

Аспекты методологии лабораторных исследований гемостаза в детской гематологии-онкологии и общие подходы в патологии гемостаза при лейкозах

Е.М. Кольцова^{1,2}, А.Н. Баландина^{1,2}, Е.А. Серегина¹, А.В. Полетаев¹,
Т.А. Вуймо¹, М.А. Пантелеев¹⁻⁴, Ф.И. Атауллаханов¹⁻⁴

¹ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1; ²ФГБУН ЦТП ФХФ Российской академии наук; Россия, 119991, Москва, ул. Косыгина, 4; ³ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова; Россия, 119992, Москва, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 2; ⁴ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)»; Россия, 141701, Московская область, Долгопрудный, Институтский пер., 9

Контактные данные: Екатерина Михайловна Кольцова ekaterina_koltsova@bk.ru

Пациенты детского возраста с острыми лейкозами сталкиваются с высокими рисками развития тромботических и геморрагических осложнений. Патогенез нарушений гемостаза при гемобластозах носит сложный характер, поскольку помимо самого заболевания также вносят существенный вклад агрессивность применяемой терапии и необходимость многочисленных инвазивных манипуляций. Больные гемобластозами в равной степени подвержены и тромбозам, и кровотечениям, что позволяет говорить о разнонаправленных сдвигах баланса системы гемостаза у каждого индивидуального пациента. Стандартные лабораторные тесты гемостаза (время свертывания, маркерные тесты) предназначены для оценки концентраций отдельных белков и функционирования отдельных компонентов системы гемостаза и никак не оценивают баланс между ее прокоагулянтными и антикоагулянтными составляющими. Альтернативой стандартной коагулограмме могут послужить глобальные тесты гемостаза, предназначенные для оценки баланса свертывания, такие как тромбозластография, тест генерации тромбина и тромбодинамика. В обзоре разобраны механизмы работы различных лабораторных тестов гемостаза, а также проведена оценка их информативности при частых осложнениях основного заболевания (сепсис, ведущий к развитию синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС); тромбоцитопения) и катетеризации, которой подвергается большинство пациентов с гемобластомами. Общие скрининговые тесты системы свертывания крови имеют малую диагностическую ценность при ДВС-синдроме, возникающем вследствие сепсиса у больных острыми лейкозами, в основном из-за своей нечувствительности к гиперкоагуляции. Стандартные маркеры (например, D-димеры) неспецифичны и лишь подтверждают клинические проявления нарушения свертывания при сепсисе и септическом шоке, но не в состоянии предсказать динамику развития этого процесса на более ранних стадиях воспалительного ответа. При этом тест генерации тромбина и тромбодинамика позволяют выявить гиперкоагуляционную фазу ДВС-синдрома. Тромбоцитопения сопровождает практически все протоколы химиотерапии. При этом степень кровоточивости не всегда зависит только от концентрации тромбоцитов, поскольку химиотерапевтические препараты могут влиять не только на количество, но и на функциональные характеристики тромбоцитов, которые не определяются при стандартном обследовании пациентов. Катетеризация, сопровождающая лечение гемобластозов, является ведущей причиной тромбозов у детей с острыми лейкозами. Тромбозмолния легочной артерии вследствие тромбоза в системе центральных вен возникает у 8–15 % пациентов. Предикция катетер-ассоциированных тромбозов с помощью стандартных лабораторных методов оценки состояния системы гемостаза не представляется возможной. Отсутствие в современных схемах обследования чувствительных тестов приводит к тому, что лечащий врач вынужден ориентироваться исключительно на клиническую картину уже случившегося тромбоза или кровотечения. Появление новых функциональных методов оценки гемостаза позволяет думать, что уже сегодня существующая стандартная панель тестов коагулограммы может быть дополнена и сделана гораздо более информативной с точки зрения предикции тромбогеморрагических осложнений в области детской гематологии-онкологии.

