

АКУШЕРСТВО ГИНЕКОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИЯ

Включен в перечень ведущих
рецензируемых журналов и изданий ВАК

2016 • Том 10 • № 1



OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTION

ISSN 2313-7347

2016 Vol. 10 No 1

www.gyn.su

Данная интернет-версия статьи была скачана с сайта <http://www.gynecology.su> Не предназначено для использования в коммерческих целях.
Информацию о репринтах можно получить в редакции. Тел.: +7 (495) 649-54-95; эл. почта: info@irbis-1.ru. Copyright © 2016 Издательство ИРБИС. Все права охраняются.

ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА У НОВОРОЖДЕННЫХ

Мищенко А.Л., Хамани Н.М., Стулёва Н.С.

ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Резюме

Клиническая лекция посвящена диагностическим подходам к нарушению свертывания крови у новорожденных. В работе дается клиническое обоснование разнообразных методов диагностики нарушения гемостаза, с описанием как стандартных, рутинных исследований, так и специальных методов.

Ключевые слова

Исследования гемостаза, новорожденные, коагулометры, тромбоциты, тромбозластограмма, коагулопатия.

Статья поступила: 01.02.2016 г.; в доработанном виде: 22.02.2016 г.; принята к печати: 09.03.2016 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия финансовой поддержки или конфликта интересов в отношении данной публикации.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Для цитирования

Мищенко А.Л., Хамани Н.М., Стулёва Н.С. Диагностика нарушений гемостаза у новорожденных. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2016; 1: 62-73.

DIAGNOSTICS OF HEMOSTASIS DISORDERS IN INFANTS

Mishchenko A.L., Khamani N.M., Stuleva N.S.

First Moscow State Medical Sechenov University of the Ministry of Health Russian Federation

Summary

This clinical lecture is dedicated to the diagnostic approaches of blood coagulation disorders in newborns. The work presents a clinical substantiation of different diagnostic methods of hemostasis disorders with description of routine standard methods of research and special techniques.

Key words

Hemostasis research, infants, coagulometers, platelets, thromboelastogramm, coagulopathy.

Received: 01.02.2016; in the revised form: 22.02.2016; accepted: 09.03.2016.

Conflict of interests

The authors declared that they do not have anything to disclosure regarding funding or conflict of interests with respect to this manuscript.

All authors contributed equally to this article.

For citation

Mishchenko A.L., Khamani N.M., Stuleva N.S. Diagnostics of hemostasis disorders in infants. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya / Obstetrics, gynecology and reproduction*. 2016; 1: 62-73 (in Russian).

Corresponding author

Address: ul. Trubetskaya, 8, str. 2, Moscow, Russia, 119048.

E-mail address: gemostasis@mail.ru (Mishchenko A.L.).

Традиционно самым широко востребованным диагностическим прибором для исследования параметров свертывания крови у новорожденных детей является коагулометр. Большинство модификаций полуавтоматических и автоматических коагулометров позволяют определить параметры свертывания с использованием малых объемов крови. В качестве исследуемого образца используется, так называемая, безтромбоцитная плазма в объеме 50-100 мкл на один тест. Приготовление безтромбоцитной плазмы с помощью центрифугирования (3000 об./мин. – (2000д) – 10 мин.) обычно не представляет технических трудностей, что немало важно для этого контингента.

В зависимости от целей исследования можно построить алгоритм последовательного выполнения необходимых тестов или использовать стандартное рутинное исследование основных хронометрических показателей. При необходимости возможно расширить исследование за счет специальных тестов системы гемостаза. Современные коагулометры, кроме классических хронометрических параметров свертывания крови, позволяют оценить показатели системы гемостаза, принцип определения которых основан на использовании специальных реактивов: иммунологических, хромогенных субстратов и др.

В качестве рутинных хронометрических параметров системы гемостаза на начальном этапе исследования наиболее востребованными являются общеоценочные тесты суммарной активности факторов свертывания крови, составляющие внутренний (активированное частичное тромбопластиновое время – АЧТВ) и внешний (протромбиновое время – ПВ) пути активации гемостаза. Содержание основного субстрата свертывания

крови – фибриногена (F I) – определяется с помощью коагулометра (по методу Claus), с использованием калибровочной кривой, построенной на основе стандартных калибраторов или серийных разведений стандартного раствора с известной концентрацией фибриногена. Современные коагулометры позволяют в автоматическом режиме вычислять концентрацию фибриногена и производных протромбинового времени (протромбинового индекса – ПИ и международного нормализованного отношения – МНО).

В качестве дополнительных рутинных тестов могут быть определены показатели тромбинового времени (ТВ) и рептилазного времени (РВ) или его аналогов – анцистроновое время. Показатель тромбинового времени позволяет оценить суммарное влияние уровня гепаринемии, создаваемого за счет применения нефракционированного гепарина (НФГ) на величину этого показателя, по сравнению со стандартом, и уровень фибриногена при отсутствии гепаринемии. Для дифференциальной оценки возможного влияния гепаринемии и присутствия продуктов деградации фибрина и фибриногена на параметры коагуляции используется показатель рептилазного времени, где в качестве реактива применяется коагулаза змеиного яда, не чувствительная к присутствию в пробе гепарина (см. табл. 1).

К специальным тестам системы гемостаза, выполняемым с помощью коагулометра, следует отнести определение активности отдельных факторов свертывания крови внутреннего и внешнего путей активации системы гемостаза, а также их ингибиторов – антитромбина III (АТ III) и протеина С и S (РС и PS). Физиологически низкая исходная активность факторов свертывания крови, ингибиторов свертывания крови у

Название метода исследования	Обозначение	Общая характеристика метода исследования
Фибриноген	F I	Основной субстрат свертывания (метод Claus)
Активированное частичное тромбопластиновое время	АЧТВ	Характеризует активность факторов свертывания внутреннего пути активации гемостаза, уровень гепаринемии, ингибиторов свертывания
Протромбиновое время	ПВ	Характеризует активность факторов свертывания внешнего пути активации свертывания крови, дефицит витамина К, состояние печени, влияние антивитаминов К (АВК)
Протромбиновый индекс	ПИ	
Международное нормализованное отношение	МНО	
Тромбиновое время	ТВ	Характеризует содержание фибриногена (F I), уровень гепарина, ингибиторов свертывания крови (продукты деградации фибрина и фибриногена – ПДФ)
Рептилазное время (Анцистроновое время)	РВ	Характеризует содержание фибриногена (F I) и ПДФ в крови. Не чувствительно к присутствию в пробе гепарина
Факторы свертывания крови внутреннего пути активации гемостаза	F VIII F IX F XI F XII	В качестве основного реактива используется реактив АЧТВ
Факторы свертывания крови внешнего пути активации гемостаза	F II F V F VII F X	В качестве основного реактива используется реактив для определения протромбинового времени (тромбопластин-кальциевая смесь)

Таблица 1. Основные характеристики параметров системы гемостаза.

новорожденных детей предполагает высокую прогностическую ценность этих показателей в группе риска развития тромбозов и геморрагического синдрома [3].

В связи с этим специальные тесты, выполняемые с помощью коагулометра, представляют методы определения активности факторов свертывания крови (см. табл. 2). Принцип этих методов основан на оценке хронометрических параметров смеси субстратной, дефицитной по исследуемому фактору плазмы, и плазмы пациента. Для определения коагулянтной активности факторов VIII, IX, XI и XII используется реактив АЧТВ, а для определения факторов II, V, VII и X – реактив на основе тромбопластин-кальциевой смеси. Вычисление количественных параметров активности факторов свертывания производится по калибровочной кривой, построенной на основании серийных разведений нормальной донорской плазмы (пула плазм здоровых доноров), (например 100%, 50%, 25%, 12,5%, 5%, 1%) или в автоматическом режиме.

