

ГЕМАТОЛОГИЯ

© ГАБРИЛЬЧАК А.И., 2021

Габрильчак А.И.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТРОМБОЦИТОВ И МЕГАКАРИОЦИТАРНОЙ ФОРМУЛЫ КОСТНОГО МОЗГА ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ТРОМБОЦИТОПЕНИЧЕСКОЙ ПУРПУРЕ

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

Изучены показатели мегакариоцитарной формулы и индексов тромбоцитов периферической крови у 237 человек с диагнозами идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) и миелодиспластический синдром (МДС). Проведен корреляционный анализ между субпопуляциями мегакариоцитов и показателями тромбоцитов. Пороговые значения для MPV, PCT и PDW определяли ROC-анализом с построением ROC-кривой, расчётом площади под кривой (AUC) и порога отсечения CutOff. Полученные значения позволяют проводить дифференциальный диагноз между ИТП и МДС по тромбоцитарным показателям периферической крови без исследования костного мозга.

Ключевые слова: идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура; мегакариоциты; средний объем тромбоцита; тромбоцит; ширина распределения тромбоцитов; миелодиспластический синдром.

Для цитирования: Габрильчак А.И. Диагностическое значение показателей тромбоцитов и мегакариоцитарной формулы костного мозга при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (12): 739-746. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-12-739-746>

Для корреспонденции: Габрильчак Анастасия Ивановна, ассистент каф. фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой; e-mail: kaf_biohim@samsmu.ru

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 21.07.2021

Принята к печати 01.09.2021

Опубликовано 22.12.2021

Gabrilchak A.I.

DIAGNOSTIC VALUE OF PLATELET PARAMETERS AND MEGAKARYOCYTE FORMULA OF BONE MARROW IN IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA

Samara State Medical University, 443099, Samara, Russia

The parameters of the megakaryocyte formula and peripheral blood platelet indices were studied in 237 people with diagnoses of idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) and myelodysplastic syndrome (MDS). A correlation analysis was performed between megakaryocyte subpopulations and platelet counts. The threshold values for MPV, PCT and PDW were determined by ROC analysis with the construction of the ROC curve, the calculation of the area under the curve (AUC) and the cutoff threshold. The obtained values make it possible to make a differential diagnosis between ITP and MDS by platelet parameters of peripheral blood without examining the bone marrow.

Key words: idiopathic thrombocytopenic purpura; megakaryocyte; mean platelet volume; plateletcrit; platelet distribution width; myelodysplastic syndrome.

For citation: Gabrilchak A.I. Diagnostic value of platelet parameters and megakaryocyte formula of bone marrow in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (12): 739-746 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-12-739-746>

For correspondence: *Gabrilchak A.I.*, assistant of the chair of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: kaf_biohim@samsmu.ru

Information about author:

Gabrilchak A.I., <https://orcid.org/0000-0003-2474-3127>.

Conflict of interest. *The author declares no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 21.07.2021

Accepted 01.09.2021

Published 00.12.2021

Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) – первичная иммунная тромбоцитопения – это аутоиммунное заболевание, которое обусловлено выработкой антител к структурам мембраны тромбоцитов и/или мегакариоцитов, что приводит к повышенному распаду тромбоцитов и характеризуется изолированной тромбоцитопенией ниже $100,0 \times 10^9/\text{л}$ [1]. Заболевание обычно проявляется геморрагическим синдромом в виде петехиальной сыпи и экхимозов на коже и на поверхности слизистых оболочек, но может проявляться в виде серьезного желудочно-кишечного или носового кровотечения вплоть до жизнеугрожающих субарахноидальных кровоизлияний. До сих пор отсутствуют выработанные критерии ИТП, что делает это заболевание «диагнозом исключения» и диктует необходимость проведения комплексного обследования, с целью исключения других причин тромбоцитопении [2].

Тест на антитела к тромбоцитам не является специфическим, так как отсутствие антител к тромбоцитам не исключает ИТП, в тоже время они могут быть обнаружены у пациентов с заболеваниями печени или другими состояниями, не связанными с ИТП [3]. Изолированная тромбоцитопения также может быть характерным проявлением у 5-10% пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) [4] или апластической анемией. Таким образом, для дифференциальной диагностики тромбоцитопении важнейшим оказывается исследование костного мозга.

Морфологическая картина костного мозга при ИТП ограничивается изменениями мегакариоцитарного ростка, а именно, гиперплазией мегакариоцитов (МКЦ), большинство из которых составляют базофильные формы, хотя в некоторых случаях мегакариоцитарный росток остается без изменений, как все показатели миелограммы в целом. В нормальном костном мозге мегакариоциты вытягивают длинные нити, называемые протромбоцитами, которые выступают через эндотелий сосудов в просвет синусоиды и высвобождают тромбоциты [5]. Сами протромбоциты являются выростами цитоплазмы мегакариоцита, мембраны которых формируются из системы демаркационных мембран. Существует прямая взаимосвязь между протяженностью системы демаркационных мембран, ветвлением протромбоцитов, зрелостью, а также уровнем полиплоидизации мегакариоцита и количеством тромбоцитов, образованных на один мегакариоцит [6]. При ИТП фрагментация цитоплазмы мегакариоцитов и образование протромбоцитов значительно снижаются, что выражается в снижении количества пластинкообразующих форм мегакариоцитов, свидетельствующих о нарушении процесса тромбоцитобразования.

