

Лабораторные аспекты гемостаза новорожденных

Е.М. Кольцова^{1, 2}, Е.Н. Балашова³, М.А. Пантелеев^{1, 2, 4, 5}, А.Н. Баландина^{1, 2}

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

² ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН», Москва

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

⁴ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

⁵ ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», Москва

Контактная информация:

Кольцова Екатерина Михайловна, канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории трансляционной медицины НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, ученый секретарь Центра теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН.
Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
E-mail: ekaterina_koltsova@bk.ru

Новорожденные составляют группу высокого риска тромботических и геморрагических осложнений. Несмотря на то что в целом частота тромбозов и кровотечений различного характера в общей популяции новорожденных невелика, риски как тромбозов, так и кровотечений существенно повышаются при наличии у новорожденного осложнений, в том числе недоношенности. Механизмы, лежащие в основе возникновения тромботических и геморрагических осложнений у новорожденных, до конца не поняты и остаются спорными. Система гемостаза у новорожденных существенно отличается от гемостаза у взрослых и даже от гемостаза у детей старше 1 года. Тем не менее, несмотря на наличие количественных и качественных отличий практически всех параметров системы гемостаза от параметров у взрослых, здоровые новорожденные в целом имеют клинически нормальный функциональный гемостаз без тенденции к коагулопатии или тромбозу. По-видимому, система гемостаза у новорожденных находится в некотором альтернативном «балансе», который отличается от «баланса» гемостаза у взрослых. Вопрос об устойчивости этого баланса по-прежнему остается открытым. Из-за особенностей гемостаза у новорожденного лабораторная диагностика нарушений этой системы сильно затруднена, и лечащий врач вынужден ориентироваться исключительно на клиническую картину. В данном обзоре приведены основные сведения о системе гемостаза у новорожденных, а также произведена критическая оценка существующих лабораторных тестов с точки зрения их применимости и информативности для данной группы пациентов.

Ключевые слова: гемостаз, глобальные тесты гемостаза, коагулограмма, лабораторные тесты, новорожденные

Кольцова Е.М. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2018; 17 (4): 100–113.
DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-4-100-113

© 2018 by NMRC PHOI

Laboratory aspects of hemostasis in neonates

E.M. Koltsova^{1, 2}, E.N. Balashova³, M.A. Pantelev^{1, 2, 4, 5}, A.N. Balandina^{1, 2}

¹ Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

² Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow

³ Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Russian Ministry of Health, Moscow

⁴ Lomonosov Moscow State University, Moscow

⁵ Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow

Newborns have high risks of thrombotic and hemorrhagic complications. Despite the fact that the overall frequency of thrombosis and bleeding in the general population of neonates is low, the risks of both thrombosis and hemorrhage are significantly increased when a newborn has some complications, including prematurity. The mechanisms underlying the onset of thrombotic and hemorrhagic complications in newborns are not fully understood and remain controversial. The hemostasis in newborns drastically differs from adult hemostasis and even from hemostasis in children older than a year. Nevertheless, despite the presence of quantitative and qualitative differences of almost all parameters of the hemostasis system from the parameters of adults, healthy newborns as a whole have clinically normal functional hemostasis without a tendency to coagulopathy or thrombosis. Apparently, the neonatal hemostasis system is in some alternative "balance", which differs from the "balance" of hemostasis in adults. The issue regarding the stability of this balance is still open. Due to the peculiarities of the newborn's hemostasis, clinical laboratory diagnostics of the coagulation disorders is very difficult, and the attending physician is forced to focus exclusively on the clinical picture. This review provides basic information on the neonatal hemostasis system, as well as an attempt to critically evaluate existing laboratory tests in terms of applicability for this group of patients.

Key words: hemostasis, global hemostasis assays, laboratory tests, newborns

Koltsova E.M., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology, 2018; 17 (4): 100–113.
DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-4-100-113

Новорожденные составляют группу высокого риска тромботических и геморрагических осложнений [1, 2]. Несмотря на то что в целом частота тромбозов и кровотечений различного характера в общей популяции новорожденных невелика, риски и тромбозов, и кровотечений существенно

повышаются при наличии у новорожденного осложнений, в том числе недоношенности. Механизмы, лежащие в основе возникновения тромбогеморрагических осложнений у новорожденных, до конца не поняты и остаются спорными. То, что система гемостаза у новорожденных сильно отличается от гемо-

стаза у взрослых и даже от гемостаза у детей старше 1 года – факт давно известный, однако вопрос о балансе компонентов в системе свертывания у новорожденного и устойчивости этого баланса по-прежнему открыт. Из-за особенностей гемостаза новорожденного клиническая лабораторная диагностика нарушений этой системы сильно затруднена, и лечащий врач вынужден ориентироваться исключительно на клиническую картину, которая в большинстве случаев проясняется после того, как тромбгеморрагическое осложнение уже развилось и прогрессирует.

В течение последних двух десятилетий развитие методик ухода за новорожденным позволило отделениям реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН) выхаживать новорожденных от 22 нед. гестации. Многие методики, которые сделали это возможным, включают использование центрального венозного и артериального доступов. Около 15% всех детей, поступивших в ОРИТН, и 50% тех, кто имеет массу тела ≤ 1000 г, нуждаются в катетеризации [3]. Внедрение центрального венозного и артериального доступов обуславливает резкое возрастание рисков катетер-ассоциированных тромбозов, которые могут привести к клинически значимым тромбозам и тромбоэмболиям. Так, частота тромбозов в общей популяции новорожденных крайне низка и составляет всего 0,0007–0,0051%, однако среди пациентов ОРИТН достигает 2,4–7% [2]. Наиболее распространенные геморрагические осложнения неонатального периода – внутричерепные кровоизлияния, среди них наиболее часты внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК), которые обнаруживают у 20% недоношенных новорожденных [1]. ВЖК ассоциированы с повышенной летальностью и задержками в последующем развитии ребенка. Прочие типы кровотечений менее распространены, однако также нередко приводят к летальным исходам. Так, частота легочных кровотечений в популяции недоношенных новорожденных достигает 11–12% [4].

В данном обзоре приведены основные сведения о системе гемостаза новорожденных, а также произведена критическая оценка существующих лабораторных тестов гемостаза с точки зрения применимости и информативности у данной группы пациентов.

Особенности системы гемостаза в первый год жизни новорожденного: концепция «развивающегося гемостаза»

Баланс системы гемостаза в целом зависит от многих параметров, включая сосудистое, тромбоцитарное и плазменное звенья. Гемостатическая система изменяется в течение всего времени созревания плода [5]. Показано, что факторы свертывания крови материнского происхождения неспособны пересечь плацентарный барьер. Синтез некоторых бел-

ков свертывания (например, фибриногена) в печени плода начинается уже на 5-й нед. беременности [6]. В то же время в крови плода появляются первые тромбоциты [7]. Уже после 11 нед. кровь плода способна сворачиваться [8]. У плодов 19–23 нед. гестации уровень различных белков свертывания в среднем находится в пределах от 10 до 30% нормы взрослых и к 38-й нед. гестации постепенно увеличивается, достигая для некоторых белков 50% нормы взрослых [9]. После рождения ребенка система гемостаза продолжает развиваться, достигая «взрослых» значений для большинства параметров в течение 6 мес. после рождения [10].

