe thrombocytopenia. The study involved light aggregometry using a LA220 Aggregation Analyzer by Biola Ltd. (Moscow, Russia) with aggregation inducers: adenosine 5-diphosphate (ADP), collagen, adrenaline, arachidonic acid. Spontaneous and induced aggregation were analyzed using licensed software by plotting a light transmission curve.

Results:

The functional state of platelet pathways in hemostasis was determined as affected by the above-mentioned aggregation inducers. Table 1 shows the results of platelet aggregation tests in pregnant women with mild to moderate ITP.

Table 1 – The functional state of platelets according to aggregation tests using different agonists in pregnant women with mild and moderate immune thrombocytopenia

Inducer	Degree	N	Rate	N	Time	N
Spontaneous aggregation: Light transmission curve	0,75	0,83±0,5	1,51	1,99±0,06	1,44	1,5-4,5
Average aggregate size	0,89	0,94±0,24	0,34	0,63±0,01	2,57	3,5-4,5
ADP-induced aggregation: Light transmission curve	41,5	45,7±4,2	49,1	54,8±2,5	1,19	4-5
Average aggregate size	6,98	9,17±0,4	3,0	4,22±0,8	0,9	0,11-1
AA-induced aggregation: Light transmission curve	0	38,9±1,2	9,45	44,3±2,9	0	3,5-4,5
Average aggregate size	0,59	6,9±0,8	1,17	17,8±0,5	0,04	0,25-1,5
Collagen-induced aggregation: Light transmission curve	20,3	20,8±5	20	22±4,3	358	4-4,5
Average aggregate size	5,84	6,5±2,5	11,4	8,47±3,74	3,25	3,5-4,5
Adrenaline-induced aggregation: Light transmission curve	23,39	37,9±2,42	25,49	43,34±2,5	1,26	2,5-4
Average aggregate size	3,61	5,22±1,13	2,36	4,71±1,13	0,19	0,2-0,4

As follows from Table 1, inhibition of spontaneous platelet aggregation induced by ADP and adrenaline was observed in pregnant women with mild to moderate ITP. Of certain importance is the fact that no aggregation in the presence of acetylsalicylic acid was observed. The induced aggregation in the presence of collagen remained within relatively normal limits. Because collagen acts as a powerful platelet activator, and there is no need for exogenous fibrinogen to ensure effective aggregation in response to collagen, platelet aggregation was still maintained in pregnant women in this group. The average number of platelets in this group was 150-80x10⁹/L.

Data on the functional state of platelet pathways in hemostasis as affected by aggregation inducers in pregnant women with severe ITP are shown in Table 2.

According to Table 2, it can be concluded that there is no spontaneous platelet aggregation in the studied pregnant women with severe ITP. Importantly, there is no AA-induced and adrenaline-induced aggregation. Significantly suppressed collagen-induced aggregation is also noted.

Table 2 - The functional state of platelets according to aggregation tests using different agonists in pregnant women with severe immune thrombocytopenia

Inducer	Degree	N	Rate	N	Time	N
Spontaneous aggregation: Light transmission curve	0.00	0.83±0.5	0.00	1.99±0.06	0,00	1,5-4,5
Average aggregate size	1.48	0.94±0.24	0.36	0.63±0.01	0,00	3,5-4,5
ADP-induced aggregation: Light transmission curve	8.37	45.7±4.2	38.5	54.8±2.5	0,31	4-5
Average aggregate size	2.66	9.17±0.4	6.61	4.22±0.8	0,32	0,11-1
AA-induced aggregation: Light transmission curve	0.00	38.9±1.2	6.14	44.3±2.9	0,00	3,5-4,5
Average aggregate size	1.35	6.9±0.8	1.19	17.8±0.5	4,43	0,25-1,5
Collagen-induced aggregation: Light transmission curve	5.20	20.8±5	4.46	22±4.3	4,06	4-4,5
Average aggregate size	0.78	6.5±2.5	1.06	8.47±3.74	0,06	3,5-4,5

Adrenaline-induced aggregation:	0.85	37.9±2.42	0.96	43.34±2.51	0,02	2,5-4
Light transmission curve						
Average aggregate size	0.71	5.22±1.13	0.08	4.71±1.13	0,05	0,2-0,4

It should be noted that the induced aggregation was proportionally reduced where there was a decrease in platelet count. Considering that the average platelet count in pregnant women with severe ITP ranged from 50x10⁹/L to single platelets in the field of view, the absence of spontaneous and induced aggregation in the subjects of this group is no exception.