При МДС мегакариоцитарный росток подвергается диспластическим изменениям, что приводит к появлению микромегакариоцитов, которые демонстрируют наиболее сильную корреляцию с клональными маркерами при МДС, гипоглобулярных форм, мегакариоцитов с множественными отделенными ядрами, диссоциации созревания ядра и цитоплазмы и гипогрануляции мегакариоцитов [7]. Поэтому исследование костного мозга в настоящее время является золотым стандартом для дифференциальной диагностики гипопродуктивных и гипердеструктивных форм тромбоцитопений [8]. Исследование костного мозга при диагностике ИТП имеет ряд своих ограничений. Ввиду инвазивности этого исследования, аспирация костного мозга, а особенно биоп-

сия трепанобиоптата, не может проводиться регулярно. Мегакариопоэтическая активность и динамика тромбопоэза остаются неясными при большинстве ИТП, особенно в некоторых рефрактерных случаях [9]. В то же время, согласно федеральным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ИТП у детей от 2015 г., при изолированной тромбоцитопении и неизменной морфологии лейкоцитов и тромбоцитов в периферической крови выполнение костномозговой пункции не рекомендуется. В этих обстоятельствах неинвазивный и специфический тест, отражающий мегакариопоэтическую активность, был бы неоценим для диагностики, клинического мониторинга и лечения ИТП.

Известно, что увеличение объема тромбоцитов (MPV) может быть связано с повышенной выработкой тромбоцитов, высвобождаемых в кровоток из костного мозга [10]. Среди показателей тромбоцитов известно, что MPV коррелирует как с плоидностью мегакариоцитов, так и с процентом циркулирующих ретикулярных (с повышенным количеством РНК) тромбоцитов [11]. PDW отражает гетерогенность тромбоцитов. Было показано, что MPV и PDW можно использовать для дифференциальной диагностики эссенциальной тромбоцитемии и реактивного тромбоцитоза [10]. Таким образом, показатели тромбоцитов, включая средний объем тромбоцитов (MPV), тромбокрит (PCT) и ширину распределения тромбоцитов (PDW), могут предоставить важную информацию для оценки мегакариопоэтической активности и, вероятно, помочь отличить гипердеструктивную или гипопродуктивную тромбоцитопению.

Цель настоящего исследования – определить возможность оценки мегакариопоэтической активности при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре по индексам тромбоцитов периферической крови.

Материал и методы. Настоящее исследование является ретроспективным, проводилось в период с 2014 по 2021 гг. на базе кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Материалом служили образцы периферической крови и костного мозга 237 человек.

1-я группа – 146 человек с клиническим диагнозом идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (код МКБ-10 D69.3), которые состояли на стационарном лечении в Самарском областном гематологическом центре, возраст от 18 до 90 лет. Во 2-ю группу вошли 71 человек с миелодиспластическим синдромом (код МКБ-10 D46). 3-я группа была выбрана как группа сравнения, в нее вошли 20 человек с диагнозом железодефицитная анемия (код МКБ-10 D50.0) с рефрактерным течением, которым с целью исключения других злокачественных заболеваний была проведена костномозговая пункция. Демографические данные по группам представлены в табл.1. Все пациенты дали письменное информированное согласие на проведение исследования. Данное исследование одобрено этическим комитетом (выписка из протокола № 202 заседания Комитета по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете от 09.10.2019 г.)

Критериями включения для 1-й группы является наличие изолированной тромбоцитопении ниже $100 \times 10^9/\text{л}$ с отсутствием морфологических и функциональных аномалий тромбоцитов после исключения возможных других причин для тромбоцитопении [1]. Критериями включения для группы с МДС, согласно рекоменда-

ям ВОЗ от 2018 г., стали стабильная цитопения в одном или более ростках в периферической крови и дисплазия $\geq 10\%$ от всех клеток в одном или более ростках кровяных элементов, выявленная при морфологическом исследовании костного мозга [4].

Образцы периферической крови были получены до начала лечения ИТП в пробирки фирмы «VACUTANER» (США) с использованием антикоагулянта ЭДТА. На гематологическом анализаторе Sysmex XT-2000i (Sysmex Corporation, Япония) определялось количество лейкоцитов (WBC), эритроцитов (RBC), гемоглобин (HGB), тромбоциты (PLT) и показатели тромбоцитов, включая тромбоцит (PCT), средний объем тромбоцитов (MPV), анизоцитоз тромбоцитов (PDW).