Определение ристомицин/кофакторной активности F VIII:RCo проводится с помощью сравнения агрегации донорских тромбоцитов в соответствующих разведениях плазм донора и исследуемого пациента. В качестве основного реактива используются отмытые донорские тромбоциты в растворе ристомицина (ристоцетина). Титры разведения (от t:2 до t:320 и т.д.), в которых обнаружена однотипная по времени агрегация тромбоцитов, принимаются в качестве конечной точки для исследуемого образца и титра чувствительности – для разведения донорской плазмы. В норме титры донора и исследуемого пациента совпадают. При дефиците F VIII:RCo, титр разведения в котором определена агрегация тромбоцитов – меньше донорского (например: пациент 1:2, донор 1:40), при увеличении активности F VIII:RCo титр исследуемого образца увеличивается по сравнению с

донорским титром (например, пациент 1:160, донор 1:40). Аналогичное исследование можно проводить на приборе агрегометре или на стеклянных пластинах.

Комплекс коагулянтного фактора (VIII:C), фактора Виллебранда или ристомицин-кофакторной активности (F VIII:RCo) и антигена фактора VIII (F VIII:RAg) используется для дифференциальной диагностики изолированного дефицита F VIII:C (гемофилия А), болезни Виллебранда F VIII:C, F VIII:RCo и F VIII:RAg, а также критических состояний, связанных с развитием геморрагического синдрома, тромбогеморрагического синдрома при ДВС-синдроме и оценки эффективности мероприятий коррекционно-заместительной терапии препаратами свежезамороженной плазмы и криопреципитатом. При острых поражениях печени и глубокой коагулопатии потребления, при острых и подострых формах ДВС может иметь место дефицит нескольких факторов свертывания крови. При наследственном дефиците какого-либо фактора свертывания крови у одного из родителей риск наследования фактора следует оценивать в сравнении с возрастными нормами соответствующего фактора свертывания крови (лучше в динамике наблюдения) [1].

Лабораторными показаниями для первичного и последующих обследований в динамике являются увеличение показателей АЧТВ (F VIII, F IX, F XI и F XII), ПВ/МНО или уменьшение ПИ (F II, F V, F VII и F X). Увеличение тромбинового времени при острых формах ДВС-синдрома является наиболее значимым дифференциальным показателем, характеризующим прогрессирующую декомпенсацию гемостатических свойств крови [2] (см. табл. 3).

Физиологический дефицит отдельных факторов свертывания крови, исключая F VIII:C, существенно затрудняет оценку причин геморрагических проявлений у новорожденных детей. Исследование отдельных факторов свертывания крови для диагностики

Название метода исследования	Обозначение	Общая характеристика метода исследования
Антитромбин III	АТ III	Ингибитор сериновых протеаз. Методы основаны на инактивации экзогенного тромбина антитромбином пробы (коагуляционные методы и хромогенные субстраты)
Протеин С	РС	Ингибиторный эффект РС в отношении FVa, FVIIIa оценивают после активации РС (коагуляционные методы и методы с использованием хромогенных субстратов).
Протеин S	PS	Участвует в активации РС последовательно. PS а
Резистентность факторов Va к активированному РС	APCR	Характеризует патологию фактора V (Leiden) и др., нарушая инактивацию FVa
Парус-тест	Система РС	Хронометрические методы с использованием специфического активатора РС. Характеризуют нарушения в системе протеина С
Д-димеры	Д-Д	Количественные методы иммунологического определения Д-димеров в крови
Ристомицин-кофактор фактора Виллебранда	F VII vW:RCo (F VIII:RCo)	Характеризует ристомицин-кофакторную активность плазмы (способность вызывать агрегацию донорских отмытых тромбоцитов в присутствии ристомицина)

Таблица 2. Характеристика специальных методов исследования, выполняемых с помощью коагулометров.

Общая характеристика состояния гемостаза	Удлинение		Тромбиновое время
	АЧТВ	АЧТВ и ПВ	
Период новорожденности неосложненный	+	+	-
ДВС (острые формы)	+	+	+
Дилуционная коагулопатия	+	+	+
Применение нефракционированного гепарина	+	-	+
Кровопотеря, геморрагии	+	+	-
Дефицит F II, V, X	+	+	-
Дефицит F VIII, IX, XI	+	-	-
Гипофибриногенемия	+	+/-	+

Таблица 3. Значение нарушений отдельных тестов гемостаза.

возможного наследования дефицита, имеющегося у родителей, имеет значимость только в динамике наблюдения за системой гемостаза в первый год жизни. Высокая активность F VIII:C и F VIII:RCO у новорожденных позволяет обнаружить дефицит факторов (наследование гемофилии А у мальчиков болезни Виллебранда, коагулопатии потребления и ингибиторов факторов свертывания (F VIII:C).

Низкая активность ингибиторов свертывания AT III:PC на фоне низкой активности факторов свертывания крови находятся в своеобразном физиологическом балансе. Нестабильность соотношения активности факторов свертывания и их ингибиторов может приводить к декомпенсации гемостатической функции крови посредством развития внутрисосудистого свертывания. Развитие коагулопатических тенденций у детей группы риска может быть спровоцирована хронической и острой гипоксией, внутриутробной бактериальной и вирусной инфекцией, септическим ДВС-синдромом. Контроль эффективности коррекционно-заместительной терапии в неонатальном периоде наиболее целесообразно проводить в динамике. При этом возможно изучить истинные тенденции изменений параметров свертывания крови, основываясь на исходных измененных показателях свертывания крови.

Геморрагии у новорожденных могут быть связаны с нарушениями резистентности сосудистой стенки, особенно у глубоко недоношенных и маловесных. Изменение хронометрических параметров у детей с геморрагическими синдромами наиболее выражены при ДВС-синдроме. Наряду с уменьшением содержания фибриногена, активности факторов свертывания крови (параметры АЧТВ и ПВ) при ДВС отмечается увеличение Д-димеров, мономеров фибрина и их растворимых комплексов с продуктами деградации фибрина и фибриногена. Еще одним из дифференциальных признаков ДВС может быть количество тромбоцитов и их морфологических показателей [5].

Подсчет тромбоцитов. Оценка показателей количества и морфологических характеристик тромбоцитов у новорожденных детей могут объективно свидетельствовать о развитии тромбоцитопении потребления при ДВС-синдроме и появлении незрелых тромбоцитопа-

тических форм тромбоцитов при длительном течении тромбгеморрагических проявлений.

Оценка функциональных свойств тромбоцитов и их коагулянтной активности. Наряду с определением количества тромбоцитов (с помощью автоматических счетчиков или микроскопии) при исследовании тромбоцитарного звена системы гемостаза используется исследование агрегационной активности тромбоцитов (с помощью приборов агрегометров). Методы изучения агрегационной активности тромбоцитов с помощью агрегометров имеют технические ограничения по количеству тромбоцитов (от 200 до 300×10⁹/л) и достаточно большому объему плазмы, богатой тромбоцитами (от 200 до 500 мкл), для выполнения одной пробы с определенным стимулятором. В качестве индукторов (стимуляторов) агрегации используются специфические стимуляторы АДФ, адреналин, коллаген, ристомицин и арахидоновая кислота в соответствующих конечных концентрациях. Агрегатограмма позволяет селективно оценить максимальную интенсивность агрегации тромбоцитов и скорость этого процесса. Наиболее ценными показателями функциональной активности тромбоцитов могут быть параметры первичной (обратимой) и вторичной (необратимой) агрегации.

Выраженно низкие показатели интенсивности агрегации тромбоцитов могут иметь место при развитии тромбоцитопатии потребления. Именно тромбоцитопатия потребления является начальным этапом нарушения гемостатической активности тромбоцитов. Далее тромбоцитопатия потребления может декомпенсироваться с развитием тромбоцитопении потребления, со снижением количества тромбоцитов различной степени выраженности (от 100 до 150×10⁹/л) [6]. Технические трудности получения необходимых объемов исследуемых образцов плазмы, богатой тромбоцитами, явились объективными препятствиями для широкого распространения методов исследования агрегации тромбоцитов у новорожденных.