Ключевые слова: гемостаз, детская гематология-онкология, тромбоз, кровотечение, лабораторная диагностика

DOI: 10.17650/2311-1267-2018-5-3-74-88

Aspects of the methodology of laboratory studies of hemostasis in pediatric hematology-oncology and general approaches in the pathology of hemostasis in leukemia

E.M. Koltsova^{1,2}, A.N. Balandina^{1,2}, E.A. Seregina¹, A.V. Poletaev¹, T.A. Vuymo¹, M.A. Panteleev¹⁻⁴, F.I. Ataulakhonov¹⁻⁴

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia; ²Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow, Russian Federation; 4 Kosygina St., Moscow, 119991, Russia; ³Lomonosov Moscow State University; 1, Bldg. 2 Leninskie Gory St., Moscow, 119992, Russia; ⁴Moscow Institute of Physics and Technology (State University); 9 Institutskiy Per., Dolgoprudny, Moscow Region, 141701, Russia

Children with acute leukemia are faced with high risks of thrombotic and hemorrhagic complications. The pathogenesis of haemostasis disorders in hemoblastoses is complex because, in addition to the disease itself, the aggressiveness of the therapy and the need for numerous invasive

manipulations also make a significant contribution. Patients with hemoblastoses are equally susceptible to thrombosis and hemorrhage, which makes it possible to speak of multidirectional shifts in the balance of the hemostatic system in each individual patient. Standard laboratory hemostasis tests (clotting times, marker tests) are designed to assess the concentrations of individual proteins and the functioning of individual components of the hemostasis, and in do not assess the balance between its procoagulant and anticoagulant components. Global hemostatic tests designed to assess the coagulation balance, such as thromboelastography, thrombin generation test, and thrombodynamics, can be the alternative for the standard coagulation assays. The review focuses on the mechanisms of various laboratory hemostasis tests, as well as an assessment of their informative value in frequent complications of the underlying disease (sepsis leading to the development of disseminated intravascular coagulation (DIC) syndrome, thrombocytopenia) and catheterization, which is present in the majority of patients with hemoblastosis. General screening tests of the blood coagulation system have little diagnostic value in the DIC syndrome in patients with acute leukemia, mainly due to their insensitivity to hypercoagulability. Standard markers (for example, D-dimers) are non-specific and only confirm the clinical manifestations of clotting disorder in sepsis and septic shock, but are unable to predict the dynamics of this process at earlier stages of the inflammatory response. In this case, the thrombin generation test and thrombodynamics make it possible to reveal the hypercoagulable phase of the DIC syndrome. Thrombocytopenia accompanies almost all protocols of chemotherapy. In this case, the degree of bleeding does not always depend only on the concentration of platelets, since chemotherapeutic drugs can affect not only the quantity, but also the functional characteristics of platelets, which are not determined by standard examination of patients. The catheterization that accompanies the treatment of hemoblastoses is the leading cause of thrombosis in children with acute leukemia. Thromboembolism of the pulmonary artery due to thrombosis in the central vein system occurs in 8–15 % of patients. The prediction of catheter-associated thromboses using standard laboratory methods for assessing the state of the hemostasis is not possible. Absence of sensitive tests in modern diagnostic schemes leads to the fact that the attending physician is forced to focus exclusively on the clinical picture of thrombosis or bleeding. The development of new functional methods of hemostasis allows one to think that today the existing standard panel of coagulation tests can be expanded and made much more informative in terms of the prediction of thrombohemorrhagic complications in pediatric hematology-oncology.

Key words: hemostasis, pediatric hematology-oncology, thrombosis, hemorrhage, laboratory diagnostics

Введение

Детская популяция в целом рассматривается клиницистами как группа сниженного риска тромбогеморрагических осложнений по сравнению со взрослыми. Тем не менее при наличии некоторых тяжелых заболеваний риски таких осложнений у детей существенно возрастают [1]. На практике лечащему врачу, работающему в области детской гематологии-онкологии, приходится достаточно часто сталкиваться с клиническими проявлениями нарушений системы гемостаза. Однако проблемам своевременной диагностики и профилактики таких осложнений не уделяется должного внимания в современной медицинской литературе.