Тромбоцитарное звено. Различия между новорожденными и взрослыми наблюдаются уже на этапе производства тромбоцитов. Несмотря на то что основные этапы тромбоцитопоэза (продукция тромбопоэтина, пролиферация предшественников мегакариоцитов, дифференциация и созревание мегакариоцитов путем эндомитоза и цитоплазматических изменений, продукция и выход тромбоцитов в кровоток) представлены в равной мере и у новорожденных, и у взрослых, существуют качественные различия на каждом этапе (таблица 1). Концентрация тромбопоэтина (основного стимулирующего агента тромбоцитопоэза) в крови повышена у здоровых новорожденных по сравнению со здоровыми взрослыми [11]. Эксперименты с культурами клеток показывают, что предшественники мегакариоцитов новорожденных способны к более быстрой пролиферации по сравнению со взрослыми, образуют более крупные колонии в исследованиях с использованием культур на твердых средах [12] и образуют в 10 раз больше мегакариоцитов в расчете на один предшественник в экспериментах с жидкими средами [13]. Однако мегакариоциты, генерируемые фетальными и неонатальными предшественниками, значительно меньше и обладают более низкой плоидностью, чем взрослые мегакариоциты, что показали как *in vitro*, так и *in vivo* исследования [14]. У мегакариоцитов новорожденных также значительно снижена скорость производства тромбоцитов в расчете на отдельный мегакариоцит, что, вероятнее всего, является следствием их малого размера [15]. Все эти характеристики указывают на общую незрелость мегакариоцитов новорожденных по сравнению со взрослыми. Стоит, однако, отметить, что культивирование неонатальных и взрослых мегакариоцитов с тромбопоэтином показало, что, несмотря на сниженный уровень плоидности, мегакариоциты новорожденных оказались более цитоплазматически зрелыми, то есть имели более высокий уровень экспрессии CD42b (маркер зрелых мегакариоцитов), а также были более зрелыми по ультраструктурным показателям [7]. Эти наблюдения не только развеяли представление о том, что мега-

кариоциты новорожденных «незрелые», но выявили также уникальную по своей природе картину фетального/неонатального мегакариопоэза, характеризующуюся быстрой пролиферацией с последующим полным цитоплазматическим созреванием без полиплоидизации. Конечный результат этого процесса – производство большого количества высокоцитоплазматически зрелых, низкоплоидных мегакариоцитов. С онтогенетической точки зрения, этот механизм может позволить плодам и новорожденным заселять быстро расширяющееся пространство костного мозга и объема крови в период быстрого роста ребенка при сохранении в среднем нормальных показателей концентрации тромбоцитов.

Концентрация тромбоцитов в периферической крови новорожденных обычно находится в пределах $100\text{--}450 \times 10^9/\text{л}$, что несколько шире нормального диапазона у взрослых. Традиционно уровень концентрации тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$ у новорожденных определяется как тромбоцитопения, однако показатели от 100 до $150 \times 10^9/\text{л}$ достаточно часто встречаются у относительно здоровых детей (в большинстве случаев у недоношенных новорож-

денных) и редко приводят к каким-либо клиническим осложнениям [16]. Встречаемость тромбоцитопении обратно пропорциональна гестационному возрасту новорожденного и варьирует в широких пределах – от 1 до 80% в зависимости от изучаемой популяции (доношенные здоровые новорожденные, все новорожденные, новорожденные с осложнениями) [16]. С момента рождения концентрация тромбоцитов постепенно увеличивается во всех группах недоношенных новорожденных, однако у глубоко недоношенных показатели остаются устойчиво более низкими по сравнению с более зрелыми новорожденными [12]. В популяции глубоко недоношенных маловесных новорожденных (масса тела при рождении < 1000 г) встречаемость тромбоцитопении достигает 70% [17]. Средний объем тромбоцитов, так же как их количество, находится в обратной зависимости от гестационного возраста новорожденного и прогрессивно возрастает с течением времени [18].

Подсчет количества тромбоцитов в периферической крови – пока единственный объективный лабораторный критерий принятия решения о профилактике кровотечения, несмотря на то что во многих исследованиях корреляции между концентрацией тромбоцитов у новорожденных и частотой кровотечений не обнаружено [19]. Наличие пациентов с кровотечениями при значениях концентрации тромбоцитов в пределах $50\text{--}100 \times 10^9/\text{л}$ при нормальной коагулограмме и, наоборот, с тромбоцитопенией менее $50 \times 10^9/\text{л}$ [20], протекающей без клинических проявлений, говорит о том, что, возможно, имеет значение не только количество тромбоцитов, но и их качество. Первые свидетельства различий в функциональной активности тромбоцитов новорожденных и взрослых были получены при исследовании агрегации тромбоцитов в богатой тромбоцитами плазме. Было показано, что тромбоциты новорожденных менее чувствительны к таким агонистам, как АДФ, эпинефрин, коллаген, тромбин и аналог тромбоспандина U46619 [21]. Тем не менее последующие исследования показали, что адгезия и агрегация тромбоцитов на поверхности, покрытые иммобилизованным коллагеном или фактором фон Виллебранда, в условиях потока в проточных камерах не отличаются у здоровых новорожденных и взрослых [21].

Тест функциональной активности тромбоцитов при помощи проточной цитометрии напрямую дает полную информацию о функциональном состоянии тромбоцитов и их способности к активации в присутствии агонистов. Тест основан на цитофлуориметрической детекции специфических антител и иных маркеров, меченых флуорофорами, связывающихся с поверхностными антигенами, и позволяет оценить состояние тромбоцитов в покое и при активации, выявить нарушения различных их функций – адгезии,

Таблица 1

Основные различия в тромбоцитопоэзе здоровых новорожденных и взрослых

Параметр	Новорожденные	Взрослые
Концентрация тромбоцитопозина в крови	78 пг/мл (межквартильный размах 55–107 пг/мл)	$< 32,5$ пг/мл
Предшественники мегакариоцитов	- Высокое содержание в периферической крови - Обладают высокой пролиферативной активностью (образуют в 10 раз больше мегакариоцитов в расчете на один предшественник по сравнению со взрослыми) - Более чувствительны к стимуляции низкими концентрациями тромбоцитопозина	- Низкое содержание в периферической крови - Пролиферативная активность ниже, чем у новорожденных - Менее чувствительны к стимуляции низкими концентрациями тромбоцитопозина
Размер и плоидность мегакариоцитов	Мелкие, низкая плоидность (2N/4N <i>in vitro</i>)	Крупные, высокая плоидность
Созревание мегакариоцитов	Достигают цитоплазматической зрелости при низком уровне плоидности	Цитоплазматическая зрелость коррелирует с плоидностью
Производство тромбоцитов	Низкая скорость производства тромбоцитов (образуют примерно в 3 раза меньше тромбоцитов в расчете на один мегакариоцит по сравнению со взрослыми в одинаковый промежуток времени)	Высокая скорость производства тромбоцитов

агрегации, секреции разных типов гранул, прокоагулянтной активности. Существуют противоречивые данные относительно вопроса о том, является ли поверхностное количество гликопротеина Ib (ГП Ib, рецептор фактора фон Виллебранда – vWF, который обеспечивает адгезию тромбоцитов на поврежденный субэндотелий) и общего (неактивированного) гликопротеина IIb–IIIa (ГП IIb–IIIa, рецептор фибриногена и vWF, обеспечивает формирование тромбоцитарного агрегата) у новорожденных более низким, равным или увеличенным по сравнению со взрослыми [22]. Однако стоит отметить, что основное значение имеет не общее количество ГП IIb–IIIa, а его способность переходить в состояние с высокой аффинностью (активированную форму), что является критическим этапом в образовании агрегата тромбоцитов и позволяет образовывать фибриногеновые «мостики» между соседними тромбоцитами. Экспрессия ГП IIb–IIIa в активированной форме снижена на тромбоцитах новорожденных по сравнению со взрослыми [23]. Прокоагулянтная активность тромбоцитов оценивается по доле активированных тромбоцитов, несущих на своей поверхности фосфатидилсерин, от общего определяемого количества активированных тромбоцитов. Фосфатидилсерин при активации тромбоцита выходит на внешний слой мембраны у части тромбоцитов, что ведет к связыванию белков свертывания крови и ускорению реакций с их участием. Прокоагулянтная активность тромбоцитов одинакова у новорожденных и взрослых [24]. Активация тромбоцитов сопровождается высвобождением плотных и альфа-гранул. В плотных гранулах накапливаются и хранятся АДФ (неметаболический пул), серотонин, адреналин, норадреналин и ионы кальция. Альфа-гранулы содержат тромбоцитарный фактор IV, а также другие белки, участвующие в свертывании, такие как тромбоспондин, фибронектин и vWF. Выделение гранулярного содержимого способствует аутокринной и паракринной стимуляции, усиливает адгезию тромбоцитов и активирует близлежащие тромбоциты. Неонатальные тромбоциты в покое могут содержать такое же количество плотных гранул, как и взрослые тромбоциты, но после стимуляции тромбином высвобождение плотных гранул снижено по сравнению со взрослыми [25]. Выход альфа-гранул, определяемый по маркеру Р-селектину, снижен у новорожденных по сравнению со взрослыми и остается ниже на протяжении первых 12 дней жизни. Показатель выхода альфа-гранул находится в обратной зависимости от гестационного возраста новорожденного [25].