Современные агрегометры (Multipate, Chrono-Log, США), принцип работы которых основан на исследовании изменений импеданса образца цельной крови в процессе агрегации тромбоцитов, позволяют исследо-

вать кровь новорожденных детей без специальной обработки, то есть цельную кровь, взятую стандартным способом и стабилизированную цитратом натрия.

Тенденции использования в качестве исследуемого материала цельной крови, не требующей какого-либо предварительного центрифугирования, существенно ускоряют процесс получения необходимой информации и расширяют возможности использования минимальных объемов образцов цельной крови, что весьма ценно для диагностики нарушений гемостаза в неонатальном периоде. Использование цельной крови (без стабилизации или взятой с консервантом – цитратом натрия) предусмотрено при тромбоэластографическом/тромбоэластометрическом исследовании, что также определяет доступность для применения в неонатологии.

Интересную информацию о тромбоцитарной активности можно получить при исследовании общей свертываемости крови с помощью приборов тромбоэластографов (ТЭГ) и тромбоэластометров (ROTEM, Германия).

Наряду с хронометрическими параметрами тромбоэластограммы (v+k) и показателями структуры фибринового сгустка (ma) активность тромбоцитов может характеризовать угол наклона ветвей тромбоэластограммы, угол α и отчасти максимальной амплитудой ma .

Чем выше угол α , тем активность тромбоцитов, принимающих участие в формировании фибринового сгустка. Малый угол α , как правило, характеризует неактивные, тромбоцитопатические тромбоциты или бывает при тромбоцитопении.

Наряду с образцами цельной крови для исследования на ТЭГ пригодны образцы плазмы, богатой тромбоцитами (PRP), и бестромбоцитной плазмы (PPP). Сравнительное исследование PRP- и PPP-образцов позволяет оценить вклад тромбоцитов в формирова-

ние фибринового сгустка, поскольку указанные образцы отличаются только присутствием тромбоцитов в PRP. Различия максимальной амплитуды тромбоэластограммы могут быть обусловлены участием тромбоцитов в формировании фибринового сгустка. В зависимости от исходной активности тромбоцитов или их тромбоцитопатических тенденций параметры коагулянтной активности тромбоцитов (K) могут быть увеличенными или сниженными (норма – 1,0).

$$K = \frac{ma - ma_1}{ma_1},$$

$$K = \frac{ma (PRP) - ma_1 (PPP)}{ma_1 (PPP)},$$

где ma – максимальная амплитуда PRP,
 ma_1 – максимальная амплитуда PPP.

Метод сравнительного исследования PRP и PPP на тромбоэластографе пригоден при относительной тромбоцитопении, существенно ограничивающей возможности исследования на приборах агрегометра. Для исследования на ТЭГ пригодны также гемолизированные и хилезные образцы плазм.

Тромбоэластографические исследования образцов крови у новорожденных детей трудно переоценить, так как они позволяют, наряду с общеоценочными параметрами ТЭГ, определить присутствие гепарина в пробе, активность фибринолиза, дифференцировать коагулопатию потребления и гипергепаринемию, активность тромбоцитов и их участие в формировании фибринового сгустка. Также современные приборы ТЭГ позволяют исследовать образцы крови в условиях активации факторов контакта для ускорения получения необходимой информации.

Основными параметрами ТЭГ, значимыми для клинической аппликации, являются показатели, харак-

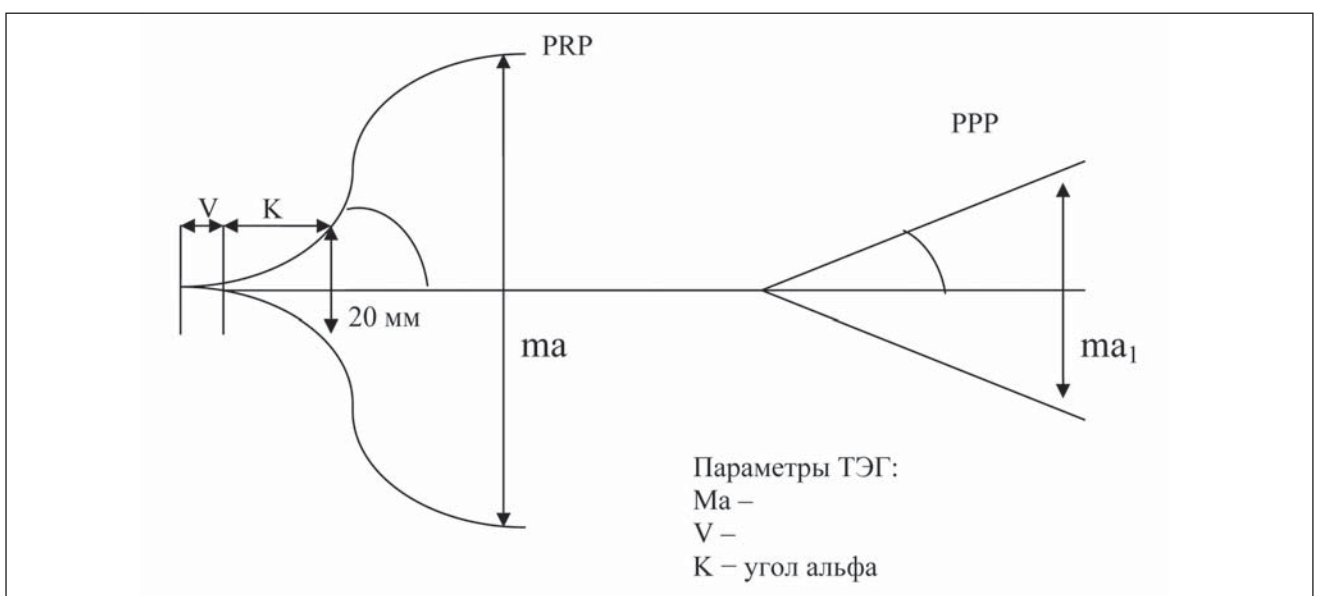


Рисунок 1. Параметры тромбоэластограммы.