В чем же причина? Во-первых, методы лабораторно-клинической диагностики нарушений гемостаза были и во многих вопросах остаются очень несовершенными. Только в последние годы прогресс в понимании многих механизмов функционирования свертывающей системы привел к появлению действительно чувствительных методов [2]. Во-вторых, в силу тяжести проявлений основного заболевания многие тромбогеморрагические осложнения не считаются клинически значимыми (примером может служить катетер-ассоциированный тромбоз). Однако эти осложнения могут быть чреваты отдаленными последствиями, что негативно сказывается на качестве жизни пациента и особенно важно это учитывать при работе с детьми. В-третьих, тяжелая тромбоцитопения и трансфузионная зависимость у подавляющего большинства больных в сочетании с отсутствием чувствительных методов лабораторного контроля состояния

системы гемостаза фактически не дают лечащему врачу адекватно оценить риски тромбогеморрагических осложнений у конкретного пациента [3]. Поэтому представляется актуальным рассмотрение современного состояния проблемы нарушений свертывания крови у детей с острыми лейкозами. В настоящем обзоре мы рассмотрели отдельно основные ситуации, ведущие к тромбообразованию или кровоточивости у детей с различными гемобластомами, такие как развитие синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС), катетеризацию и тромбоцитопению.

Данный обзор имеет своей целью не только представить состояние вопросов диагностики и подходов к терапии нарушений гемостаза при острых лейкозах, но и предложить внедрение новых методов обследования и мониторинга пациентов, чтобы получать максимально полную и объективную оценку рисков, связанных с нарушениями свертывания крови.

Методы оценки нарушения свертываемости – критический обзор

Лабораторные тесты для оценки состояния системы свертывания крови могут быть разделены на функциональные, характеризующие работу системы, индивидуальные (дифференциальные), характеризующие концентрацию или активность отдельных элементов системы, и маркерные, которые оценивают присутствие специфических маркеров процессов тромбообразования и фибринолиза [4]. Функциональные тесты, в свою очередь, подразделяются на субглобальные (к ним в основном относятся так назы-

ваемые классические тесты), которые характеризуют работу конкретного сегмента свертывающей системы, и глобальные (интегральные) тесты, цель которых наиболее полно охарактеризовать весь процесс тромбообразования приближенно к условиям свертывания в организме человека [2]. Также лабораторные тесты гемостаза часто разделяют на тромбоцитарные и плазменные, однако в свете развития глобальных тестов такая классификация не всегда возможна. Основные характеристики тестов гемостаза представлены в таблице.

Функциональные тесты

К этой категории относятся тесты, в которых запускается процесс активации свертывания (плазменного или тромбоцитарного) *in vitro* в целях более или менее успешной имитации свертывания *in vivo* и оценки эффективности образования тромба.

Субглобальные тесты включают в основном функциональные тесты, которые традиционно использовались для оценки гемостаза в течение десятилетий [2].