Генерация и высвобождение тромбоспандина A2 (TxA2) позволяет стимулировать соседние тромбоциты, усиливая их адгезию, активацию и в конечном счете агрегацию. Тромбоспандин B2 (TxB2) – это мета-

болит TxA2, который часто используется в качестве маркера генерации TxA2. При стимуляции тромбином и коллагеном генерация TxB2 не отличается у новорожденных и взрослых, повышена у новорожденных при стимуляции арахидоновой кислотой и снижена при стимуляции эпинефрином [26].

Ультраструктурно неактивированные тромбоциты новорожденных и взрослых не отличаются. Было показано, что тромбоциты новорожденных и взрослых могут отличаться при активации по количеству псевдоподий, микротрубочковой и микрогранулярной структуре, однако данные отличия могут проявляться из-за различий в технике забора крови, а не собственно из-за отличия новорожденных от взрослых [27].

Обобщенные сведения о параметрах тромбоцитарного звена гемостаза новорожденных приведены в *таблице 2*. Молекулярные механизмы, обуславливающие различия между тромбоцитами взрослых и новорожденных, на данный момент подробно не изучены. Общепринятое мнение состоит в том, что различия между лабораторными параметрами тромбоцитов новорожденных и взрослых возникают из-за общей незрелости тромбопоэза новорожденных, поэтому имеют многофакторную природу. Они могут быть связаны с различиями метаболизма фосфолипидов и тромбоспандина, различиями в регуляции активации ГП IIb/IIIa, нарушениями в мобилизации кальция, внутриклеточной сигнализации, гранулярной секреции и агрегации [28]. На данный момент не выяснено также, как долго сохраняется гипореактивность тромбоцитов новорожденных: одни авторы приводят данные о том, что гипореактивность проходит в течение первых недель жизни новорожденного [23], другие показывают постепенную нормализацию тромбоцитарных параметров в течение первых 15 лет жизни ребенка [29].

Плазменное звено. Системы свертывания у новорожденного и взрослого сильно отличаются. В крови новорожденного на момент рождения присутствуют все белки свертывания, однако их концентрации достигают «взрослой» нормы только по прошествии 6 мес., а изменения концентрации некоторых белков не прекращаются до подросткового возраста [30].

При рождении только концентрации коагуляционных факторов (ф)VIII, V и фибриногена находятся на уровне нормы взрослых или хотя бы приближены к ней (*таблица 3*). Концентрации витамина К-зависимых факторов свертывания (фII, фVII, фIX и фX), факторов контактного пути (фXI, фXII, прекалликреин), высокомолекулярного кининогена в первые дни жизни новорожденного находятся в среднем на уровне 30–50% от «взрослой» нормы. Концентрации этих факторов у здоровых новорожденных быстро растут

на протяжении первых недель жизни и существенно перекрываются со взрослым диапазоном через 6 мес. после рождения, хотя средние значения концентраций большинства факторов до подросткового возраста остаются приблизительно на 20% ниже средних концентраций у взрослых [10]. Исследования, посвященные выявлению свободно циркулирующего тканевого фактора (в виде микровезикул, несущих тканевый фактор на поверхности), показали, что концентрация в крови новорожденного при рождении превышает концентрации, обнаруживаемые в периферической крови взрослых, примерно в 1,5 раза [31]. К сожалению, исследований, посвященных выявлению динамики концентрации тканево-

го фактора в крови новорожденных, не существует, поэтому остается неясным, является ли этот тканевый фактор следствием травматичности самих родов и последующего перерезания пуповины или это некий механизм, возникающий у плода еще до момента родов и призванный защитить ребенка от травм во время прохождения родовых путей. Концентрация vWF повышена у новорожденных по сравнению со взрослыми и остается повышенной приблизительно в течение 3 мес. после рождения [32]. Возможно, повышенная концентрация vWF компенсирует сниженную функциональную активность тромбоцитов новорожденных.

Таблица 2

Характеристика тромбоцитарного звена гемостаза новорожденных

Пуповинная кровь	Периферическая кровь	Параметр	Сравнение со взрослыми	Достигает значений взрослых в течение
Количество тромбоцитов				
	x	Концентрация тромбоцитов	Расширенный диапазон референсных значений: у новорожденных – $100\text{--}550 \times 10^9/\text{л}$ у взрослых – $150\text{--}450 \times 10^9/\text{л}$	-
Качество тромбоцитов				
<i>Размерные характеристики</i>				
	x	Объем тромбоцита	Снижен примерно до 70–80% нормы для взрослых	От 1 мес. до 15 лет
<i>Экспрессия гликопротеиновых рецепторов</i>				
x	x	Гликопротеин Ib	Не отличается от взрослых при оценке неактивированных тромбоцитов либо снижен	-
x	x	Гликопротеин IIb/IIIa (общий)	Не отличается от показателя у взрослых при оценке неактивированных тромбоцитов либо снижен	-
	x	Гликопротеин IIb/IIIa (высокоаффинная форма)	Выход при стимуляции тромбоцитов снижен до 30–40% нормы для взрослых	От 1 мес. до 15 лет
<i>Прокоагулянтная активность</i>				
	x	Процент PS+ тромбоцитов	Не отличается от взрослых	-
<i>Секреторные функции</i>				
x		Плотные гранулы	Количество снижено в покоящихся тромбоцитах до 40–50% нормы для взрослых; секреция также снижена	От 1 мес. до 15 лет
	x	α -гранулы	Выход при стимуляции тромбоцитов снижен до 30–40% нормы для взрослых	От 1 мес. до 15 лет
x		Высвобождение тромбоксана A ₂	При стимуляции тромбином и коллагеном не отличается у новорожденных и взрослых; повышена у новорожденных при стимуляции арахидоновой кислотой и снижена при стимуляции эпинефрином	-
<i>Агрегация и адгезия на различные покрытия в условиях потока</i>				
	x	Агрегация и адгезия на коллаген в условиях потока	Не отличается от взрослых	-
	x	Агрегация и адгезия на vWF в условиях потока	Не отличается от взрослых	-

Примечание: PS+ тромбоциты – тромбоциты, несущие на своей мембране фосфатидилсерин; vWF – фактор фон Виллебранда.

Концентрации естественных антикоагулянтов также снижены у новорожденных (таблица 3). Концентрации антитромбина III (АТ III) и кофактора гепарина II (НС II) снижены примерно в два раза по сравнению с их значениями у взрослых. На протяжении первых трех месяцев жизни уровень этих ингибиторов постепенно возрастает и к концу третьего месяца нормализуется [32, 33]. Уровень ингибитора пути тканевого фактора также снижен примерно в два раза по сравнению со взрослыми и может оставаться сниженным до достижения подросткового возраста

[33]. Уровни протеинов С и S при рождении снижены более выражено, их концентрация составляет всего 30–40% от нормы взрослых и остается низкой до 6-месячного возраста [32]. Повышенная концентрация α 2-макроглобулина теоретически может быть фактором, частично компенсирующим достаточно серьезное снижение уровней всех остальных естественных антикоагулянтов. Уровень α 2-макроглобулина повышен по сравнению с нормой для взрослых в 1,7–2 раза – эти значения сохраняются по крайней мере в течение первых 6 мес. жизни [32–34].