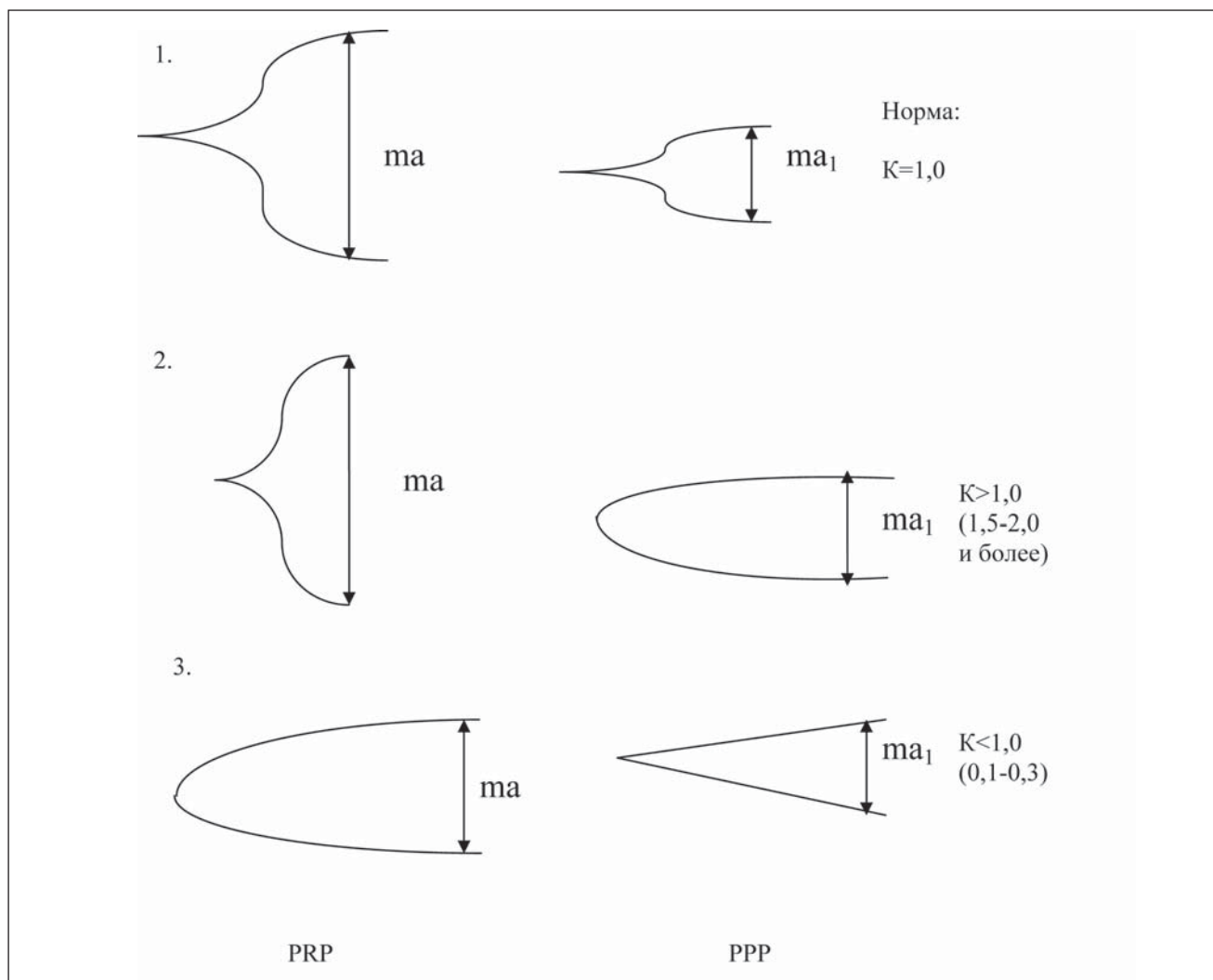


Рисунок 2. Метод сравнительного исследования плазм на тромбозагострафе: 1 – PRP-ТЭГ плазмы, богатой тромбоцитами; PPP-ТЭГ бестромбоцитной плазмы; ТЭГ здорового донора – норма; 2 – ТЭГ PRP и PPP при активации системы гемостаза; 3 – ТЭГ PRP и PPP при тромбоцитопении и тромбоцитопатии.

Примечание. Здесь и далее в рисунках: ТЭГ – тромбозагостраграмма.

теризующие скорость свертывания (хронометрические показатели) и формирование фибринового сгустка (структурные показатели). Вариабельность хронометрических параметров может определить основные состояния, встречающиеся у здоровых новорожденных и новорожденных группы риска. Так, увеличение хронометрических показателей может в той или иной степени прогнозировать гипокоагуляцию, как причину возможных геморрагий. И наоборот, укорочение хронометрических параметров ТЭГ может свидетельствовать о повышении потенциала свертывания крови и риске реализации этого потенциала в виде тромбоза или ДВС. Аналогично возможно оценить структурные параметры: выраженное снижение амплитуды ТЭГ наиболее вероятно свидетельствует о тенденции к геморрагиям (гипокоагуляция или гиперфибринолиз). Увеличение структурных параметров ТЭГ обычно сочетается с нарушениями микроциркуляции и реологических свойств крови. При воздействии повреждающего фактора

высокий коагуляционный потенциал крови с большей вероятностью реализуется в виде микротромбоза.

В неонатологии наиболее значимыми нарушениями свертывания крови, зарегистрированными с помощью ТЭГ, могут быть состояния выраженной гипокоагуляции и гиперфибринолиза. У новорожденных группы риска спектр исследовательских задач может быть очень обширным. Причинами гипокоагуляции в неонатальном периоде могут быть: коагулопатия потребления (при острой форме ДВС); коагулопатия при кровопотери; дилуционная коагулопатия и гипокоагуляция, связанная с применением нефракционированного гепарина. Дифференцировать эти причины возможно при использовании расчетных показателей ТЭГ или специальных проб переноса по Raby с использованием донорской плазмы, а также применении проб с гепаринойзой. Последнее исследование наиболее приемлемо для неотложной диагностики при критических состояниях у новорожденных.

Традиционные пробы переноса по Raby позволяют дифференцировать причины гипокоагуляции у новорожденных. Принцип метода состоит в модификации параметров свертывания плазмы донора при смешивании с плазмой пациента (имеющего выраженную гипокоагуляцию на ТЭГ). В присутствии гепарина хронометрические параметры донорской ТЭГ увеличиваются, а при коагулопатии потребления (в условиях активации свертывания крови) параметры ТЭГ донора укорачиваются (см. рис. 3).

Развитие чрезмерной фибринолитической реакции крови на ТЭГ регистрируется на величине максимальной амплитуды ТЭГ, которая уменьшается за определенный период времени. Современные приборы позволяют в автоматическом режиме регистрировать параметры фибринолитической реакции, стандартный период времени.

Малый объем крови, необходимый для тромбоэластографического исследования, позволяет использовать этот метод в динамике наблюдения неоднократно. Методы тромбоэластографического исследования в

неонатологии могут использоваться как в режиме самостоятельного диагностического метода, так и совместно с оценкой параметров коагулограммы или другими инструментальными методами исследования свертывания крови.

Метод регистрации тромбодинамики с помощью прибора Т-2 (Гемакор, Россия)

Одним из перспективных методов специального исследования системы гемостаза, позволяющим глобально оценить процесс свертывания крови, фибринолиза и влияние препаратов, используемых для коррекции свертывания крови, является регистрация тромбодинамики. Прибор-регистратор тромбодинамики Т-2 (Гемакор, Россия) позволяет провести скрининговые исследования нарушений системы свертывания крови с целью выявления риска кровотечений и тромбообразования. Принцип метода основан на видеовизуальной регистрации процессов начала формирования фибрина, развития фибринового