Figure 1 shows the light transmission curves during spontaneous and induced platelet aggregation under normal conditions and in pregnant women with severe ITP.

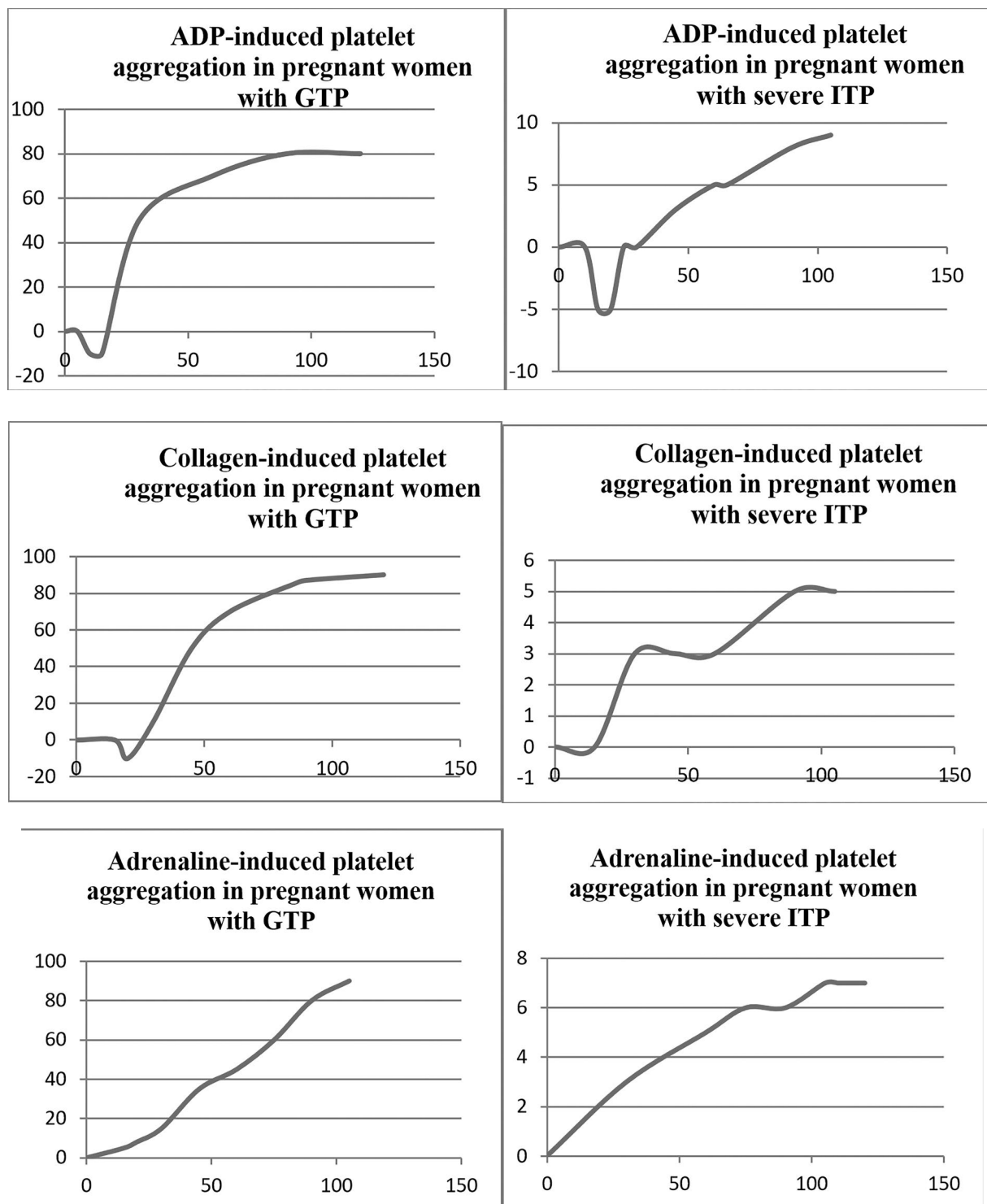


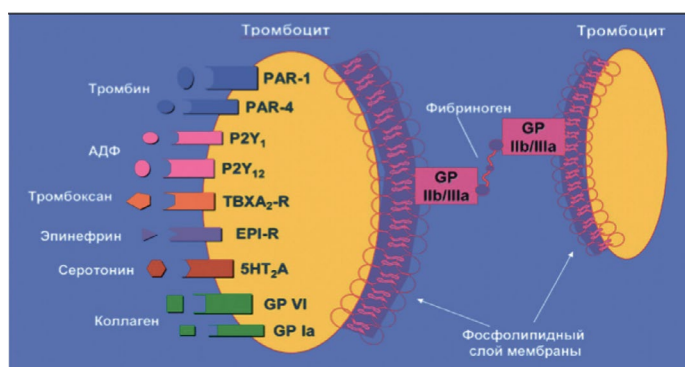
Figure 1 - Light transmission curve in pregnant women with GTP and severe ITP. y-axis shows light transmission (%), x-axis shows time (minutes).

Figure 1 shows an adequate response to inducers of platelet aggregation (a significant increase in light transmission over a certain time period) in pregnant women with GTP, which correlates with the absence of hemorrhagic complications and the need for special treatment. However, pregnant women with ITP demonstrate significant suppression or almost absent light transmission during induced aggregation. All women in this group with severe ITP had signs of a hemorrhagic syndrome of varying severity.

Discussion:

The platelet has a complex surface membrane, with the outer surface covered with glycocalyx, rich in glycoproteins. Granules with various substances are located in the cytoplasm of platelets. α -granules contain proteins, δ -granules contain substances that cause vascular reactions and platelet aggregation. Lysosomes (γ -granules) contain hydrolytic enzymes.

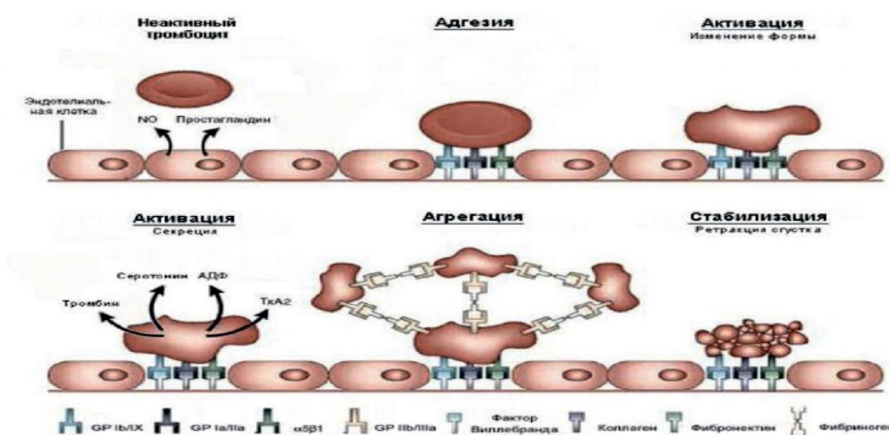
The specific functioning of platelets in hemostasis is impossible without active interaction with other cells, plasma proteins, and non-protein substances. This is mediated by more than 30 platelet receptors present on the membrane (Figure 2). Once activated, platelets can play their leading role in triggering thrombus formation. The activation process involves platelets changing their shape from disks into spheres with an increased ability to adhere, form aggregates, and secrete biologically active compounds [12].