Анализ мегакариопоэза. Аспирация костного мозга была выполнена до начала терапии. У всех пациентов все мазки были независимо рассмотрены двумя морфологами. Определяли клеточность костного мозга, лейко-эритробластическое соотношение и дифференциальный подсчет клеток под увеличением в 1000 раз. Количество и морфологические особенности мегакариоцитов подсчитывали на 250 полей зрения, что соответствует площади 2,5-3,5 см². Распределение мегакариоцитов на различные стадии было основано на размере, долях и структуре хроматина ядра, разной окраске цитоплазмы и характера зернистости [13]. Были выделены следующие стадии: **мегакариобласт** – клетка размером 8-24 мкм, с гиперхромным ядром с нуклеолами, с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, скудной базофильной цитоплазмой в виде узкого ободка; **промегакариоцит** – диаметром 20-40 мкм, с более крупным ядром с небольшой тенденцией к полиморфизму, с базофильной беззернистой цитоплазмой, иногда с отростками; **базофильный мегакариоцит** – размер более 30 мкм, содержащий дольчатое ядро и обильную, но менее интенсивно базофильную цитоплазму; **полихроматофильный мегакариоцит** – размер более 40-60 мкм, низкое ядерно-цитоплазматическое соотношение, большое многолопастное ядро, светло-голубая обильная цитоплазма содержит многочисленные азурофильные гранулы; **оксифильный мегакариоцит** – клетки диаметром 60-120 мкм, с резко пикнотичным многолопастным ядром, розовой цитоплазмой и обильной азурофильной зернистостью. Поскольку в мазках костного мозга было обнаружено мало мегакариобластов, мы объединили мегакариобласты и промегакариоциты в незрелые мегакариоциты.

Выделяли инволютивные мегакариоциты с разреженным ядром и большой зоной бледно-розовой цитоплазмы; голаядерные и дегенеративные формы (мегакариоциты с гиперсегментацией ядра и вакуолизацией цитоплазмы). Оценивали явление эмпириопозиса – проникновение одной клетки в другую без повреждения. Морфологически исследовали активность мегакариоцитов по количеству пластинкообразующих и пластинкодержащих форм мегакариоцитов. Определяли мегакариоциты с признаками диспоэза (микроформы и формы с гиполобулярным ядром, мегакариоциты с множественностью ядер).

Индекс созревания мегакариоцитов определяли как отношение процента мегакариобластов, промегакариоцитов и базофильных мегакариоцитов к проценту полихроматофильных и оксифильных мегакариоцитов.

Статистический анализ. Сравнение показателей крови и костного мозга между тремя группами было

статистически проанализировано с помощью тестов Краскелла-Уоллиса, Манна-Уитни и хи-квадрата из-за ненормального распределения. Все исследуемые группы характеризовались медианными значениями и межквартильными диапазонами. Взаимосвязи показателей тромбоцитов и мегакариоцитарных параметров были проверены с помощью ранговой корреляции Спирмена.

Диагностическую эффективность показателей тромбоцитов определяли ROC-анализом с построением ROC-кривой, расчётом площади под кривой (AUC) и порога отсечения CutOff. Пороговое значение MPV, PCT и PDW для оценки вида тромбоцитопении определяли по значению CutOff. Различия считались статистически значимыми при значении p менее 0,05. Статистическая обработка данных производилась в программе MedCalc версия 20.009.

Результаты. Показатели тромбоцитов периферической крови сравнивали между группами ИТП, МДС и группой сравнения (см. табл. 1). Количество тромбоцитов значительно снижено в группе с ИТП ($p < 0,0001$). В то же время количество тромбоцитов в группе с МДС ниже, чем в группе сравнения ($p < 0,0001$). Самый низкий уровень PCT был обнаружен в группе ИТП (медиана – 0,07, $p < 0,0001$), а самый высокий в группе сравнения (медиана – 0,27, $p < 0,0001$). Напротив, средний объем тромбоцита был значительно выше в группе ИТП, составляя 11,85 фл ($p < 0,001$), что превышает возрастную норму (7,2-11,7 фл)[14]. В группе МДС значения MPV находились в референсном диапазоне (медиана – 9,35 фл), но занимают достоверно более высокое значение, чем в группе сравнения (8,1 фл, $p < 0,001$). PDW отражает анизоцитоз тромбоцитов и в норме не превышает 16,0%. Самое высокое значение PDW в группе с ИТП (22,3%, $p < 0,001$), в группе с МДС уровень ниже группы сравнения.

Морфологическая оценка костного мозга выявила значительное увеличение количества мегакариоцитов в группе ИТП ($p < 0,001$), тогда как группа с МДС показала схожие значения с группой сравнения. Что касается дифференцировки мегакариоцитов, то количество мегакариобластов и промегакариоцитов достоверно выше в группе ИТП ($p < 0,05$). Самое большое количество базофильных мегакариоцитов наблюдается в группе ИТП, составляя медиану 9,0%, что достоверно выше, чем в группах с МДС и группе сравнения ($p < 0,01$). В отличие от этого, процентная доля полихроматофильных и оксифильных мегакариоцитов значительно ниже в группе с ИТП, по сравнению с группой сравнения и МДС ($p < 0,0001$). Таким образом, в группе ИТП наблюдается задержка созревания мегакариоцитарного ростка на полихроматофильных формах, в то время как в группе с МДС созревание мегакариоцитов не изменяется. Максимальное количество «голаядерных» форм мегакариоцитов составило в группе ИТП (медиана – 21,0%), тогда как в других группах они единичны ($p < 0,0001$).