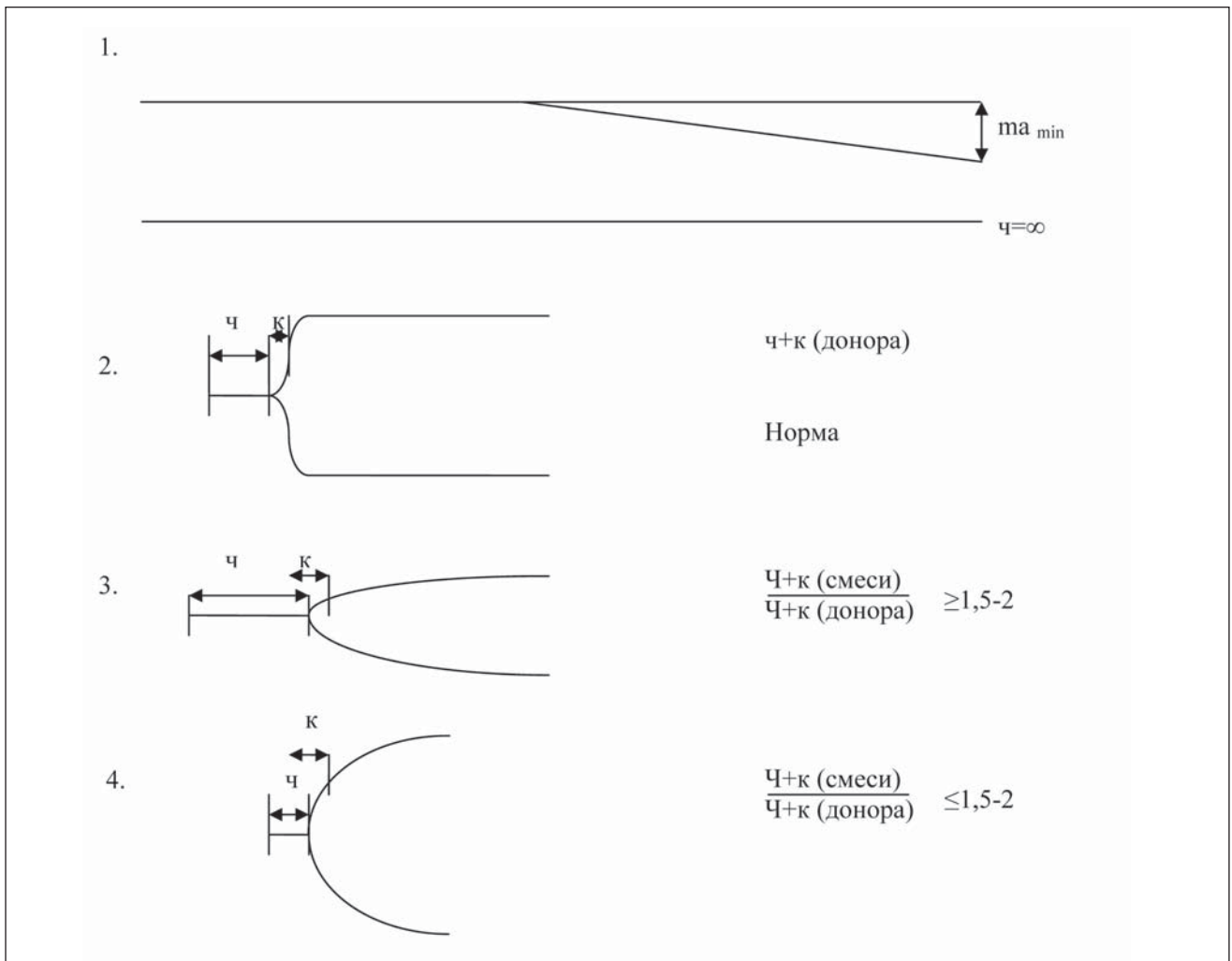


Рисунок 3. Пробы переноса по Raby (при выраженной гипокоагуляции или полной несвертываемости крови): 1 – ТЭГ пациента; 2 – ТЭГ донора; 3 – ТЭГ при гипергепаринемии; 4 – ТЭГ при ДВС-синдроме.

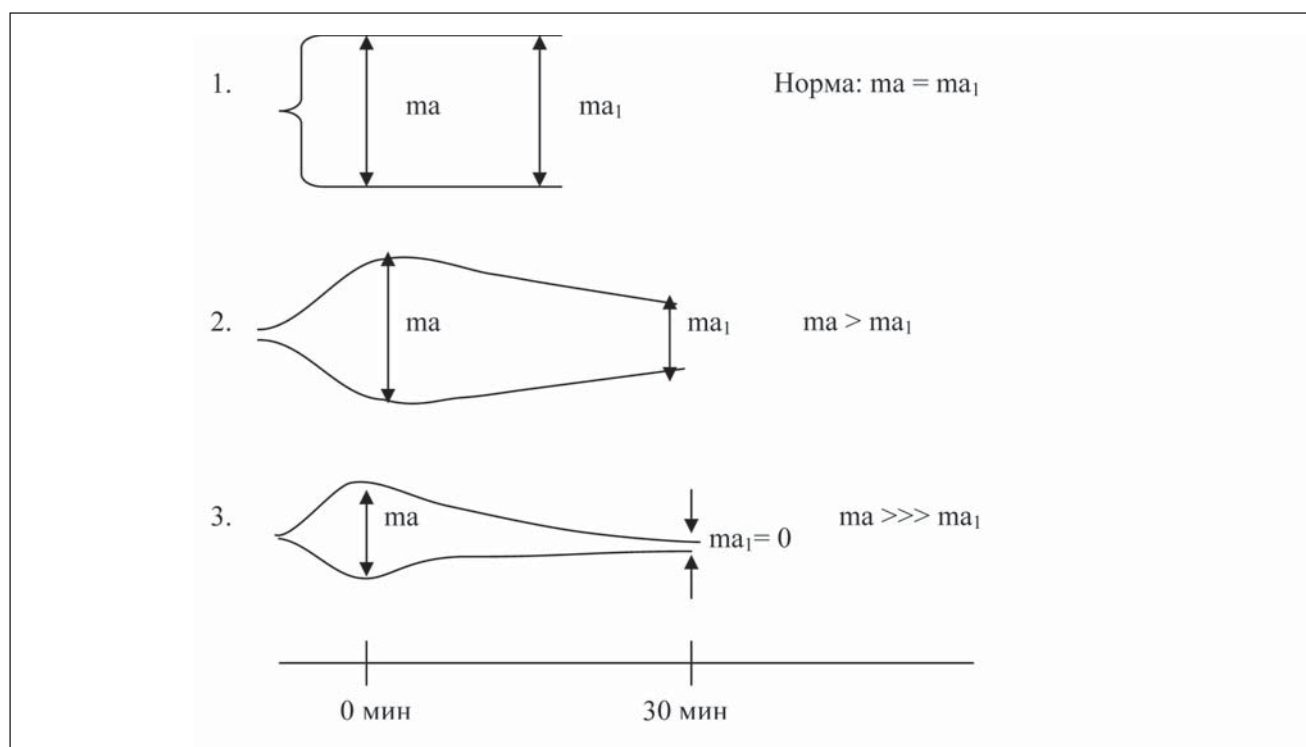


Рисунок 4. Варианты тромбозаграммы при отсутствии фибринолиза (1), при выраженной фибринолитической реакции (2), при чрезмерной фибринолитической реакции – гиперфибринолиз (3): ma – максимальная амплитуда ТЭГ до начала фибринолитической реакции; ma_1 – максимальная амплитуда ТЭГ через определенное время (30 мин.).

сгустка, спонтанных сгустков и, если произошел распад сгустка, процесса фибринолиза. Основные параметры тромбодинамики, связанные со скоростью формирования сгустка фибрина в кювете прибора, его роста плотности, отображаются в автоматическом режиме. При этом доступна визуальная оценка формирующихся сгустков через 5, 15 и 30 мин., графическое изображение процесса и распечатка основных параметров процесса тромбодинамики.

Привлекает внимание чрезвычайно малый объем исследуемого образца бестромбоцитной плазмы (120 мкл), что весьма важно для применения прибора в неонатологии, в т.ч. при исследованиях, проводимых в динамике наблюдения и проведении методов коррекционного-заместительного лечения у детей в критическом состоянии. Дальнейшая разработка и адаптация методов диагностики за системой гемостаза у детей высокого риска развития тромбогеморрагических осложнений будет весьма интересна для врачей реаниматологов-неонатологов.

Дискуссионные вопросы о состоянии системы гемостаза у новорожденных детей

В процессе исследования системы гемостаза у доношенных новорожденных возникают проблемы интерпретации некоторых показателей, полученных с помощью разных методов. Например, параметры общей свертываемости крови, полученные при тромбозаграфии образцов цельной крови, могут демонстри-

ровать достаточный потенциал свертывания. При этом показатели общей активности факторов свертывания внутреннего (АЧТВ) и внешнего (ПВ/ПИ/МНО) могут демонстрировать снижение активности факторов свертывания крови. Селективное исследование активности отдельных факторов свертывания крови подтверждают последнее (за исключением F I и F VIII:C).

Определение активности основных ингибиторов свертывания крови – антитромбина III (АТ III) и протеина С (РС) в этих же пробах показывает значительную разницу и снижение их по сравнению с аналогичными нормативными показателями, характерными для взрослых людей. Исследование тромбоцитарной активности у новорожденных также демонстрирует определенные возрастные особенности. Так, при воздействии сильными агонистами (АДФ, ристомидин/ристоцетин) тромбоциты новорожденных демонстрируют высокую интенсивность и скорость агрегации. Основные параметры агрегатограммы (ТМА, угол α , $tg \alpha$) (см. рис. 5) практически не отличаются от аналогичных показателей агрегатограммы взрослых людей.