Legend:

- Тромбоцит - platelet
- Тромбин - thrombin
- АДФ - ADP
- Тромбоксан - thromboxane
- Эпинефрин - epinephrine
- Серотонин - serotonin
- Коллаген - collagen
- Фибриноген - fibrinogen
- Фосфолипидный слой мембраны - membrane phospholipid layer

Figure 2 – Platelet receptors [12]



- Неактивный тромбоцит - inactive platelet
- Адгезия - adhesion
- Эндотелиальная клетка - endothelial cell
- Простагландин - prostaglandin
- Активация, изменение формы - activation, shape change
- Агрегация - aggregation

Активация, секреция - activation, secretion
 Стабилизация, ретракция сгустка - stabilization, clot retraction
 Фактор Виллебранда - Von Willebrand factor
 Фибронектин - fibronectin
 Коллаген - collagen
 Фибриноген - fibrinogen
 Серотонин - serotonin
 АДФ – ADP
 Тромбин – thrombin

Figure 3 – The process of platelet adhesion and aggregation [12]

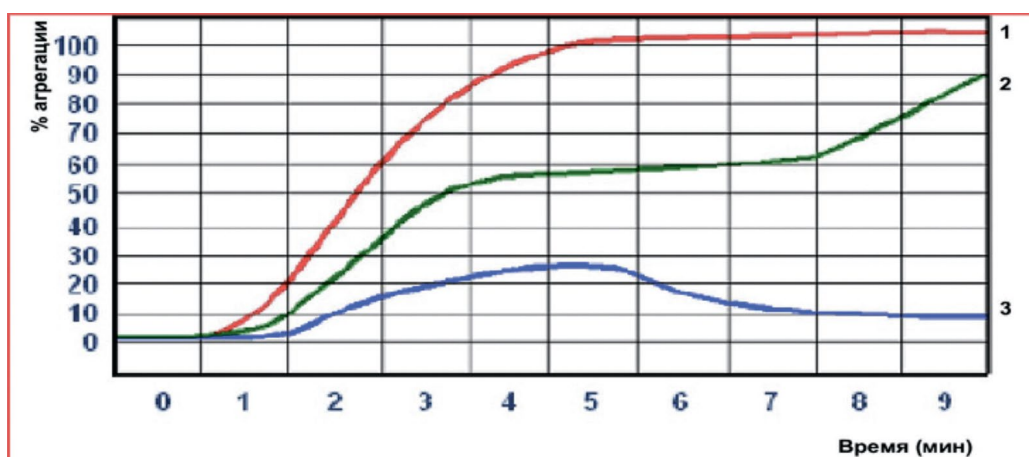
Platelet activation occurs in response to nucleotides effect (ADP - adenosine diphosphoric acid), amines (adrenaline, serotonin), proteins (thrombin, collagen), arachidonic acid, and its derivatives, etc. Most of them act as ligands that specifically bind to surface-oriented protein structures of the plasma membrane - receptors - or destructive sites of receptor molecules (proteolytic enzymes), which leads to activation. The activation ability determines whether platelets will fulfill their functional purpose (Figure 3) [12].

Light transmission aggregometry, proposed by Gustav von Born in 1962, is considered by many researchers to be the most optimal method for assessing platelet function [12, 13].

This method consists of changing the light beam's degree of transmission through platelet-enriched plasma containing platelet aggregates (Figure 4) [12].

The platelet response to the action of an activation inducer can be divided into three types:

1. Reversible response triggered by weak agonists. The platelet aggregate disintegrates, and the platelets can restore their original discoid state.
2. Irreversible aggregation of platelets in response to the action of strong agonists, whereby the contents of α and δ -granules are released.
3. Antagonist-induced disaggregation reaction [12, 14].



Legend:

% агрегации – aggregation %

Время (мин) – time (min)

Figure 4 – An example of an aggregation curve (1 – normal response to 10 μ M ADP, aggregation >60%, 2 – normal response to 5 μ M ADP, typical biphasic curve, 3 – pathological response to 10 μ M ADP, aggregation <60%) [12].

Aggregation of platelets occurs in a two-stage process, involving primary and secondary waves of aggregation (Fig. 5)

The primary wave of aggregation is observed when platelets adhere to each other in the presence of external agonists (ADP, ristocetin, etc.). Secondary aggregation occurs once substances are secreted from platelet granules [12, 14].



Legend:

Клетки в покое (дисковые формы) - resting cells (disc-shaped)

Агрегация в % - aggregation in %

Активация (изменение формы) - activation (shape change)

Первичная волна - primary wave

Вторичная волна - secondary wave

Дезагрегация - disaggregation

Обратимая агрегация - reversible aggregation

Максимальная агрегация - maximum aggregation

Необратимая агрегация - irreversible aggregation

Figure 5 – Two-stage aggregation curve [12].