Наблюдалось значительное снижение количества пластинкообразующих МКЦ в группе ИТП (медиана – 8,0%) и МДС (медиана – 13,5%, $p < 0,0001$) при сопоставлении с группой сравнения, при этом в группах с ИТП такая ситуация сохраняется и для пластинкодержащих МКЦ, а при миелодиспластическом синдроме имеет обратную тенденцию, превышая значения контрольной группы ($p < 0,0001$). Инволютивные формы МКЦ и явление эмпириопозиса единичны во всех группах, кроме группы ИТП ($p < 0,05$), для дегенератив-

Показатели периферической крови и костного мозга у пациентов с ИТП и МДС

Показатели	Взрослые ИТП (n=146) Me [25%, 75%]	МДС (n=71) Me [25%, 75%]	Группа сравнения (n=20) Me [25%, 75%]	Отличие, p
Возраст, годы	56 [42-66]	68,5 [60,0-77,0]	56 [40-65]	
Соотношение мужчины/женщины	46/100	47/24	10/10	
Лейкоциты (WBC), $\times 10^9/\text{л}$	7,50* [5,52-10,28]	3,62** [1,69-5,70]	6,70 [4,70-9,10]	< 0,0001
Эритроциты (RBC), $\times 10^{12}/\text{л}$	4,79* [4,22-5,25]	2,83 [2,34-3,73]	3,82*** [3,12-4,19]	< 0,0001
Гемоглобин (HGB), г/л	135,67* [125,0-147,0]	91 [84-96]	76,00*** [61,90-87,00]	< 0,0001
Тромбоциты (PLT), $\times 10^9/\text{л}$	24,50* [12,00-62,25]	113** [65,0-161,0]	304,00*** [198,0-442,0]	< 0,0001
Тромбокрит (PCT), %	0,07* [0,03-0,11]	0,12** [0,08-0,16]	0,27*** [0,20-0,32]	< 0,0001
Средний объем тромбоцитов (MPV), фл	11,85* [8,94-13,98]	9,35 [6,48-10,00]	8,10*** [6,78-9,50]	< 0,0001
Анизотоз тромбоцитов (PDW), %	22,30* [20,80-23,70]	14,9 [12,5-20,73]	18,40*** [11,10-19,20]	< 0,0001
Всего мегакарицитов на 250 полей зрения	37,00* [17,00-61,00]	20,00 [7,0-30,0]	21,00*** [10,00-33,00]	< 0,0001
Незрелые мегакарициты, %	2,00* [0,00-5,00]	0,50 [0,0-2,00]	1,00 [0,25-2,00]	0,0057
Мегакарициты базофильные, %	9,00* [5,00-18,50]	3,0 [0,0-12,00]	6,00*** [2,00-8,00]	< 0,0001
Мегакарициты полихроматофильные, %	40,00* [32,50-48,00]	58,00 [50,0-70,0]	53,00*** [42,00-61,00]	< 0,0001
Мегакарициты оксифильные, %	15,00 [9,00-23,50]	20,00 [12,00-34,00]	28,00*** [22,00-45,00]	< 0,0001
Инволютивные формы, %	2,00 [1,00-4,00]	1,00 [0,0-4,00]	1,00*** [0,00-3,00]	< 0,0001
Голоядерные, %	21,00* [11,50-28,50]	4,5** [0,00-10,00]	8,00*** [6,00-11,00]	< 0,0001
Дегенеративные, %	1,00 [0,00-3,00]	0,50 [0,00-2,00]	1,00 [0,00-1,00]	0,6839
Эмпириоплезис, %	3,00 [2,00-6,00]	3,00 [2,00-6,00]	2,00*** [0,00-3,00]	0,0018
Микромегакарициты, %	4,00* [1,00-8,00]	17,00** [2,00-70,00]	0,00*** [0,00-0,00]	< 0,0001
Мегакарициты с множеством ядер, %	0,00* [0,00-0,00]	24,5** [6,00-40,00]	0,00 [0,00-0,00]	< 0,0001
Пластинкообразующие формы, %	8,00 [3,00-17,00]	13,5** [2,0-20,0]	41,00*** [32,00-63,00]	< 0,0001
Пластинкосодержащие формы, %	30,00* [22,00-38,00]	47,0** [39,0-62,0]	34,00 [21,00-44,00]	< 0,0001
Индекс созревания мегакарицитов	0,22* [0,10-0,43]	0,04 [0,02-0,13]	0,09*** [0,02-0,14]	< 0,0001

Примечание. * – $p < 0,05$ при сравнении групп ИТП и МДС; ** – $p < 0,05$ при сравнении контрольной группы с МДС; *** – $p < 0,05$ при сравнении контрольной группы с ИТП.

ных форм достоверных различий между сравниваемыми группами не выявлено. Мегакариоциты с признаками диспоза встречались в группах с ИТП и МДС, только при миелодиспластическом синдроме явление носило выраженный характер, тогда как при ИТП такие формы единичны ($p < 0,0001$). В том числе при ИТП не обнаружены мегакариоциты с множеством ядер.