Таблица 3

Характеристика плазменного звена гемостаза новорожденных

Пуповинная кровь	Периферическая кровь	Параметр	Сравнение со взрослыми	Достигает значений взрослых в течение
Факторы свертывания				
<i>Внешний путь активации свертывания</i>				
x		TF	Повышен до 140–150% нормы для взрослых	Нет данных
	x	VII	Снижен до 65–85% нормы для взрослых	До 16 лет
<i>Внутренний и общий путь активации свертывания</i>				
	x	vWF	Повышен до 140–150% нормы для взрослых	3 мес.
	x	VIII	Не отличается	–
	x	V	Снижен до 70–95% нормы для взрослых	До 16 лет
	x	IX	Снижен до 30–50% нормы для взрослых	До 16 лет
	x	X	Снижен до 40–50% нормы для взрослых	До 16 лет
	x	II	Снижен до 40–60% нормы для взрослых	До 16 лет
	x	Fg	Не отличается	–
<i>Контактный путь активации свертывания</i>				
	x	XII	Снижен до 35–50% нормы для взрослых	До 16 лет
	x	XI	Снижен до 30–60% нормы для взрослых	1 год
	x	PK	Снижен до 30–40% нормы для взрослых	6 мес.
	x	HMWK	Снижен до 50–60% нормы для взрослых	6 мес.
Ингибиторы свертывания				
	x	АТ III	Снижен до 35–65% нормы для взрослых	3 мес.
	x	α 2-MG	Повышен до 130–170% нормы для взрослых	До 16 лет
	x	НС II	Снижен до 30–50% нормы для взрослых	6 мес.
	x	Pr C	Снижен до 30–45% нормы для взрослых	До 16 лет
	x	Pr S	Снижен до 30–55% нормы для взрослых	1 мес.
x	x	TFPI	Снижен до 50–55% нормы для взрослых	До 16 лет

Примечание: TF – свободный тканевый фактор в плазме крови; vWF – фактор фон Виллебранда; Fg – фибриноген; PK – прекалликреин; HMWK – высокомолекулярный кининоген; АТ III – антитромбин III; α 2MG – α 2-макроглобулин; НС II – гепарин-кофактор II; Pr C – протеин C; Pr S – протеин S; TFPI – ингибитор пути тканевого фактора.

Фибринолиз. Концентрации белков системы фибринолиза, отвечающей за устранение сгустка, образовавшегося в результате работы системы гемостаза, в крови новорожденных также существенно отличаются от «взрослых» значений. Фибринолитическая система, как и система свертывания, представляет собой каскад ферментативных реакций, конвертирующий неактивный предшественник, плазминоген, в активированную форму – плазмин, который впоследствии разрезает полимеризованный фибрин. В целом у новорожденных имеется тенденция к общему снижению концентраций профибринолитиков (плазминогена, тканевого и урокиназного активатора плазминогена) и повышению концентраций ингибиторов фибринолиза (ингибитора активатора плазминогена-1, α 2-макроглобулина) (таблица 4). При этом концентрация еще одного ингибитора фибринолиза – α 2-антиплазмина – находится на уровне, примерно равном взрослой норме. Несмотря на то что баланс всего фибринолитического каскада смещен в сторону снижения фибринолиза, в крови новорожденных обнаруживаются повышенные концентрации продуктов деградации фибрина и высокие концентрации D-димеров [35].

Сосудистое звено. Лабораторная оценка функционирования сосудистого эндотелия ограничена несколькими маркерами, определяемыми с помощью иммуноферментного анализа. Потенциальными маркерами дисфункции эндотелия являются эндотелин-1 и тромбомодулин. Эндотелин-1 – вазоконстрикторный пептид; в неонатологии наличие циркулирующего эндотелина-1 наиболее широко ассоциируется с легочной гипертензией вследствие гипоксии и бронхолегочной дисплазии [36, 37]. Тромбомодулин является рецептором к тромбину и представляет собой гликопротеин, локализованный на поверхности эндотелиальных клеток. При связывании с тромбомодулином тромбин изменяет свою конфигурацию и начинает функционировать не как прокоагулянт, а как антикоагулянт. Повышение концентрации циркулирующего тромбомодулина указывает на повреждение сосудистого эндотелия [38].

Концентрации маркеров дисфункции сосудистого эндотелия у новорожденных повышены по сравнению со взрослыми и детьми более старшего возраста [38] (таблица 5). У здоровых новорожденных впоследствии наблюдается постепенное снижение концентрации эндотелина в течение первых трех ме-

Таблица 4

Характеристика фибринолитической системы новорожденных

Пуповинная кровь	Периферическая кровь	Параметр	Сравнение со взрослыми	Достигает значений взрослых в течение
Профибринолитические белки				
	x	Плазминоген	Снижен до 30–60% нормы для взрослых	6 мес.
	x	tPA	Повышен до 120–190% нормы для взрослых при рождении, однако быстро снижается до 50% нормы для взрослых в течение первых дней жизни	6 мес.
	x	uPA	Снижен до 50–75% нормы для взрослых	7 мес.
Ингибиторы фибринолиза				
	x	α 2-AP	Снижен до 80–90% нормы для взрослых	5 дней
	x	PAI-1	Повышен до 180% нормы для взрослых	5 дней

Примечание: tPA – тканевый активатор плазминогена; uPA – урокиназный активатор плазминогена; α 2-AP – α 2-антиплазмин; PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена-1.

Таблица 5

Маркеры дисфункции сосудистого эндотелия у новорожденных

Пуповинная кровь	Периферическая кровь	Параметр	Сравнение со взрослыми	Достигает значений взрослых в течение
x	x	Эндотелин-1	Повышен при рождении в среднем до 150% нормы для взрослых либо не отличается от взрослых; варьирует в очень широких пределах	Нет данных
	x	Тромбомодулин	Повышен при рождении до 1560% нормы для взрослых	Нет данных

сяцев жизни [39]. Гестационный возраст ребенка не влияет на концентрацию эндотелина [38]. Концентрация тромбомодулина существенно повышена у новорожденных по сравнению со взрослыми (до 15 раз в первые дни жизни) [38]. Чем ниже гестационный возраст ребенка, тем выше уровень тромбомодулина [40], даже в условиях отсутствия перинатальной асфиксии.

Полученные лабораторные данные указывают на общую подактивированность эндотелия у новорожденных в течение первых месяцев жизни, возникающую из-за механического стресса во время родов и последующей адаптации кровеносной системы, а также кратковременного состояния гипоксии, однако не ясно, имеет ли эта подактивированность какую-либо клиническую значимость.

Современные методы лабораторной оценки состояния гемостаза и их информативность у новорожденных

Стандартные тесты. Агрегометрия наряду с подсчетом тромбоцитов в периферической крови – наиболее распространенный тест, оценивающий со-

стояние тромбоцитарного звена гемостаза. Обычно активатор тромбоцитов (АДФ, коллаген, ристацитин и др.) добавляют в богатую тромбоцитами плазму, при этом степень агрегации определяют по степени увеличения светопропускания в процессе агрегации тромбоцитов [41]. Кроме того, существуют приборы, позволяющие определять агрегацию тромбоцитов в цельной крови по изменению электрического импеданса. Применение агрегометрии в неонатологии сильно ограничено в первую очередь чисто техническими проблемами, связанными с маленьким объемом циркулирующей крови и, как следствие, невозможностью забора нужного объема образца из периферической вены. Исследования, проведенные на пуповинной крови, показывают, что агрегация тромбоцитов с широким спектром агонистов (АДФ, коллаген, эпинефрин) снижена у новорожденных по сравнению со взрослыми [42] (таблица 6). По-видимому, это следствие сниженной функциональной активности тромбоцитов у новорожденных, показанной при помощи проточной цитометрии. Исследования агрегации тромбоцитов у новорожденных практически не проводятся, поэтому данные о клинической эффективности данного теста в этой группе отсутствуют.