Conclusion:

ITP dominates pre-pregnancy conditions causing TP in pregnant women. Given the autoimmune origin of the disease, both the mother and the fetus/newborn are at risk of hemorrhagic complications. The study of the platelet count alone is not sufficient to assess the platelet functional potential. The use of light aggregometry is relevant and indicative in analyzing the functional ability of platelets to aggregate. In pregnant women with mild and moderate TP, a decrease in spontaneous and induced platelet aggregation was observed; in severe TP, there was no spontaneous and a decreased induced platelet aggregation, suggesting a reduced potential of platelets to perform their direct function – thrombus formation. A multidisciplinary team consisting of an obstetrician-gynecologist, hematologist, anesthesiologist, and neonatologist should be involved in managing such cases to provide effective obstetric care for this category of pregnant women. Risks for the mother and fetus/newborn should be assessed thoroughly depending on gestational age, considering clinical and laboratory aspects. Delivery of pregnant women with severe TP should be managed at institutions providing the highest level of obstetric and gynecological care.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES:

1. Pavord S., Hunt B. The Obstetric Hematology Manual. Cambridge University Press, 2010;
2. Cines D.B., Levine L.D. Blood. 2017; 130(21): 2271-2277. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-05-781971>;
3. Rajasekhar A., Gernsheimer T., Stasi R., James A.H. Clinical Practice Guide on Thrombocytopenia in Pregnancy. – Washington, DC: American Society of Hematology; 2013.
4. Reese J.A., Peck J.D., Deschamps D.R., McIntosh J.J., Knudtson E.J., Terrell D.R., Vesely S.K., George J.N. N. Engl. J. Med., 2018; 379: 32-43. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1802897>;
5. Provan D., Arnold D.M., Bussel J.B., Chong B.H., Cooper N., Gernsheimer T., Ghanima W., Godeau B., González-López T.J., Grainger J., Hou M., Kruse C., McDonald V., Michel M., Newland A.C., Pavord S., Rodeghiero F., Scully M., Tomiyama Y., Wong R.S., Zaja F., Kuter D.J. Blood Adv., 2019; 3(22): 3780–3817. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000812>;
6. Parnas M., Sheiner E., Shoham-Vardi I., Burstein E., Yermiahu T., Levi I., Holcberg G., Yerushalmi R. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 2006; 128(1-2): 163-168. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2005.12.031>;
7. ACOG Practice Bulletin No. 207. Obstet. Gynecol., 2019; 133(3): e181-e193. –<https://doi.org/10.1097/AOG.00000000000003100>;
8. Fadiloglu E., Unal C., Tanacan A., Portakal O., Beksac M.S. Geburtsh Frauenheilk, 2020; 80: 76-83. <https://doi.org/10.1055/a-0865-4442>;
9. Rodeghiero F., Stasi R., Gernsheimer T., Michel M., Provan D., Arnold D.M., Bussel J.B., Cines D.B., Chong B.H., Cooper N., Godeau B., Lechner K., Mazzucconi M.G., McMillan R., Sanz M.A., Imbach P., Blanchette V., Kühne T., Ruggeri M., George J.N. Blood, 2009; 113(11): 2386-2393. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-07-162503>;
10. Gabbe S.G., Niebyl J.R., Simpson J.L., Landon M.B., Galan H.L. Obstetrics: Normal and Problem Pregnancies, 7th ed. – Elsevier; 2017. – eBook ISBN: 9780323392174;
11. Sankaran S., Robinson S.E. Obstet. Med., 2011; 4(4): 140-146. <https://doi.org/10.1258/om.2011.110025>;
12. Мельник А. Здоров'я України, 2016; 3(376): 56-57. [Mel'nyk A. Zdorov'ya Ukrainy, 2016 roku; 3 (376): 56-57]. <http://health-ua.com/wp-content/uploads/2016/03/56-57.pdf>;
13. Born G.V. Nature, 1962; 194: 927-929.
14. Harrison P., Keeling D. In: Michelson A.D., ed. Platelets. – San Diego, CA: Elsevier/Academic Press; 2007: 445-474.