Для оценки взаимосвязи между показателями тромбоцитов и мегакариопоэзом использовалась ранговая корреляция Спирмена (табл. 2). В группе ИТП выявля-

на корреляция между MPV и количеством тромбоцитов ($r = 0,233, p < 0,05$), а также между PDW и количеством тромбоцитов ($r = 0,328, p < 0,001$). В то же время в группе МДС не было обнаружено значимых корреляций между количеством тромбоцитов и MPV или PDW ($p > 0,05$). Наблюдалась слабые отрицательные корреляции в группе ИТП между количеством мегакариоцитов костного мозга и общим числом тромбоцитов в периферической крови ($r = -0,208, p < 0,05$), тромбоцитом ($r = -0,210, p < 0,05$) и MPV ($r = -0,181, p < 0,05$). Сильные взаимосвязи в группе

Таблица 2

Корреляции показателей тромбоцитов и параметров мегакариоцитов при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре и миелодиспластическом синдроме

Показатели			PLT	Всего мегакариоцитов	Незрелые мегакариоциты	Мегакариоциты базофильные	Мегакариоциты полихроматофильные	Мегакариоциты оксифильные	Инволютивные мегакариоциты	Голодерные мегакариоциты	Дегенеративные мегакариоциты	Эмбриополезис	Микро- мегакариоциты	Мегакариоциты с множеством ядер	Пластинкообразующие МКЦ	Пластинкосодержашие МКЦ
ИТП	PLT	<i>r</i>	-	-0,208	-0,117	-0,050	-0,010	0,140	-0,039	0,065	-0,08	-0,02	-0,107	0,060	0,333	0,029
		<i>p</i>	-	0,020	0,195	0,550	0,862	0,120	0,660	0,469	0,323	0,765	0,239	0,489	0,0002	0,745
	PCT	<i>r</i>	0,351	-0,210	0,180	0,047	-0,157	0,042	-0,006	0,167	0,016	0,020	-0,063	0,094	0,284	-0,119
		<i>p</i>	0,0004	0,036	0,075	0,638	0,121	0,679	0,949	0,098	0,869	0,833	0,531	0,369	0,004	0,239
	MPV	<i>r</i>	0,233	-0,181	0,184	-0,040	-0,027	0,064	-0,07	0,123	0,021	0,106	-0,015	-0,025	0,268	-0,02
		<i>p</i>	0,011	0,048	0,045	0,644	0,762	0,484	0,431	0,184	0,819	0,251	0,864	0,784	0,003	0,825
PDW	<i>r</i>	0,328	-0,114	0,145	-0,035	-0,031	0,043	-0,259	0,111	0,099	-0,071	-0,066	-0,067	0,266	0,003	
	<i>p</i>	0,0003	0,218	0,117	0,700	0,686	0,641	0,004	0,233	0,284	0,443	0,474	0,465	0,003	0,968	
МДС	PLT	<i>r</i>	-	0,416	-0,111	0,425	0,050	-0,09	0,564	0,246	-0,522	-0,185	-0,406	-0,153	0,553	-0,246
		<i>p</i>	-	0,075	0,642	0,061	0,819	0,702	0,009	0,390	0,018	0,435	0,070	0,518	0,011	0,295
	PCT	<i>r</i>	0,310	0,755	-0,856	0,903	0,030	-0,333	0,230	0,216	-0,577	0,184	-0,452	-0,024	-0,214	0,590
		<i>p</i>	0,243	0,0007	0,0000	0,0000	0,981	0,207	0,391	0,422	0,019	0,503	0,078	0,929	0,425	0,016
	MPV	<i>r</i>	-0,236	-0,085	-0,169	0,325	0,115	-0,182	-0,584	-0,644	-0,174	-0,462	0,248	0,460	-0,219	0,449
		<i>p</i>	0,315	0,721	0,475	0,161	0,628	0,442	0,006	0,002	0,462	0,040	0,290	0,041	0,353	0,046
PDW	<i>r</i>	0,217	-0,310	0,580	-0,069	0,317	-0,041	0,324	-0,058	0,548	-0,109	-0,483	-0,339	0,285	-0,492	
	<i>p</i>	0,387	0,211	0,011	0,783	0,200	0,869	0,190	0,817	0,018	0,666	0,042	0,168	0,252	0,038	
Группа сравнения	PLT	<i>r</i>	-	0,029	-0,207	0,008	0,202	-0,066	-0,021	-0,333	0,069	0,266	0	0,086	0,393	-0,247
		<i>p</i>	-	0,906	0,395	0,971	0,406	0,785	0,930	0,163	0,776	0,271	0	0,726	0,095	0,308
	PCT	<i>r</i>	0,828	0,049	-0,069	0,207	0,274	-0,222	-0,111	-0,232	0,228	0,121	0	-0,051	0,202	0,025
		<i>p</i>	0,000	0,851	0,790	0,424	0,287	0,391	0,672	0,369	0,379	0,644	0	0,848	0,435	0,921
	MPV	<i>r</i>	0,050	0,107	-0,290	-0,407	-0,352	0,395	0,111	-0,093	0,221	0,261	0	0,151	-0,064	0,162
		<i>p</i>	0,838	0,663	0,228	0,083	0,139	0,094	0,655	0,703	0,362	0,279	0	0,538	0,794	0,508
PDW	<i>r</i>	-0,321	0,049	-0,020	0,207	-0,138	-0,008	-0,103	0,278	-0,049	0,266	0	-0,129	0,134	-0,307	
	<i>p</i>	0,180	0,851	0,932	0,424	0,574	0,971	0,674	0,248	0,839	0,271	0	0,598	0,585	0,201	

Примечание. Жирным шрифтом отмечены значения $p < 0,05$, указывающие на статистически значимые различия групп.