Таблица 6

Показатели стандартных тестов гемостаза у новорожденных

Пуповинная кровь	Периферическая кровь	Параметр	Сравнение со взрослыми	Достигает значений взрослых в течение
Стандартные тесты				
<i>Тромбоцитарное звено</i>				
		<i>Агрегометрия:</i>		
x		с АДФ	Снижена до 60% нормы для взрослых	Нет данных
x		с коллагеном	Снижена до 80% нормы для взрослых	Нет данных
x		с тромбином	Снижена до 80% либо не отличается от нормы для взрослых	Нет данных
x		с арахидоновой кислотой	Не отличается от нормы для взрослых	Нет данных
x		с ристоцетином	Не отличается от нормы для взрослых или повышена	Нет данных
x		с эпинефрином	Снижена до 50–60% нормы для взрослых	Нет данных
<i>Плазменное звено</i>				
	x	АЧТВ	Удлинено до 120–130% нормы для взрослых	От 6 мес. до 16 лет
	x	ПВ	Удлинено до 120–130% нормы для взрослых	От 1 мес. до 16 лет
	x	ТВ	Не отличается от нормы для взрослых либо слегка удлинено	–
<i>Фибринолиз</i>				
	x	Концентрация D-димеров в плазме крови	Повышена до 800% нормы для взрослых	Снижаются до 120–140% нормы для взрослых в течение 1 мес.; могут оставаться повышенными до 16 лет

Примечание: АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ПВ – протромбиновое время; ТВ – тромбиновое время.

Оценку состояния плазменного звена гемостаза проводят путем измерения отдельно прокоагулянтных и антикоагулянтных компонентов при помощи тестов времен свертывания при добавлении различных активаторов. Основные тесты – протромбиновое, активированное частичное тромбопластиновое и тромбиновое времена (ПВ, АЧТВ, ТВ). Ни один из стандартных тестов в действительности не имитирует то, что происходит *in vivo*; эти тесты имеют свои ограничения, связанные с составом реагентов. В стандартных тестах используют крайне высокие концентрации активаторов свертывания, далекие от физиологических, что снижает чувствительность системы (тесты способны регистрировать только сильные сдвиги в системе). Точно так же ни антикоагулянтное действие антитромбина, ни протеина С не могут быть полностью имитированы *in vitro*, поскольку эти белки активируются *in vivo* тромбомодулином, расположенным на эндотелиальных клетках [43]. Реагенты и контрольные плазмы, используемые в наборах для измерения ПВ, АЧТВ и ТВ, не содержат достаточного количества таких активаторов. Таким образом, времена свертывания способны указывать на дефицит прокоагулянтных компонентов, но не способны показать, является ли дефицит прокоагулянтов в достаточной мере уравновешенным дефицитом антикоагулянтов. Времена свертывания, безусловно, эффективны при исследовании состояний, связанных с врожденными недостатками прокоагулянтов (гемофилии, наследственные дефициты), но намного менее информативны в исследованиях состояний, характеризующихся наличием приобретенных дефицитов – одновременно и про-, и антикоагулянтов (в число которых входит и новорожденность). Так, даже у абсолютно здоровых новорожденных АЧТВ и ПВ длиннее примерно в 1,5 раза по сравнению с нормальным диапазоном у взрослых [30] (таблица 6). В большинстве клинических ситуаций такие показатели тестов стоило бы рассматривать как индикатор гипокоагуляционного состояния и предрасположенности пациента к кровоточивости. Однако, несмотря на существенное удлинение времен свертывания, частота кровотечений в популяции здоровых новорожденных крайне низка, что, как уже было сказано, среди всего прочего обусловлено дефицитом естественных антикоагулянтов, балансирующим дефицит прокоагулянтов. Помимо этого, концентрации и соотношение антикоагулянтов и прокоагулянтов различаются в зависимости от срока гестации и сопутствующих осложнений у новорожденного. Из-за невозможности оценки степени сбалансированности системы при помощи стандартных тестов, входящих в рутинную коагулограмму, лабораторная диагностика коагулопатий и предикция возможных тромбогеморрагических осложнений у новорожденных в настоящее время сильно затруднена.

Концентрация D-димеров в крови новорожденных существенно повышена сразу после рождения и имеет тенденцию к снижению в течение первого месяца жизни, однако может оставаться повышенной на протяжении всего периода детства (таблица 6). Это независимо подтверждают различные исследователи [35], однако объяснения этого явления по-прежнему остаются довольно спорными. Повышенное содержание продуктов деградации фибрина и высокая концентрация D-димеров наблюдаются у 65% здоровых младенцев с нормальными сроками гестации, предположительно, в ответ на родовой стресс или как ответ на перерезание пуповины. D-димеры – достаточно крупная молекула, поэтому трансплацентарный проход маловероятен. Другое возможное объяснение заключается в том, что D-димеры – индикаторы слабой активации свертывания вследствие сосудистых изменений, таких как закрытие венозного и артериального протоков после рождения. Еще один из предполагаемых механизмов – сниженный почечный клиренс D-димеров у новорожденных [44]. Таким образом, ориентация на показатели концентрации D-димеров при прогнозировании или диагностике тромбогеморрагических осложнений у новорожденных не надежна.

Глобальные тесты гемостаза – это новое поколение методов, разработанных с целью наиболее полной имитации условий свертывания *in vivo*, что делает эти тесты чувствительными к более широкому диапазону нарушений в системе гемостаза. Особенно важно применение глобальных тестов в ситуациях, когда происходит одновременное изменение концентрации многих составляющих системы свертывания. Например, в случае одновременного снижения концентрации факторов свертывания и ингибиторов. Так как цель тестов – наиболее полная имитация свертывания, то такие анализы часто одновременно учитывают как тромбоцитарный, так и плазменный гемостазы, поэтому строгого разделения не существует. Однако некоторые из этих тестов более чувствительны к тромбоцитарным нарушениям, а другие – к плазменным.

Основные тромбоцитарные глобальные анализы на основе адгезии включают анализатор функций тромбоцитов (PFA) и различные проточные камеры. С помощью PFA оценивают первичный гемостаз *in vitro*, измеряя время, необходимое для того, чтобы цитратная кровь закрывала апертуру в мембране тестового картриджа, который покрыт различными агонистами тромбоцитов. Однако PFA фокусируется на адгезии тромбоцитов, не оценивая эффективность свертывания крови [45]. Каждый тест PFA состоит из двух измерений времени закрытия: одно – с коллагеном и эпинефрином в качестве активирующих агентов тромбоцитов (CT-Epi), а другое – с коллагеном и АДФ (CT-ADP).

Существует небольшое количество исследований PFA у новорожденных. Известно, что среднее время закрытия в образцах пуповинной крови значительно короче, чем в образцах взрослых и здоровых детей более старшего возраста (таблица 7) [46]. При этом времена закрытия в образцах периферической крови новорожденных достоверно длиннее, чем в пуповинной крови. Время закрытия CT-Epi в образцах периферической крови новорожденных не отличается от этого показателя у взрослых, а CT-ADP укорочено, но в меньшей степени, чем в пуповинной крови [47]. Предположительно, укорочение времен закрытия в тесте – это следствие более высоких концентраций vWF, более высокого гематокрита и более крупного среднего объема эритроцитов (MVC) в образцах новорожденных, которые в совокупности потенциально компенсируют гипопункциональность неонатальных тромбоцитов [25].

Проточные камеры обычно представляют собой устройства с микроскопическими каналами, в которых с помощью видеомикроскопии наблюда-

ется адгезия тромбоцитов к поверхности, покрытой активатором (как правило, коллагеном) в условиях физиологического потока крови. На данный момент существует крайне мало исследований агрегации и адгезии тромбоцитов у новорожденных в условиях потока. Результаты исследования S.M. Baker-Groberg с соавт. [21] (таблица 2) показывают, что в условиях потока агрегация и адгезия неонатальных и взрослых тромбоцитов на коллаген и vWF не отличаются.