К тромбоцитарным тестам этой категории относится агрегометрия. Обычно активатор тромбоцитов (аденозиндифосфат, коллаген, ристацитин и др.) добавляется в БТП, при этом степень агрегации определяют по степени увеличения светопропускания в процессе агрегации тромбоцитов [5]. Кроме этого, существуют приборы, позволяющие определять агрегацию тромбоцитов в ЦК по изменению электрического импеданса. К сожалению, агрегометрия на сегодняшний день достаточно плохо стандартизирована, поэтому невозможно сравнение результатов, полученных в разных лабораториях. Агрегометрия первоначально была предназначена для диагностики наследственных нарушений функции тромбоцитов, а в последнее время используется также для контроля реакции на лечение антитромбоцитарными препаратами. Сравнительно недавно были разработаны несколько новых анализаторов, позволяющих оценивать агрегацию тромбоцитов: Multiplate® (Roche Diagnostics Limited, Великобритания), VerifyNow (Accriva Diagnostics, CA, USA) и некоторые другие [2]. Кроме этого, к тромбоцитарным субглобальным тестам можно отнести определение функциональной активности тромбоцитов с помощью проточной цитометрии [6, 7]. Это направление бурно развивается в последнее время. В отличие от измерения количества рецепторов на поверхности тромбоцитов, о котором мы будем говорить немного позже, здесь используется активатор тромбоцитов или смесь различных активаторов, призванных симитировать естественные условия активации тромбоцитов *in vivo*. С помощью флуоресцентно-меченных моноклональных антител, а также специфической краски можно определить экспозицию фосфатидилсерина на поверхность, се-

крецию содержимого альфа и плотных гранул, а также образование активированного комплекса гликопротеина IIb–IIIa в процессе активации тромбоцитов.

К плазменным тестам относятся: АЧТВ, ПВ, его модификации – МНО и ТВ. АЧТВ представляет собой время образования сгустка, индуцированное в плазме через контактный путь (обычно в качестве активатора используют коалин-кефалиновую смесь). АЧТВ чувствительно к недостаткам факторов внутреннего и общего путей свертывания (VIII, IX, XI, X, V и протромбина). АЧТВ широко используется для мониторинга НФГ и других антикоагулянтов, включая прямые ингибиторы тромбина (такие как дабигатран) [8]. Для определения ПВ используют внешний путь активации – ТФ. ПВ используется в качестве скринингового анализа для выявления недостатков одного или нескольких факторов свертывания (фибриногена, факторов II, V, VII и X). МНО представляет собой отношение значения ПВ пациента, деленное на нормальное значение, определяемое местной лабораторией, скорректированное с помощью Международного индекса чувствительности (обычно от 1,0 до 2,0), определенное для используемых партии реагента и аналитической системы. МНО широко используется для контроля антикоагулянтных эффектов варфарина и других антагонистов витамина К и для корректировки их дозировок. Как АЧТВ, так и ПВ не позволяют обнаружить вклад циркулирующих активных факторов и микрочастиц, поскольку в этих тестах используют сильную активацию и избыточное количество липидов [9]. Активацию свертывания для определения ТВ проводят с помощью добавления тромбина. ТВ используют для выявления аномалий в процессе превращения фибриногена в фибрин в случае гипофибриногенемии, дисфибриногенемии и присутствия ингибиторов реакции превращения фибриногена в фибрин (таких как гепарин, гирудин, дабигатран, продукты разложения фибрина и парапротеины).

Глобальные тесты гемостаза представляют собой новое поколение методов, разработанных с целью наиболее полной имитации условий свертывания *in vivo* [10], что делает эти тесты чувствительными к более широкому диапазону нарушений в системе гемостаза. Особенно важно применение глобальных тестов в ситуациях, при которых происходит одновременное изменение в концентрациях многих составляющих системы свертывания. Например, в случае одновременного снижения концентрации факторов свертывания и ингибиторов. Так как целью тестов является наиболее полная имитация свертывания, то такие анализы часто одновременно учитывают как тромбоцитарный, так и плазменный гемостаз, поэтому строгого разделения не существует. Однако некоторые из этих тестов более чувствительны к тромбоцитарным нарушениям, а другие – к плазменным.