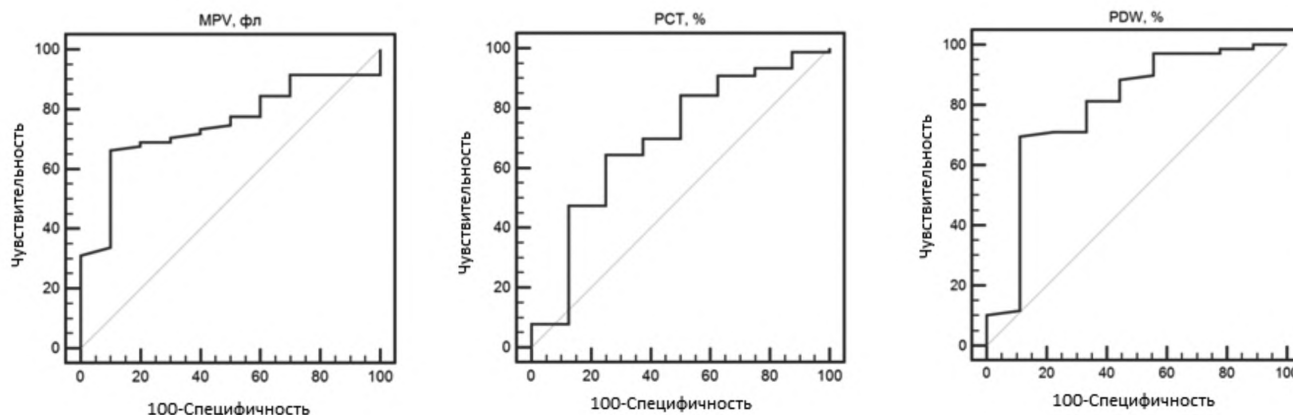
МДС выявлены между PCT и количеством мегакариоцитов в костном мозге ($r=0,755$, $p<0,001$), количеством незрелых мегакариоцитов ($r=-0,865$, $p<0,0001$), а также базофильных форм мегакариоцитов ($r=0,903$, $p<0,0001$). В группе ИТП наблюдались положительные корреляции между пластинкообразующими формами мегакариоцитов и количеством тромбоцитов периферической крови ($r=0,333$, $p<0,001$), PCT ($r=0,284$, $p<0,01$), MPV ($r=0,268$, $p<0,01$), а также PDW ($r=0,266$, $p<0,01$).

В группе с МДС определены положительные взаимосвязи между количеством тромбоцитов в периферической крови и инволютивными мегакариоцитами ($r=0,564$, $p<0,01$) и, также как и в группах с ИТП, с пластинкообразующими формами мегакариоцитов ($r=0,553$, $p<0,05$). Отрицательная взаимосвязь обнаружена в группе МДС между количеством тромбоцитов и дегенеративными формами мегакариоцитов ($r=-0,522$, $p<0,05$). Показатель MPV показал сильные отрицательные взаимосвязи с инволютивными мегакариоцитами ($r=-0,586$, $p<0,01$), «голаядерными» формами ($r=-0,644$, $p<0,01$) и явлением эмпириоплезиса ($r=-0,462$, $p<0,05$), в то время как между мегакариоцитами с множеством мелких ядер и MPV взаимосвязь положительная ($r=0,460$, $p<0,05$). Показатель анизцитоза тромбоцитов PDW коррелирует с дегенеративными формами ($r=0,548$, $p<0,05$) и микроформами мегакариоцитов ($r=-0,483$, $p<0,05$). В группе сравнения не было обнаружено корреляции между показателями тромбоцитов и стадиями созревания мегакариоцитов.

Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что в группе ИТП MPV, PCT и PDW коррелируют с пластинкообразующими мегакариоцитами, что имеет важное значение для диагностики ИТП. Для диагностики МДС важным маркером является диспозез в костном мозге, по нашим данным, корреляции с формами диспозеза мегакариоцитов выявлены для PDW и MPV.

Для оценки клинических показателей тромбоцитов в сравниваемых группах применялся анализ ROC-кривых. Чувствительность и специфичность MPV, PCT и PDW при различных пороговых значениях были перечислены в табл. 3. Площадь под кривой ROC (AUC) MPV, PCT и PDW в группе ИТП при сравнении с МДС составили 0,750, 0,696 и 0,795, соответственно (см. рисунок). Индекс Юдена был максимальным в точке отсечения.

Для MPV было установлено, что точка отсечения более 10,7 fl имеет хорошую прогностическую ценность при диагностике ИТП. Чувствительность составила 66,2%, специфичность – 90,0%, отношение правдоподобия положительного результата теста (Positive LR) – 6,62 и отрицательного результата (Negative LR) – 0,38, прогностичность положительного результата (PPV) 89%, отрицательного результата (NPV) – 70%. Соответственно, при пороговом значении PDW более 20,8% пациентов с ИТП можно отличить от МДС с 69,57% чувствительностью и специфичностью 88,89%. Расчетный PPV и NPV составили 94% и 70,6%, Positive LR – 6,26 и Negative LR – 0,34. Среднюю прогностическую ценность показала ROC-кривая для PCT. Для этого показателя была получена точка отсечения менее 0,086% с



ROC-кривые для моделей прогноза диагностической эффективности показателей MPV, PCT и PDW между группами ИТП и МДС.