Таким образом, параметры общей свертываемости (при тромбозаграфическом исследовании) и основные параметры агрегатограммы у новорожденных детей имеют положительную корреляционную связь достаточной степени выраженности. Следует оговорить значимость параметров агрегатограммы, полученных в ответ на воздействие сильных индукторов. Показатели интенсивности агрегации, полученные при индукции агрегации тромбоцитов с помощью АДФ

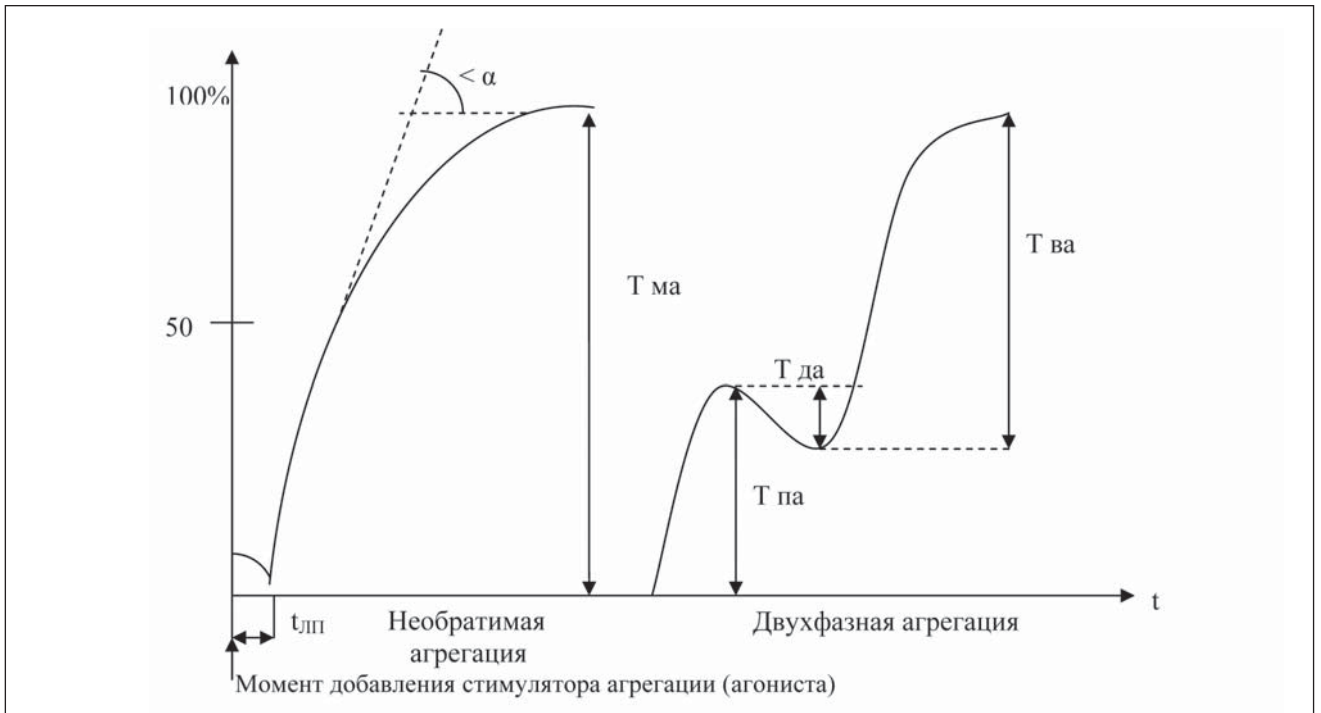


Рисунок 5. Основные параметры агрегатограммы: ТМА – максимальная интенсивность агрегации; ТВА – интенсивность второй волны агрегации; ТДА – интенсивность дезагрегации (по отношению к величине первичной агрегации ТПА); ТПА – интенсивность первичной агрегации; t ЛП – время латентного периода агрегации (от момента добавления коллагена или арахидоновой кислоты до начала интенсивной агрегации тромбоцитов).

(высоких доз) и ристомицина, характеризуют гемостатический эффект реакции тромбоцитов на стимуляцию.

Более слабые стимулы, способные возбудить реакцию высвобождения эндогенных агонистов из тромбоцитов (адреналин, АДФ средние и малые дозы), характеризуют функциональную активность тромбоцитов. У новорожденных детей реакция тромбоцитов на эти индукторы отличается выраженным замедлением развития второй волны активации, то есть отсроченным наступлением реакции высвобождения эндогенных стимуляторов агрегации тромбоцитов [7].

Возможно, такая замедленная реакция тромбоцитов на воздействия индукторов агрегации является одним из механизмов адаптации (кратковременной адаптации) в период родоразрешения и перехода к внутриутробному функционированию системы гемостаза. Несмотря на некоторую возрастную инертность тромбоцитов, гемостатическая активность и максимальная интенсивность агрегации у новорожденных детей соответствует параметрам взрослых людей (см. рис. 6).

Еще более интересные особенности возрастной функциональной активности тромбоцитов наблюдаются при воздействии на тромбоциты арахидоновой кислоты и коллагена. В боль-

шинстве случаев инертность тромбоцитов оказывается максимально выраженной, вплоть до полного отсутствия реакции тромбоцитов на воздействие арахидоновой кислоты и коллагена. При совместном добавлении к тромбоцитам новорожденных арахидоновой кислоты и коллагена после достаточно короткого латентного периода наступает выраженная по скорости (угол α , $\text{tg } \alpha$) и интенсивности (Тма), агрегация тромбоцитов (см. рис. 7).

Возможно, такая «заблокированная» реакция тромбоцитов на селективное воздействие одиночных

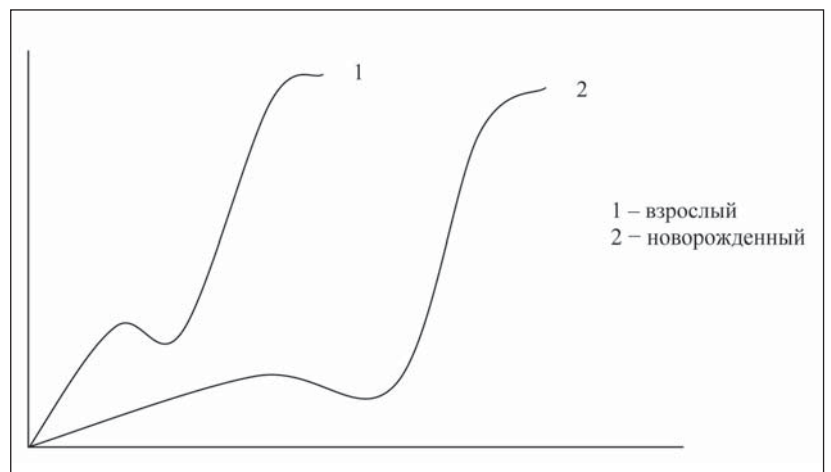


Рисунок 6. Реакция тромбоцитов на адреналин 1×10^4 м.

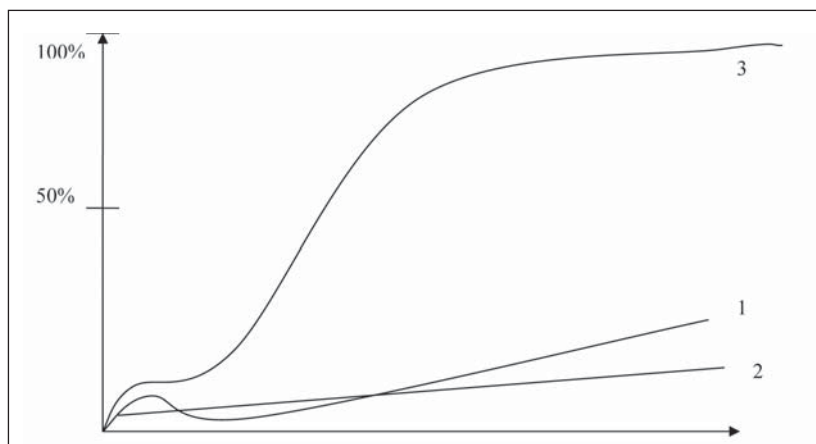


Рисунок 7. Агрегатограмма тромбоцитов новорожденных: 1 – отсутствие агрегации на коллаген; 2 – отсутствие агрегации при воздействии арахидоновой кислоты; 3 – агрегация тромбоцитов при воздействии смесью коллагена и арахидоновой кислоты.