Глобальные анализы плазменного гемостаза многочисленны и различны по своему дизайну. Один из способов характеристики образования сгустка – реометрия, которая имеет дополнительное преимущество: возможность применения в цельной крови. Тромбоэластография (ТЭГ)/тромбоэластометрия (ТЭМ) – наиболее ранние глобальные анализы гемостаза. В этих тестах образование сгустка и агрегацию тромбоцитов оценивают одновременно с использованием реометрии с вынужденными колебаниями. На сегодняшний день это единственные глобальные тесты, которые широко используют в клинической практике

Таблица 7

Показатели глобальных тестов гемостаза у новорожденных

Пуповинная кровь	Периферическая кровь	Параметр	Сравнение со взрослыми	Достигает значений взрослых в течение
Глобальные тесты				
<i>PFA</i>				
x	x	CT-Epi	Укорочено до 30–50% в образцах пуповинной крови, не отличается в образцах периферической крови	Нет данных
x	x	CT-ADP	Укорочено до 30–50% в образцах пуповинной крови, укорочено до 50–70% в образцах периферической крови	Нет данных
<i>Тромбоэластография/тромбоэластометрия (TEG/ROTEM)</i>				
x	x	R (CT)	Укорочено до 60–70% от нормы для взрослых	3 мес.
x	x	K (CFT)	Укорочено до 80–90% от нормы для взрослых либо не отличается	3 мес.
x	x	α	Не отличается от взрослых либо слегка увеличен	3 мес.
x	x	MA (MCF)	Не отличается от взрослых	–
<i>Тест генерации тромбина</i>				
x	x	ЭТП	Снижен до 50–70% от значений взрослых	От 3 мес. до 16 лет
x	x	ЭТП в присутствии тромбомодулина	Не отличается от взрослых	–
	x	Амакс	Снижен до 50–70% от значений взрослых	От 3 мес. до 16 лет
<i>Тромбодинамика</i>				
	x	Tlag	Не отличается от взрослых	Нет данных
	x	Vi	Увеличен до 130% от нормы для взрослых	Нет данных
	x	Vst	Увеличен до 140% от нормы для взрослых	Нет данных
	x	D	Не отличается от взрослых	Нет данных

Примечание: PFA – анализатор функций тромбоцитов; CT-Epi – время закрытия с коллагеном и эпинефрином в качестве активирующих агентов; CT-ADP – время закрытия с коллагеном и АДФ в качестве активирующих агентов; R (CT) – время от начала образования сгустка до начала свертывания крови; K (CFT) – время от начала образования сгустка до достижения определенной плотности сгустка; α – угол, характеризующий скорость накопления фибрина и его полимеризации (усиление сгустка); MA (MCF) – максимальная амплитуда плотности сгустка; ЭТП – эндогенный тромбиновый потенциал; Амакс – максимальная амплитуда пика тромбина; Tlag – время до начала образования сгустка; Vi – начальная скорость роста сгустка; V – скорость роста сгустка; D – плотность сгустка (величина светорассеяния).

благодаря тому, что их можно применять «у постели больного», а время ожидания ответа составляет порядка 10–15 мин (в отличие от большинства тестов, требующих времени для приготовления плазмы крови). Однако и эти тесты не лишены недостатков, основной из них – низкая чувствительность к прокоагулянтным нарушениям [48].

У новорожденных параметры ТЭГ сдвинуты в сторону гиперкоагуляции [49, 50], однако величины этих сдвигов незначительны (таблица 7). ТЭГ показывает хорошую чувствительность к кровотечениям у новорожденных [49], однако не существует исследований, посвященных предикции этих кровотечений при помощи данного теста.

Генерация тромбина, изобретенная в ее нынешнем виде группой *H.C. Hemker* из Маастрихтского университета [51], использует тромбиночувствительный флюорогенный субстрат для определения концентрации тромбина в зависимости от времени. Кривая обычно имеет характерную колоколообразную форму. Корреляция параметров теста с клиническими проявлениями кровоточивости или тромбоза установлена, хотя проблемы стандартизации еще существуют. В настоящее время представлено множество модификаций генерации тромбина, включая несколько имеющихся в продаже версий.

У новорожденных параметры теста генерации тромбина сдвинуты в сторону гипокоагуляции (таблица 7) и могут оставаться сниженными в течение всего периода детства [33, 43, 52]. Тем не менее добавление в систему растворимого тромбомодулина, «включающего» работу протеина C, которая обычно не учитывается в лабораторных тестах, выравнивает значения взрослых и новорожденных [43]. Тромбоциты новорожденных, несмотря на свою гипореактивность, нормально поддерживают генерацию тромбина в богатой тромбоцитами плазме [24]. Таким образом, результаты теста генерации тромбина указывают на баланс между прокоагулянтными и антикоагулянтными компонентами системы гемостаза у здоровых новорожденных, который не может быть оценен с помощью стандартных тестов.

Тромбодинамика с помощью видеомикроскопии позволяет регистрировать образование фибринового сгустка, инициированного иммобилизованным на поверхности тканевым фактором. При этом сгусток первоначально формируется на активирующей поверхности, а затем распространяется в плазме. Такой подход позволяет учитывать пространственную гетерогенность свертывания крови *in vivo*, то есть тот факт, что начало и распространение свертывания происходит в пространственно-разделенных областях [53]. Этот тест показал высокую чувствительность к гипо- и гиперкоагулянтным нарушениям, а также к терапии антикоагулянтами [54, 55].

Модификация этого теста (тромбодинамика-4D) позволяет наравне с регистрацией фибрина проводить также регистрацию генерации тромбина [56]. Этот тест пригоден для работы с богатой тромбоцитами плазмой и чувствителен к снижению концентрации тромбоцитов и нарушению их функции [57]. Скоростные параметры тромбодинамики у новорожденных сдвинуты в сторону гиперкоагуляции (таблица 7); в целом это коррелирует с данными ТЭГ. Пока не ясны механизмы, обуславливающие эту гиперкоагуляцию. Не ясна также клиническая информативность этого теста у данной группы пациентов. Для выяснения клинической информативности требуются дальнейшие исследования с клиническими исходами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на количественные и качественные отличия практически всех параметров системы гемостаза от тех же параметров у взрослых, здоровые новорожденные в целом имеют клинически нормальный функциональный гемостаз без тенденции к коагулопатии или тромбозу. Сниженные концентрации факторов свертывания компенсируются сниженными концентрациями ингибиторов; сниженная функциональная активность тромбоцитов, возможно, компенсируется повышенной концентрацией vWF и т.д., что приводит нас к мысли, что система гемостаза новорожденных находится в некотором «балансе», который отличается от «баланса» гемостаза у взрослых и характеризуется наличием множества компенсатор-

Рисунок

«Баланс» системы гемостаза у новорожденного

	ТРОМБОТИЧЕСКИЙ РИСК	ГЕМОРАГИЧЕСКИЙ РИСК
Тромбоцитарное звено	Повышенная концентрация фактора фон Виллебранда	- Сниженная функциональная активность тромбоцитов - Сниженный размер тромбоцитов
Плазменное звено	Сниженные концентрации ингибиторов свертывания	Сниженные концентрации факторов свертывания
Фибринолиз	- Сниженные концентрации активаторов фибринолиза - Повышенные концентрации ингибиторов фибринолиза	Повышенные концентрации продуктов деградации фибрина
Сосудистое звено	Повышенные концентрации маркеров активации сосудистого эндотелия	- Наличие хрупких васкуляризованных областей (у недоношенных новорожденных) - Нестабильная гемодинамика

ных механизмов, которые еще до конца не изучены (см. *рисунок*). Наличие возрастных различий в параметрах системы гемостаза вообще не понятно по своей природе, с точки зрения чисто функции свертывания. Одна из гипотез, объясняющих смысл «развивающегося гемостаза», заключается в том, что изменения, связанные с возрастом, необходимы, учитывая альтернативные функции некоторых коагуляционных белков. Например, было показано, что антитромбин обладает противовоспалительной, противовирусной и антиангиогенной активностью [58, 59]. Снижение производства плазменного антитромбина в течение первых нескольких месяцев жизни может относиться, например, к контролю ангиогенеза, и следовательно, компенсационные изменения, такие как увеличение альфа-2-макроглобулина, требуются системе свертывания для поддержания эффективной регуляции тромбина. Кроме того, низкий внутриматочный уровень витамина К может быть полезен для развивающегося эмбриона. Уменьшение синтеза витамина К-зависимого фермента остеокальцина, который является промотором хрящевой минерализации, предотвращает преждевременное созревание хрящей плода [60]. На сегодняшний день отсутствует доказательная база, которая позволила бы четко объяснить физиологический смысл изменений, которые претерпевает система гемостаза в течение первого года жизни.