Таблица 3

Анализ ROC-кривых для моделей прогноза диагностической эффективности показателей тромбоцитов между группами ИТП и МДС

Показатели	AUC	SE	Significance level P (Sig)	95% CI of AUC		Cutoff point	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Positive LR	Negative LR
				Lower	Upper					
MPV	0,750	0,055	0,0001	0,648	0,835	>10,7	66,2	90,0	6,62	0,38
PCT	0,696	0,0784	0,0125	0,591	0,787	≤0,086	64,47	75,00	2,58	0,47
PDW	0,795	0,0514	0,0001	0,695	0,874	>20,8	69,57	88,89	6,26	0,34

Примечание. AUC – площадь под кривой; SE – стандартная ошибка; Significance level P (Sig) – асимптотическая значимость; 95% CI of AUC – асимптотический 95 % доверительный интервал; Lower Bound – нижняя граница; Upper Bound – верхняя граница; Cutoff point – точка отсечения; Sensitivity (%) – чувствительность; Specificity (%) – специфичность; Positive LR – положительное отношение правдоподобия; Negative LR – отрицательное отношение правдоподобия.

чувствительностью 64,47% и специфичностью 75,0%. PPV составила 67,1%, NPV – 60,6%, Positive LR – 2,58, а Negative LR – 0,34. Построенные ROC-кривые для MPV, PCT и PDW сдвинуты в верхнюю левую часть графика, что указывает на их высокую прогностическую ценность.

Обсуждение. В нормальном костном мозге легко найти зрелые мегакариоциты, обладающие скоплениями тромбоцитов внутри или на краю цитоплазмы, демонстрирующими нормальное образование тромбоцитов мегакариоцитами. В патогенезе ИТП аутоантитела образуются в ответ на бактериальные или вирусные инфекции, вакцинации или лекарства, а также аутоиммунные реакции, опосредованные Т-клетками [12]. Аутоантитела могут ингибировать или ослаблять дифференцировку мегакариоцитов из гемопоэтических стволовых клеток CD34, полученных из пуповинной крови. Мы обнаружили снижение пластинкообразующих мегакариоцитов у пациентов с ИТП, а также задержку созревания мегакариоцитарного ростка. При ИТП низкое количество тромбоцитов индуцирует компенсаторное увеличение количества мегакариоцитов в костном мозге, что проявляется обнаруженной гиперплазией мегакариопоэза. При МДС количество мегакариоцитов в костном мозге и созревание ростка не изменяется, но сопровождается появлением форм диспоэза. Таким образом, исследование миелограммы помогает при дифференциальном диагнозе ИТП и МДС.

При ИТП мегакариоциты продуцируют тромбоциты в ответ на повышенную деструкцию [9]. Новые сгенерированные тромбоциты имеют увеличенный размер. Соответственно, была обнаружена положительная корреляция между повышением MPV и пластинкообразующими мегакариоцитами при ИТП, в то время как при МДС взаимосвязь между MPV и формами диспоэза мегакариоцитов носила отрицательный характер. На основании этих данных можно сделать вывод, что MPV отражает мегакариопоэз, и было показано, что MPV значимо выше в группе ИТП по сравнению с МДС и группой сравнения. Более того, в точке отсечения MPV 10,7 фл мы смогли отличить ИТП от МДС с 89% PPV и 70% NPV.

Показатель PDW положительно коррелировал с пластинкообразующими мегакариоцитами при ИТП. Для МДС он показал интересное соотношение: положительную корреляцию для незрелых и дегенеративных мегакариоцитов и отрицательную для микроформ. Видимо такое соотношение и объясняет то, что этот показатель не отличался от группы сравнения и возрастной нормы при МДС. Наоборот, при ИТП показатель анизоцитоза тромбоцитов значимо выше, что демонстрирует диагностическую ценность PDW для идиопатической тромбоцитопенической пурпуры. Таким образом, полученное путем ROC-анализа значение показателя PDW 20,8% помогает в дифференциальном диагнозе между ИТП и МДС с 94% PPV и 70,6% NPV.

При ИТП и МДС значительно снижается количество тромбоцитов в периферической крови, что взаимосвязано с низкими значениями PCT. Показатель отражает долю объема крови, занимаемую тромбоцитами. Тромбоцит является расчетным и вычисляется как сумма прямо измеренных объемов тромбоцитов ($PCT = PLT \times MPV$). Соответственно, изменения этого показателя сопряжены с количеством и объемом тромбоци-

тов, что и было продемонстрировано в виде сильных корреляционных связей между PLT и PCT. Нами было получено, что при ИТП уровень тромбоцита значимо ниже, чем при МДС. Но при ROC-анализе полученная площадь под кривой была ниже 0,7, что говорит о среднем качестве модели, поэтому этот показатель не рекомендуется использовать для дифференциальной диагностики ИТП и МДС.