Характеристика тестов гемостаза (начало)

Тест	Образец			Адгезия тромбоцитов	Агрегация тромбоцитов	Плазменный гемостаз				Поток	Принцип регистрации	Назначение
	СПП	БТП	ЦК			Нач.	Распр.	Эласт.	Лизис			
Агрегометрия	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	Измерение увеличения в светорассеянии плазмы или изменения импеданса под действием агонистов агрегации	Диагностика тромбоцитопатий
Протоочная цитометрия	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Измерение экспрессии рецепторов тромбоцитов и маркеров активации с помощью флуоресцентно-меченых моноклональных антител и агонистов активации	Диагностика тромбоцитопатий
АЧТВ	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Измерение времени свертывания при активации внутреннего пути	Контроль терапии НФГ, диагностика коагулопатий
ПВ/МНО	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Измерение времени свертывания при активации внешнего пути	Контроль терапии антагонистами витамина К, диагностика коагулопатий
ТВ	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Измерение времени свертывания при активации тромбином	Оценка наличия аномалий при пре-вращении фибриногена в фибрин; тип- и дисфибриногемии, наличия ингибиторов реакции фибриноген-фибрин (гепарин, гирудин, продукты деградации фибрина и парапротеины)
РФА и проточные камеры	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	Измерение времени окончания кровотока сквозь узкий капилляр, содержащий агонист активации тромбоцитов	Диагностика тромбоцитопений и тромбоцитопатий
Контракция кровяного сгустка	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	Измерение уменьшения объема кровяного сгустка	Диагностика нарушения сокращения тромбоцитов
ТЭГ/тромбоэластометрия	-	(+)	+	-	-	+	+	+	-	-	Измерение изменения вязкости сгустка после активации свертывания	Оценка рисков кровоточивости во время операции и эффективности проводимой трансфузионной терапии
Тест генерации тромбина	+	+	(+)	-	-	-	+	-	(+)	-	Вычисление изменения концентрации тромбина по накопленному продукту взаимодействия флуоресцентно-меченного субстрата с тромбином	Диагностика нарушений плазменного гемостаза и контроль эффективности проводимой про- и антикоагулянтной терапии

Характеристика тестов гемостаза (окончание)

Тест	Образец			Агрегация тромбоцитов	Адгезия тромбоцитов	Плазменный гемостаз	Поток	Принцип регистрации	Назначение
	СПП	БТП	ЦК						
Общий гемостатический потенциал	+	-	-	-	-	Нач. (+) Распр. Эласт. Лизис	-	Измерение динамики светопропускания при активации свертывания и одновременной активации свертывания и лизиса	Диагностика нарушений плазменного гемостаза и системы лизиса
Тромбодинамика-4D	+	+	-	(+)	(+)	Нач. (+) Распр. Эласт. Лизис	-	Измерение динамики роста сгустка и генерации тромбина при активации свертывания от поверхности с ТФ	Диагностика нарушений плазменного гемостаза и контроль эффективности проводимой протромболизисной терапии; учитывает концентрацию и активность тромбоцитов при работе с БТП
Измерение концентрации и размеров тромбоцитов	-	-	+	-	-	Нач. (+) Распр. Эласт. Лизис	-	Проточная цитометрия и микроскопия	Диагностика тромбоцитопении, тромбоцитопатии
Измерение концентрации или активности факторов свертывания и ингибиторов свертывания и лизиса	+	-	-	-	-	Нач. (+) Распр. Эласт. Лизис	-	Измерение времени свертывания; ИФА	Определение концентрации и активности белков системы свертывания и лизиса
TAT, F1+2, РФМК, D-димер	+	-	-	-	-	Нач. (+) Распр. Эласт. Лизис	-	ИФА	Оценка активации свертывания, D-димер используется для исключения венозной тромбоэмболии

Примечание. В таблице указан тип образца, с которым может проводиться анализ: СПП – свободная от тромбоцитов плазма; БТП – богатая тромбоцитами плазма; ЦК – цельная кровь. Плюс (+) означает «да», минус (-) – «нет»; знаки в скобках указывают на принципиальную возможность такого применения, которая не применяется на практике. Тесты охарактеризованы по возможности учитывать адгезию и агрегацию тромбоцитов, фазу инициации роста фибринового сгустка (нач.), фазу роста сгустка (распр.), эластические свойства сгустка (эласт.), возможность теста регистрировать фибринолиз (лизис) и наличие тока крови в тесте (поток). АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; НФГ – нефракционированный гепарин; ПВ – протромбиновое время; МНО – международное нормализованное отношение; ТВ – тромбиновое время; РФА (Platelet function analyzer) – анализатор функций тромбоцитов; ТЭГ – тромбозластография; ТФ – тканевой фактор; ИФА – иммуноферментный анализ; ТАТ – комплекс тромбин-антитромбин III; F1+2 – протромбиновые фрагменты 1+2; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы. Большая часть материалов адаптирована из [2].