Тем не менее вопрос о том, насколько устойчив альтернативный баланс, устанавливающийся между прокоагулянтными и антикоагулянтными элементами системы свертывания новорожденных, остается открытым. Несмотря на крайне низкую частоту спонтанных тромбозов и кровотечений у здоровых доношенных новорожденных, наличие сопутствующих осложнений (недоношенности, воспалительных процессов) резко увеличивает риски тромботических и геморрагических осложнений в данной группе. При этом существенные различия в параметрах системы гемостаза внутри групп с осложнениями (например, между недоношенными разных сроков гестации) делают лабораторную диагностику нарушений гемостаза у таких пациентов, а также профилактику и лечение тромбгеморрагических осложнений достаточно

нетривиальной задачей из-за невозможности создания универсальной схемы диагностики и терапии.

Нормальные значения рутинных тестов гемостаза у новорожденных сильно отличаются от таковых у взрослых. В основном это связано с тем фактом, что рутинные тесты рассматривают отдельные элементы системы гемостаза или отдельные функциональные связки элементов, не принимая во внимание поведение системы в целом. С одной стороны, это облегчает лечащему врачу понимание, в каком именно месте системы искать «поломку», но с другой стороны, в присутствии взаимокompенсирующих сдвигов прокоагулянтных и антикоагулянтных элементов (как в случае с новорожденными) такой подход может привести к ложным или взаимоисключающим выводам. Уже сегодня можно говорить о высоком потенциале глобальных тестов для диагностики сложных коагулопатий с вовлечением различных звеньев системы гемостаза. Однако внедрение глобальных тестов в рутинную клиническую практику в неонатологии требует проведения большего количества клинических исследований, а также повышения квалификации медицинского персонала. Для новорожденных, баланс гемостаза которых отличается от такового у взрослых даже в норме, применение глобальных тестов может решить проблему неинформативности стандартных тестов в области предикции тромбгеморрагических осложнений, а также контроля антикоагулянтной и прокоагулянтной терапии.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа А.Н. Баландиной и Е.М. Кольцовой поддержана грантом Президента РФ для молодых кандидатов МК-913.2017.4. Работа Пантелеева М.А. поддержана грантом РФФИ 17-04-01309 грантом Президента РФ для молодых докторов наук МД-229.2017.4.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Koltsova E.M. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0167-6726>
Balashova E.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3741-0770>
Panteleev M.A. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8128-7757>
Balandina A.N. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7032-6951>

Литература

1. Szpecht D., Szymankiewicz M., Nowak I., Gadzinowski J. Intraventricular hemorrhage in neonates born before 32 weeks of gestation-retrospective analysis of risk factors. *Childs Nerv Syst* 2016; 32: 1399–404.
2. Bhat R., Monagle P. The preterm infant with thrombosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2012; 97: F423–8.
3. Veldman A., Nold M.F., Michel-Behnke I. Thrombosis in the critically ill neonate: incidence, diagnosis, and management. *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4: 1337–48.
4. Yum S.K., Moon C.-J., Youn Y.-A., Lee H.S., Kim S.-Y., Sung I.K. Risk factor profile of massive pulmonary haemorrhage in neonates: the impact on survival studied in a tertiary care centre.

- J Matern Fetal Neonatal Med 2016; 29: 338–43.
5. Toulon P. Developmental hemostasis: laboratory and clinical implications. *Int J Lab Hematol* 2016; 38: 66–77.
 6. Gitlin D., Biasucci A. Development of gamma G, gamma A, gamma M, beta 1C-beta 1A, C 1 esterase inhibitor, ceruloplasmin, transferrin, hemopexin, haptoglobin, fibrinogen, plasminogen, alpha 1-antitrypsin, orosomucoid, beta-lipoprotein, alpha 2-macroglobulin, and prealbumin in th. *J Clin Invest* 1969; 48: 1433–46.
 7. Sola-Visner M. Platelets in the neonatal period: developmental differences in platelet production, function, and hemostasis and the potential impact of therapies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 506–11.
 8. Zilliacus H., Ottelin A.M., Mattsson T. Blood clotting and fibrinolysis in human fetuses. *Biol Neonat* 1966; 10: 108–12.
 9. Reverdiau-Moalic P., Delahousse B., Body G., Bardos P., Leroy J., Gruel Y. Evolution of blood coagulation activators and inhibitors in the healthy human fetus. *Blood* 1996; 88: 900–6.
 10. Jaffray J., Young G. Developmental hemostasis. clinical implications from the fetus to the adolescent. *Pediatr Clin North Am* 2013; 60: 1407–17.
 11. Walka M.M., Sonntag J., Dudenhausen J.W., Obladen M. Thrombopoietin concentration in umbilical cord blood of healthy term newborns is higher than in adult controls. *Biol Neonate* 1999; 75: 54–8.
 12. Ferrer-Marín F., Liu Z.J., Gutti R., Sola-Visner M. Neonatal Thrombocytopenia and Megakaryocytopoiesis. *Semin Hematol* 2010; 47: 281–8.
 13. Liu Z.J., Italiano J., Ferrer-Marín F., Gutti R., Bailey M., Poterjoy B., et al. Developmental differences in megakaryocytopoiesis are associated with up-regulated TPO signaling through mTOR and elevated GATA-1 levels in neonatal megakaryocytes. *Blood* 2011; 117: 4106–17.
 14. de Alarcon P.A., Graeve J.L. Analysis of megakaryocyte ploidy in fetal bone marrow biopsies using a new adaptation of the feulgen technique to measure DNA content and estimate megakaryocyte ploidy from biopsy specimens. *Pediatr Res* 1996; 39: 166–70.
 15. Mattia G., Vulcano F., Milazzo L., Barca A., Macioce G., Giampao A., et al. Different ploidy levels of megakaryocytes generated from peripheral or cord blood CD34+ cells are correlated with different levels of platelet release. *Blood* 2002; 99: 888–97.
 16. Chakravorty S., Roberts I. How I manage neonatal thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2012; 156: 155–62.
 17. Christensen R.D., Henry E., Wiedmeier S.E., Stoddard R.A., Sola-Visner M.C., Lambert D.K., et al. Thrombocytopenia among extremely low birth weight neonates: Data from a multihospital healthcare system. *J Perinatol* 2006; 26: 348–53.
 18. Wiedmeier S.E., Henry E., Sola-Visner M.C., Christensen R.D. Platelet reference ranges for neonates, defined using data from over 47 000 patients in a multihospital healthcare system. *J Perinatol* 2009; 29: 130–6.
 19. Deschmann E., Sola-Visner M., Saxonhouse M.A. Primary hemostasis in neonates with thrombocytopenia. *J Pediatr* 2014; 164: 167–72.
 20. Roberts I., Murray N.A. Neonatal thrombocytopenia. *Semin Fetal Neonatal Med* 2008; 13: 256–64.
 21. Baker-Groberg S.M., Lattimore S., Recht M., McCarty O.J.T., Haley K.M. Assessment of neonatal platelet adhesion, activation, and aggregation. *J Thromb Haemost* 2016; 14: 815–27.
 22. Andres O., Schulze H., Speer C.P. Platelets in neonates: Central mediators in haemostasis, antimicrobial defence and inflammation. *Thromb Haemost* 2015; 113: 3–12.
 23. Sitaru A.G., Holzhauser S., Speer C.P., Singer D., Obergfell A., Walter U., et al. Neonatal platelets from cord blood and peripheral blood. *Platelets* 2005; 16: 203–10.
 24. Bernhard H., Rosenkranz A., Novak M., Leschnik B., Petritsch M., Rehak T., et al. No differences in support of thrombin generation by neonatal or adult platelets. *Hamostaseologie* 2009; 29: 94–7.
 25. Haley K.M., Recht M., McCarty O.J.T. Neonatal platelets: mediators of primary hemostasis in the developing hemostatic system. *Pediatr Res* 2014; 76: 230–7.
 26. Stuart M.J., Duse J., Clark D.A., Walenga R.W. Differences in thromboxane production between neonatal and adult platelets in response to arachidonic acid and epinephrine. *Pediatr Res* 1984; 18: 823–6.
 27. Saving K.L., Jennings D.E., Aldag J.C., Caughey R.C. Platelet ultrastructure of high-risk premature infants. *Thromb Res* 1994; 73: 371–84.
 28. Del Vecchio A., Motta M., Romagnoli C. Neonatal Platelet Function. *Clin Perinatol* 2015; 42: 625–38.
 29. Hézard N., Potron G., Schlegel N., Amory C., Leroux B., Nguyen P. Unexpected persistence of platelet hyporeactivity beyond the neonatal period: A flow cytometric study in neonates, infants and older children. *Thromb Haemost* 2003; 90: 116–23.
 30. Nowak-Göttl U., Limperger V., Kenet G., Degenhardt F., Arlt R., Domschikowski J., et al. Developmental hemostasis: A lifespan from neonates and pregnancy to the young and elderly adult in a European white population. *Blood Cells, Mol Dis Published Online First*: 2016.
 31. Uszyński M., Ekanowska E., Uszyński W., Kuczyński J., Yliński A. Microparticles (MPs), tissue factor (TF) and tissue factor inhibitor (TFPI) in cord blood plasma. A preliminary study and literature survey of procoagulant properties of MPs. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 158: 37–41.
 32. Andrew M., Paes B., Milner R., Johnston M., Mitchell L., Tollefsen D.M., et al. Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. *Blood* 1988; 72: 1651–7.
 33. Monagle P., Barnes C., Ignjatovic V., Furmedge J., Newall F., Chan A., et al. Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories. *Thromb Haemost* 2006; 95: 362–72.