ИММУНДЫҚ ТРОМБОЦИТОПЕНИЯСЫ БАР ЖҮКТІ ӘЙЕЛДЕРДЕГІ ГЕМОСТАЗДЫҢ ТРОМБОЦИТАРЛЫ БУЫНЫН ТАЛДАУ

Ю.В. Давыдова¹, В.З. Нетяженко², А.Н. Наумчик¹, Н.И. Козачишин², А.Ю. Лиманская¹

¹«Украина МҒҰА академик Е.М. Лукьянова атындағы педиатрия, акушерлік және гинекология институты» ММ, Киев, Украина;

²А.А. Богомолец атындағы Ұлттық медицина университеті, Киев, Украина

Аңдатпа

Өзектілігі: Тромбоцитопения – жүктілікпен бірге жүретін жиі гематологиялық проблема. Жүктіліктің 5%-12%-да тромбоцитопения өрбиді. Асқынулардың жетекші себебі - гестациялық тромбоцитопения (70-85%) болып табылады. Жүктілікке дейінгі тромбоцитопения себептерінің арасында негізгі рөл иммундық тромбоцитопенияға жатады, ол жүктілік кезіндегі тромбоцитопенияның барлық жағдайларының 1-4% үшін жауапты. Гемостаздың тромбоцитарлы буынының функционалдық әлеуетін олардың мөлшерінің азаюы жағдайында зерттеу өзекті болып табылады.

Зерттеу мақсаты жарық агрегометриясы әдісімен әртүрлі дәрежедегі иммундық тромбоцитопениясы бар жүкті әйелдердегі тромбоцитарлы гемостаз буынын талдау болды.

Материалдар мен Әдістер: «Украина МҒҰА академик Е.М. Лукьянова атындағы Педиатрия, акушерлік және гинекология институты» ММ акушерлік клиникаларында 2018 жылғы қыркүйектен бастап 2021 жылғы ақпанды қоса алғанға дейін 88 әйел гестациялық және 28 әйел иммундық тромбоцитопениясы бар әйелдер жүктілікті қадағалады және/немесе емделді және босанды. Гемостаздың тромбоцитарлы буыны иммундық тромбоцитопениясы бар әйелдер тобында зерттелді, олардың ішінде 6-ында (21,4%) ауыр тромбоцитопения байқалды.

Нәтижелері: жеңіл және орташа иммундық тромбоцитопения кезінде тромбоциттердің кенет және ықпалдандырылған агрегациясының төмендеуі, ауыр иммундық тромбоцитопения кезінде – тромбоциттердің кенет агрегациясының болмауы және ықпалдандырылған агрегациясының төмендеуі байқалды, бұл тромбоциттердің өзінің тікелей функциясын – тромбты түзуді орындауға әлеуетінің төмендегенін көрсетеді.

Қорытынды: Иммундық тромбоцитопения жүкті әйелдердің тромбоцитопениясын тудыратын жүктіліктің алдындағы жағдайлардың басты себебі болып табылады. Жарық агрегометриясы әдісін қолдану тромбоциттердің агрегацияға функционалды қабілетін талдауда өзекті және көрнекті болып табылады. Жүкті әйелдердің осы санатына тиімді акушерлік көмек көрсету мақсатында осындай жүктілікті қадағалауды құрамында акушер-гинеколог, гематолог, анестезиолог, неонатолог бар мультипәндік команда айналысуы тиіс. Ана мен ұрық/нәресте үшін қауіптерді бағалау жүктілік мерзіміне және клиникалық-зертханалық жағдайға байланысты көп мәрте жүзеге асырылуы тиіс. Ауыр тромбоцитопениясы бар жүкті әйелдерді босандыру акушерлік-гинекологиялық көмек көрсетудің жоғары деңгейдегі мекемесінде жүзеге асырылуы тиіс.

Түйінді сөздер: тромбоцитопения, жүктілік, иммундық тромбоцитопения, тромбоциттер агрегациясы, жарық агрегометриясы.

Автор для корреспонденции:

Наумчик Алена Николаевна.

alenanaumchic@gmail.com; +38 (093) 822 04 06. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1933-5068>