Characteristics of hemostasis tests (beginning)

Test	Pattern			Platelet of adhesion	Aggregation of thrombocytes	Plasma haemostasis				Stream	Principle of registration	Purpose
	Plate-let-free plasma	Plate-let-rich plasma	Whole blood			Phase of initiation of fibrin clot growth	Clot growth phase	Elastic properties of the clot	Lysis			
Aggregometry	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	Measurement of the increase in the light transmission of the plasma or the change in impedance under the action of aggregation agonists	Diagnosis of thrombocytopathy
Flow cytometry	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	Measurement of expression of platelet receptors and activation markers by fluorescently labeled monoclonal antibodies and agonists activation	Diagnosis of thrombocytopathy
Activated partial thromboplastin time	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Measurement of clotting time when internal pathway is activated	Control of unfractionated heparin therapy, diagnosis of coagulopathy
Prothrombin time/International normalized ratio	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Measurement of clotting time when external path is activated	Control of therapy with vitamin K antagonists, diagnosis of coagulopathy
Thrombin time	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Measurement of clotting time with thrombin activation	Assessment of the presence of anomalies in the conversion of fibrinogen into fibrin: hypo- and dysfibrinogenemia, the presence of inhibitors of the fibrinogen-fibrin reaction (heparin, hirudin, fibrin degradation products and paraproteins)
Platelet function analyser and flow chambers	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	Measurement of the end of blood flow through a narrow capillary containing a platelet activation agonist	Diagnosis of thrombocytopenia and thrombocytopathy
Blood clot contraction	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	Measuring the decrease in blood clot volume	Diagnosis of violation of contraction of platelets
Thrombo-elastography/Thrombo-elastometry	-	(+)	+	-	-	+	-	+	-	-	Measurement of the viscosity change of a clot after activation of coagulation	Assessment of bleeding risks during surgery and the effectiveness of transfusion therapy

Test	Pattern			Platelet of adhesion	Aggregation of thrombocytes	Plasma haemostasis				Stream	Principle of registration	Purpose
	Platelet-free plasma	Platelet-rich plasma	Whole blood			Phase of initiation of fibrin clot growth	Clot growth phase	Elastic properties of the clot	Lysis			
Thrombin generation test	+	+	(+)	-	-	+	-	(+)	-	-	Calculation of the change in thrombin concentration from the accumulation of the product of the interaction of a fluorescently labeled substrate with thrombin	Diagnosis of plasma hemostasis disorders and control of efficacy of pro- and anticoagulant therapy
Total hemostatic potential	+	-	-	-	-	(+)	-	+	-	-	Measurement of the dynamics of light transmission with activation of coagulation and simultaneous activation of coagulation and lysis	Diagnosis of violations of plasma hemostasis and lysis system
Thrombodynamics	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	Measurement of the growth dynamics of a fibrin clot growing from a surface with an immobilized tissue factor, following a light scattering signal	Diagnosis of plasma hemostasis disorders and control of efficacy of pro- and anticoagulant therapy
Thrombo-dynamics-4D	+	+	-	(+)	(+)	+	-	+	-	-	Measurement of the dynamics of clot growth and thrombin generation upon activation of clotting from the surface with a tissue factor	Diagnosis of plasma hemostasis disorders and control of efficacy of pro- and anticoagulant therapy; takes into account the concentration and activity of platelets when working with platelet-rich plasma
Measurement of platelet concentration and size	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	Flow cytometry and microscopy	Diagnosis of thrombocytopenia and thrombocytopathy
Measurement of the concentration or activity of factors and inhibitors of clotting and lysis	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Measurement of clotting time; enzyme-linked immunosorbent assay	Determination of the concentration and activity of proteins of the clotting and lysis system
TAT III complex, F1+2, SFM complexes, D-dimer	+	-	-	-	-	(+)	-	-	(+)	-	Enzyme-linked immunosorbent assay	Evaluation of clotting activation, D-dimer is used to exclude venous thromboembolism