34. Andrew M., Paes B., Milner R., Johnstone M., Mitchell L., Tollefsen D., et al. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood* 1987; 70: 165–72.
35. Christensen R.D., Baer V.L., Lambert D.K., Henry E., Ilstrup S.J., Bennett S.T. Reference intervals for common coagulation tests of preterm infants (CME). *Transfusion* 2014; 54: 627–32.
36. Stefanov G., Puppala B.L., Pais G., Gulati A. Endothelin-1 levels and renal function in newborns of various gestational ages. *J Neonatal Perinatal Med* 2016; 9: 145–52.
37. El Shemi M.S., Tawfik S., Khafagy S.M., Hamza M.T., Youssef A.M.A. Endothelin 1 as a predictor marker for bronchopulmonary dysplasia in preterm neonates with respiratory distress syndrome. *J Neonatal Perinatal Med* 2017; 10: 79–83.
38. Knofler R., Hofmann S., Weissbach G., Kuhlisch E., Neef B., Otte M., et al. Molecular markers of the endothelium, the coagulation and the fibrinolytic systems in healthy newborns. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24: 453–61.
39. Yoshibayashi M., Nishioka K., Nakao K., Saito Y., Temma S., Matsumura M., et al. Plasma endothelin levels in healthy children: high values in early infancy. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17 Suppl 7: S404–5.
40. Nako Y., Ohki Y., Harigaya A., Tomomasa T., Morikawa A. Plasma thrombomodulin level in very low birthweight infants at birth. *Acta Paediatr* 1997; 86: 1105–9.
41. Panzer S., Jilma P. Methods for testing platelet function for transfusion medicine. *Vox Sang* 2011; 101: 1–9.
42. Ahlsten G., Ewald U., Tuvemo T. Arachidonic acid-induced aggregation of platelets from human cord blood compared with platelets from adults. *Neonatology* 1985; 47: 199–204.
43. Tripodi A., Ramenghi L.A., Chantarangkul V., De Carli A., Clerici M., Gropo M., et al. Normal thrombin generation in neonates in spite of prolonged conventional coagulation tests. *Haematologica* 2008; 93: 1256–9.
44. Hudson I.R., Gibson B.E., Brownlie J., Holland B.M., Turner T.L., Webber R.G. Increased concentrations of D-dimers in newborn infants. *Arch Dis Child* 1990; 65: 383–4.
45. Favaloro E. Internal quality control and external quality assurance of platelet function tests. *Semin Thromb Hemost* 2009; 35: 139–49.
46. Saxonhouse M.A., Sola M.C. Platelet function in term and preterm neonates. *Clin Perinatol* 2004; 31: 15–28.
47. Saxonhouse M.A., Garner R., Mammel L., Li Q., Muller K.E., Greywoode J., et al. Closure times measured by the platelet function analyzer PFA-100® Are longer in neonatal blood compared to cord blood samples. *Neonatology* 2010; 97: 242–9.
48. Lancé M.D. A general review of major global coagulation assays: Thrombelastography, thrombin generation test and clot waveform analysis. *Thromb J* 2015; 13: 1–6.
49. Sewell E.K., Forman K.R., Wong E.C.C., Gallagher M., Luban N.L.C., Massaro A.N. Thromboelastography in term neonates: an alternative approach to evaluating coagulopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2017; 102: F79–84.
50. Revel-Vilk S. The conundrum of neonatal coagulopathy. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 450–4.
51. Hemker H.C., Wielders S., Kessels H., Beguin S. Continuous registration of thrombin generation in plasma, its use for the determination of the thrombin potential. *Thromb Haemost* 1993; 70: 617–24.
52. Ignjatovic V., Pelkmans L., Kelchtermans H., Al Dieri R., Hemker C., Kremers R., et al. Differences in the mechanism of blood clot formation and nanostructure in infants and children compared with adults. *Thromb Res* 2015; 136: 1303–9.
53. Panteleev M.A., Dashkevich N.M., Ataullakhanov F.I. Hemostasis and thrombosis beyond biochemistry: Roles of geometry, flow and diffusion. *Thromb Res* 2015; 136: 699–711.
54. Koltsova E.M., Balandina A.N., Grischuk K.I., Shpilyuk M.A., Seregina E.A., Dashkevich N.M., et al. The laboratory control of anticoagulant thromboprophylaxis during the early postpartum period after cesarean delivery. *J Perinat Med* 2017 [Epub ahead of print].
55. Gracheva M.A., Urnova E.S., Sinauridze E.I., Tarandovskiy I.D., Orel E.B., Poletaev A.V., et al. Thromboelastography, thrombin generation test and thrombodynamics reveal hypercoagulability in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2015; 56: 3418–25.
56. Dashkevich N.M., Ovanesov M.V., Balandina A.N., Karamzin S.S., Shestakov P.I., Soshitova N.P., et al. Thrombin activity propagates in space during blood coagulation as an excitation wave. *Biophys J* 2012; 103: 2233–40.
57. Кольцова Е.М., Баландина А.Н., Демидова И.А., Радыгина С.А., Атауллаханов Ф.И., Балашов Д.Н. и др. Использование метода пространственной генерации тромбина для оценки прокоагулянтной активности тромбоцитов после трансфузии тромбоконцентрата у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016; 15: 32–9.
58. Zhang W., Chuang Y.-J., Swanson R., Li J., Seo K., Leung L., et al. Antiangiogenic antithrombin down-regulates the expression of the proangiogenic heparan sulfate proteoglycan, perlecan, in endothelial cells. *Blood* 2004; 103: 1185–91.
59. Folkman J. Angiogenesis and proteins of the hemostatic system. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1681–2.
60. Will A. Neonatal haemostasis and the management of neonatal thrombosis. *Br J Haematol* 2015; 169: 324–32.