стимулов также способствует реализации адаптационных реакций системы гемостаза у новорожденных.

Две тромбоэластограммы

Сравнительное исследование тромбоэластографических показателей плазмы, богатой тромбоцитами (PRP), и бестромбоцитной плазмы (PPP) позволяет оценить вклад тромбоцитов в формирование фибринового сгустка. Эти две плазмы PRP и PPP отличаются друг от друга только наличием тромбоцитов в PRP и абсолютно идентичным количеством фибриногена и их ингибиторов, факторов свертывания крови, которые не связаны с тромбоцитарной поверхностью.

При рассмотрении двух тромбоэластографических картинок у взрослых здоровых доноров отмечается разница максимальной амплитуды ТЭГ $ma > ma_1$ (см. рис. 8). Расчетные показатели коагулянтной активности тромбоцитов (К) вычисляются по формуле:

$$K = \frac{ma - ma_1}{ma_1},$$

где ma – максимальная амплитуда ТЭГ PRP;

ma_1 – максимальная амплитуда ТЭГ PPP.

У доношенных новорожденных в большинстве случаев имеет место незначительное снижение коагулянтной активности тромбоцитов ($K=0,7-0,9$); у недоношенных – $K=0,4-0,5$. Резкое уменьшение коагулянтной активности тромбоцитов ($K=0,1-0,3$) предшествует развитию более выраженных нарушений тромбоцитарной активности – тромбоцитопатии (по данным агрегатограммы) и развитию тромбоцитопении. Чередование усиления и снижения коагулянтной активности тромбоцитов отмечено у детей в динамике наблюдения при критических состояниях и развитии геморрагического синдрома. Вероятно, в основе этого состояния лежат процессы активации системы гемостаза по типу ДВС-синдрома. Развитие тромбинемии и активации внутрисосудистого свертывания соответст-

вует усилению активности тромбоцитов, которое очень быстро сменяется тромбоцитопатическими тенденциями. Проведение коррекционно-заместительной терапии в этот период позволяет восстановить коагуляционные свойства крови и антитромбиновый потенциал. Предупреждение условий, способствующих активации внутрисосудистого свертывания и коагулопатических тенденций, позволяет стабилизировать коагулянтную активность тромбоцитов.

Сравнительное исследование плазмы, содержащей тромбоциты и бестромбоцитную плазму, представляет интерес для обследования детей с тромбоцитопенией различной степени выраженности с целью оценки гемостатической активности крови. Подобный подход к диагностике роли тромбоцитопении и тромбоцитопатии при транзиторных аутоиммунных нарушениях гемостаза, рецидивах тромбофилии и ДВС-синдрома также имеет дифференциально-диагностическое значение.

В отдельных случаях метод сравнительного исследования плазмы, содержащей тромбоциты, и бестромбоцитной плазмы (особенно при тромбоцитопатии потребления), позволяет своевременно оценить выраженность тромбоцитопатических тенденций. Существующие тесты оценки степени тромбинемии (мономеры фибрина (FM) и растворимые комплексы мономеров фибрина (PKMF)), а также тесты оценки суммарной активности факторов свертывания крови внутреннего (АЧТВ) и внешнего (ПВ/ПИ, МНО) путей активации системы гемостаза в неонатальном периоде имеют возрастные особенности. Исходный фон увеличения мономеров фибрина маскирует начало и степени рецидивов активации свертывания крови. Низкая активность большинства факторов свертывания соответствует значительным колебаниям показателей АЧТВ, ПВ/ПИ и МНО, что также затрудняет интерпретацию результатов этих тестов у новорожденных в критическом состоянии. Низкая активность факторов свертывания и их ингибиторов при ДВС-синдроме у новорожденных во многом затрудняет оценку эффективности коррекционно-заместительного лечения с использованием препаратов на основе компонентов плазмы крови [7].

Наиболее стабильными показателями для диагностики коагулопатических тенденций и оценки эффективности коррекционно-заместительной терапии при ДВС-синдроме у новорожденных в критических состояниях и с развитием геморрагического синдрома в настоящее время можно считать концентрацию фибриногена, тромбоэластографию, в т.ч. PRP- и PPP-тесты.

Состояние реальной гипокоагуляции у новорожденных в критических состояниях зачастую сопровождается геморрагическим синдромом. Коагулопатические

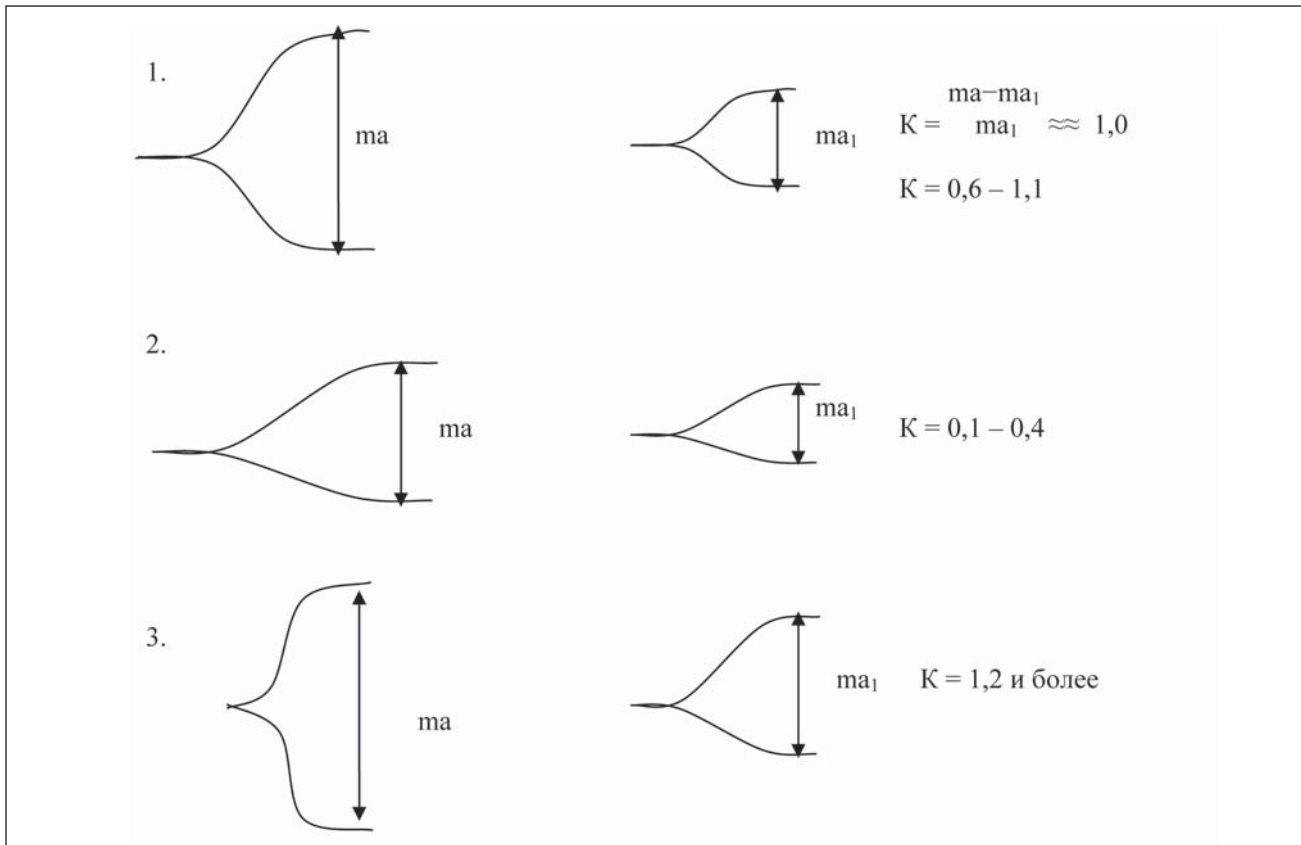


Рисунок 8. Варианты коагулянтной активности тромбоцитов у новорожденных при сравнительном исследовании PRP- и PPP- плазм: 1 – у доношенных новорожденных; 2 – тромбоцитопатия потребления. Снижение коагулянтной активности тромбоцитов; 3 – активация системы гемостаза. Усиление коагулянтной активности тромбоцитов.