Note. Plus (+) means "yes", minus (-) – "no", the signs in brackets indicate the principal possibility of such an application, which is not applied in practice. Tests are characterized, if possible, to take into account platelet adhesion and aggregation, the phase of fibrin clot growth initiation, the clot growth phase, the elastic properties of the clot, the ability to test fibrinolysis and the presence of blood flow in the test. Most of the materials are adapted from [2].

Основные тромбоцитарные глобальные анализы на основе адгезии включают PFA и различные проточные камеры. PFA оценивает первичный гемостаз *in vitro*, измеряя время, необходимое для того, чтобы цитратная кровь закрывала апертуру в мембране тестового картриджа, который покрыт различными агонистами тромбоцитов [11]. Однако прибор фокусируется на адгезии тромбоцитов, не оценивая эффективность свертывания крови. Считается, что этот анализ является хорошим показателем нормального гемостаза, связанного с тромбоцитами (чувствительность около 85 %), но его специфичность для аномалии в функции тромбоцитов плохая – только от 55 до 75 % [12]. Проточные камеры обычно представляют собой устройства с микроскопическими каналами, в которых с помощью видеомикроскопии наблюдается адгезия тромбоцитов к поверхности, покрытой активатором (как правило, коллагеном), в условиях физиологического потока крови [2].

Измерение контракции кровяного сгустка позволяет оценить способность тромбоцитов стягивать волокна фибрина в сгустке. Используют прямой способ измерения (оценка изменения объема сгустка или силы, развивающейся в сгустке в результате контракции) [13] и обратный (оценка вытесненного контрактирующим сгустком жидкости) [14]. Показатели теста зависят от количества тромбоцитов, их метаболизма, состояния гликопротеиновых рецепторов IIb/IIIa, концентрации фибриногена, а также могут говорить и повышении риска развития венозных тромбоэмболических осложнений [15].

Глобальные анализы плазменного гемостаза многочисленны и различаются по своему дизайну. Одним из способов характеристики образования сгустка является реометрия, которая имеет дополнительное преимущество, заключающееся в том, что она легко применяется в ЦК. ТЭГ/тромбоэластометрия служат наиболее ранними глобальными анализами гемостаза. В этих тестах образование сгустка и агрегация тромбоцитов оцениваются одновременно с использованием реометрии с вынужденными колебаниями. На сегодняшний день это единственные глобальные тесты, которые широко используются в клинической практике благодаря тому, что их можно применять «у постели больного» и время ожидания ответа составляет порядка 10–15 мин (в отличие от большинства исследований, требующих времени для приготовления плазмы крови). Однако эти тесты не лишены и недостатков. К основному из которых стоит отнести низкую чувствительность к прокоагулянтным нарушениям [16].

Генерация тромбина, изобретенная в ее нынешнем виде группой Хемкера из Маастрихтского университета [17], использует тромбиночувствительный флуорогенный субстрат для определения концен-