Заключение. В соответствии с предыдущими исследованиями наши результаты демонстрируют, что MPV и PDW имеют диагностическую ценность для выявления тромбоцитопении, возникающей в результате повышенного потребления или разрушения тромбоцитов в периферическом русле, и тромбоцитопении, возникающей в результате диспластической продукции вследствие миелосупрессии [14,15]. Ограничение использования показателей тромбоцитов в качестве диагностического маркера для ИТП заключается в том, что MPV и PDW могут не регистрироваться автоматическим анализатором у пациентов со значительным снижением количества тромбоцитов, или при наличии ряда интерференций, когда анализатор не может адекватно разграничить популяции эритроцитов от тромбоцитов (фрагментация эритроцитов, присутствие микроэритроцитов)[10,15]. В этих условиях исследование костного мозга является незаменимым.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3, 5-7, 9-15 см. REFERENCES)

1. Меликян А.Л., Пустовая Е.И., Цветаева Н.В., Птушкин В.В., Грицаев С.В., Голенков А.К. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (первичной иммунной тромбоцитопении) у взрослых (редакция 2016 г.). *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(1, прил.1): 1-60.
2. Ковалева Л.Г., Пустовая Е.И., Сафонова Т.И. Идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП) взрослых. Первичная иммунная тромбоцитопения (ИТП) взрослых. Болезнь Верльгофа. М.: Нью Мун; 2014.
4. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н., Кохно А.В., Семочкин С.В., Афанасьев Б.В., Морозова Е.В. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению миелодиспластических синдромов взрослых. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61 (1S)(4): 1-32.
8. Мазуров А.В., Хаспекова С.Г., Васильев С.А. Диагностика тромбоцитопений. *Терапевтический архив*. 2018; 90 (7): 4-13.

REFERENCES

1. Melikyan A.L., Pustovaya E.I., Tsvetaeva N.V., Ptushkin V.V., Gritsaev S.V., Golenkov A.K. et al. National clinical recommendations for the diagnosis and therapy of idiopathic thrombocytopenic purpura (primary immune thrombocytopenia) in adults (2016). *Gematologiya I transfuziologiya*. 2017; 62(1, suppl.1): 1-60. (in Russian)
2. Kovaleva L.G., Pustovaya E.I., Safonova T.I. Idiopathic Thrombocytopenic Purpura (ITP) in adults. Primary immune thrombocytopenia (ITP) in adults. Verlgof's Disease. Moscow: Nye Mun; 2014. (in Russian)
3. Liebman H.A., Pullarkat V. Diagnosis and management of immune thrombocytopenia in the era of thrombopoietin mimetics. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. 2011; 384-90.
4. Savchenko V.G., Parovichnikova E.N., Kokhno A.V., Semochkin S.V., Afanas'ev B.V., Morozova E.V. et al. National clinical recommendations for the diagnosis and treatment of myelodysplastic syndromes adults. *Gematologiya I transfuziologiya*. 2016; 61 (1S) (4): 1-32. (in Russian)
5. Italiano J.E., Shivdasani R.A. Megakaryocytes and beyond: the birth of platelets. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1:1174-82.

ГЕМАТОЛОГИЯ

6. Patel S.R., Richardson J.L., Schulze H., Kahle E., Galjart N., Drabek K. et al. Differential roles of microtubule assembly and sliding in proplatelet formation by megakaryocytes. *Blood*. 2005; 106(13): 4076 – 85.
7. Hofmann W.K., Kalina U., Koschmieder S., Seipelt G., Hoelzer D., Ottmann O.G. Defective megakaryocytic development in myelodysplastic syndromes. *Leukemia and Lymphoma*. 2000; 38:13–9.
8. Mazurov A.V., Khaspekova S.G., Vasil'ev S.A. Diagnosis of thrombocytopenia. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2018; 90 (7): 4-13. (in Russian)
9. Strauss G., Vollert C., von Stackelberg A., Weimann A., Gaedicke G., Schulze H. Immature platelet count: a simple parameter for distinguishing thrombocytopenia in pediatric acute lymphocytic leukemia from immune thrombocytopenia. *Pediatr. Blood Cancer*. 2011; 57:641–7.
10. De Luca G., Venegoni L., Iorio S., Secco G.G., Cassetti E., Verdoia M. et al. Platelet distribution width and the extent of coronary artery disease: results from a large prospective study. *Platelets*. 2010; 21:508–14.
11. Smith N.M., Pathansali R., Bath P.M. Altered megakaryocyte-platelet-haemostatic axis in patients with acute stroke. *Platelets*. 2002; 13:113–20.
12. Houwerzijl E.J., Blom N.R., van der Want J.J., Esselink M.T., Koornstra J.J., Smit J.W. et al. Ultrastructural study shows morphologic features of apoptosis and para-apoptosis in megakaryocytes from patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2004; 103:500–6.
13. Khan M. I., Ullah I. Diagnostic importance of mean platelet volume, platelet distribution width and platelet large cell ratio as screening tool in immune thrombocytopenia. *Porto Biomedical Journal*. 2020; 5(6): e094.
14. Chandra H., Chandra S., Rawat A., Verma S.K. Role of mean platelet volume as discriminating guide for bone marrow disease in patients with thrombocytopenia. *Int. J. Lab. Hematol*. 2010; 32:498–505.
15. Kaito K., Otsubo H., Usui N., Yoshida M., Tanno J., Kurihara E. et al. Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. *Br. J. Haematol*. 2005; 128:698–702.