нарушения, в основе которых лежат потребление компонентов свертывания крови и расходование их при выраженных геморрагиях, могут неоднократно рецидивировать, несмотря на проводимую гемостатическую и коррекционно-заместительную терапию. Рецидивам ДВС-синдрома способствуют нарушения функции эндотелия сосудов, длительное нарушение микроциркуляции жизненно важных органов, интоксикация и возможное присоединение инфекционного процесса. Причины повторного развития внутрисосудистого свертывания крови, тромбообразования и коагулопатических проявлений действуют на своеобразном фоне возрастных особенностей системы гемостаза. Изначально низкая активность большинства факторов свертывания, низкая инертность тромбоцитов в отношении обеспечения гемостатических функций в условиях развития внутрисосудистого свертывания значительно ухудшаются. Аналогично ухудшается активность ингибиторов свертывания крови (АТ III, РС), что способствует снижению защитных свойств системы гемостаза и дальнейшему ухудшению микроциркуляции за счет генерализованной микротромботической реакции и нарушения функции жизненно важных органов (легких, почек, ЦНС, печени и т.д.).

Наиболее значимым показателем в условиях развития геморрагий является концентрация фибриногена. Выраженное снижение фибриногена коррелирует с тяжестью осложнений и глубиной нарушения гемостатической функции крови. Рецидивы развития коагулопатии потребления, даже после восполнения компонентов свертывания крови и фибриногена, приводят к значительным колебаниям его концентрации и тенденции к снижению. Промежуточные состояния, в т.ч. в процессе восполнения дефицита компонентов свертывания крови, в значительной мере маскируют процессы активации свертывания крови и прогрессирование коагулопатии [5].

Диагностические процедуры во время рецидивов коагулопатии потребления и расходования компонентов свертывания крови затруднены из-за значительных колебаний основных показателей общей свертываемости на ТЭГ и суммарной активности факторов свертывания и количества тромбоцитов. Поэтому возможно применение ряда соответствующих проб на тромбоэластографе: проб переноса по Raby (при выраженной гипокоагуляции), пробы с гепариной, двойной тромбоэластограммы (PRP и PPP) (при значительных колебаниях количества тромбоцитов).

Универсальность пробы переноса по Raby состоит в том, что в условиях выраженной гипокоагуляции возможно отличить дефицит компонентов свертывания крови при коагулопатии потребления и присутствие гепарина в крови. Аналогичным образом при выраженной гипокоагуляции пробы с гепариной позволяют обнаружить относительную или реальную гипергепаринемия, как причину нарушения свертывания крови. Несвоевременное применение гепарина в условиях коагулопатии потребления без соответствующего восполнения дефицита компонентов свертывания крови (относительная гипергепаринемия) при

проведении теста с гепариной дает представление о сохранности или отсутствии реальной коагуляции при тромбоэластографическом исследовании.

Заключение

Знание алгоритма применения отдельных тестов гемостаза и объективных ограничений для каждого метода исследования может способствовать получению объективной информации о состоянии системы гемостаза у новорожденных, перенесших острую и хроническую внутриутробную гипоксию, внутриутробную инфекцию, осложнения в неонатальном периоде.

Литература:

1. Макацария А.Д., Червенак Ф.А., Бицадзе В.О. Беременность высокого риска. М. 2015; 203, 476, 581-593, 890, 895, 903.
2. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Акиншина С.В. Тромбозы и тромбоэмболии в акушерско-гинекологической клинике. М. 2007; 738, 755, 918.
3. Cohen H., O'Brien P. Disorders of Thrombosis

- and Hemostasis in pregnancy. A guide to management. 2012; 115, 219.
4. ISTH Advanced Training course in Thrombosis and hemostasis. September 14-17, 2015. Dubai, UAE. S7, S18.
 5. Francis C., Sandset P.M. Thrombosis research. Official journal of the European Thrombosis Research Organization. January 2013; 131 (1): 28.
 6. Francis C., Sandset P.M. Thrombosis research.

- Official journal of the European Thrombosis Research Organization. February 2015; 135 (1): 34, 41.
7. Studd J., Lin Tan S., Chervenak F.A. Current progress in obstetrics and gynaecology. 2014; 2: 110, 199.
 8. Weber C., Gregory Y. International journal for vascular biology and medicine. Thrombosis and haemostasis. November 2015; 114 (5): 883.

References:

1. Makatsariya A.D., Chervenak F.A., Bitsadze V.O. High Risk Pregnancy [*Beremennost' vysokogo riska (In Russian)*]. Moscow. 2015; 203, 476, 581-593, 890, 895, 903.
2. Makatsariya A.D., Bitsadze V.O., Akin'shina S.V. Thrombosis and thromboembolism in obstetric clinic [*Trombozy i tromboembolii v akushersko-ginekologicheskoi klinike (In Russian)*]. Moscow. 2007; 738, 755, 918.
3. Cohen H., O'Brien P. Disorders of Thrombosis

- and Hemostasis in pregnancy. A guide to management. 2012; 115, 219.
4. ISTH Advanced Training course in Thrombosis and hemostasis. September 14-17, 2015. Dubai, UAE. S7, S18.
 5. Francis C., Sandset P.M. Thrombosis research. Official journal of the European Thrombosis Research Organization. January 2013; 131 (1): 28.
 6. Francis C., Sandset P.M. Thrombosis research.

- Official journal of the European Thrombosis Research Organization. February 2015; 135 (1): 34, 41.
7. Studd J., Lin Tan S., Chervenak F.A. Current progress in obstetrics and gynaecology. 2014; 2: 110, 199.
 8. Weber C., Gregory Y. International journal for vascular biology and medicine. Thrombosis and haemostasis. November 2015; 114 (5): 883.

Сведения об авторах:

Мищенко Александр Леонидович – д.м.н., старший научный сотрудник НОКЦ центра клинической гемостазиологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова. Адрес: ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, Россия, 119048. Тел. 8(915)0840832. E-mail: gemostasis@mail.ru.

Хамани Надин Моктаровна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Адрес: ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Москва, Россия, 119048. Тел.: +7(495)7885840.

Стулёва Надежда Сергеевна – к.м.н., зам. директора НОКЦ «Клиническая гемостазиология» Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Адрес: ул. Земляной Вал, 62, стр. 1, Москва, Россия, 109004. Тел.: +7 (495)6091400. E-mail: stulevans@mail.ru.

About the authors:

Mishchenko Aleksandr Leonidovich – MD, Senior Researcher, Center of Clinical Hemostasis, First Moscow State Medical Sechenov University. Address: ul. Trubetskaya, 8, str. 2, Moscow, Russia, 119048. Tel.: 8(915)0840832. E-mail: gemostasis@mail.ru

Khamani Nadine Mokhtarovna – post graduate student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical and preventive, First Moscow State Medical Sechenov University. Address: ul. Trubetskaya, 8, str. 2, Moscow, Russia, 119048. Tel.: +7(495)7885840.

Stuleva Nadezhda Sergeevna – PhD, vice – principal of the Department “Clinical hemostasis” of First Moscow State Medical Sechenov University. Address: ul. Zemlyanoi Val, 62-1, Moscow, Russia, 109004. Tel.: +7(495)6091400. E-mail: stulevans@mail.ru.