трации тромбина в зависимости от времени. Кривая обычно имеет характерную колоколообразную форму. Наиболее широко используются такие параметры, как эндогенный тромбиновый потенциал (площадь под кривой генерации тромбина) и максимальная концентрация тромбина (A_{max}). Корреляция этих параметров с клиническими проявлениями кровоточивости или тромбоза хорошо установлена, хотя проблемы стандартизации все еще присутствуют. В настоящее время существует множество модификаций генерации тромбина, включая несколько имеющихся в продаже версий. Генерация тромбина чувствительна к различным факторам гиперкоагуляции в зависимости от конструкции: включая чувствительность к факторам II, V, фибриногену, АТIII при высокой концентрации активатора (ТФ, 13,6 пМ); к фактору XII, фибриногену, антитромбину III (АТIII), ингибитору пути ТФ при низкой концентрации ТФ (1 пМ), а также факторам VIII и IX; к дефектам пути протеина С при добавлении тромбомодулина или активатора протеина С; к циркулирующему ТФ при проведении теста без активации; к липидам при проведении теста без добавления липидов [18]. Оценка лизиса сгустка и использование ЦК в настоящее время находятся за пределами доступных вариантов этого метода, хотя появились некоторые предварительные данные о генерации тромбина в ЦК [19].

Общий гемостатический потенциал основан на регистрации кривой светопропускания от фибринового сгустка, образующегося в СТП. При этом активацию свертывания проводят с помощью добавления тромбина. Для определения общего фибринолитического потенциала дополнительно добавляют небольшое количество тканевого активатора плазминогена. Показана чувствительность данного метода к некоторым гипер- и гипокоагуляционным состояниям и лечению антикоагулянтами [20].

Тромбодинамика с помощью видеомикроскопии позволяет регистрировать образование фибринового сгустка, инициированного иммобилизованным на поверхности ТФ [21]. При этом сгусток первоначально формируется на активирующей поверхности, а затем распространяется в плазме. Такой подход позволяет учитывать пространственную гетерогенность свертывания крови *in vivo*; другими словами – тот факт, что начало и распространение свертывания происходят в пространственно-разделенных областях [10]. Этот тест показал высокую чувствительность к гипо- и гиперкоагулянтным нарушениям, а также к терапии антикоагулянтами [22–24]. Скорость роста сгустка в пространстве указывает на общий прокоагулянтный потенциал, тогда как формирование не зависящих от активатора центров самопроизвольного свертывания крови может указывать на наличие микрочастиц и долгоживущих активированных факторов свер-

тивания, таких как активированный фактор IX [18]. Возможность такого разделения причин гиперкоагуляции достигается за счет разделения фаз активации и распространения сгустка [25]. Модификация этого теста (тромбодинамика-4D) позволяет наравне с регистрацией фибрина проводить также регистрацию генерации тромбина [26]. Этот тест пригоден для работы с БТП и чувствителен к снижению концентрации тромбоцитов и нарушению их функции [3].

Индивидуальные тесты

В эту категорию попадают тесты, определяющие индивидуальные характеристики компонентов свертывания.

Тромбоцитарный гемостаз характеризуется концентрацией тромбоцитов в крови. Сюда же можно отнести исследования с помощью проточной цитометрии, в которых определяется наличие тех или иных тромбоцитарных рецепторов (но не функциональная активность тромбоцитов в ответ на их стимуляцию) [5].

Типичный пример теста для плазменного гемостаза – определение активности белков свертывающей системы (по измерению времени свертывания) или их концентрации (с помощью ИФА). Определение мультимеров фактора фон Виллебранда, активности расщепляющей фактор фон Виллебранда протеиназы (ADAMTS13) и многие другие специфические тесты также относятся к этой категории.

В целом эти дифференциальные методы могут идентифицировать специфические проблемы (и поэтому необходимы при исследовании изолированных наследственных нарушений гемостаза), но не дают общей картины работы системы гемостаза и существенно ограничены, так как вся система настолько сложна и в ней столько компонентов, что невозможно оценить их итоговый эффект, измеряя все по отдельности.

Маркерные тесты

Это последняя категория тестов оценивает маркеры тромбообразования, которое уже произошло: D-димеры, ТАТ, промежуточные формы активированных белков. Эти анализы помогают диагностировать тромбозы и тромбоэмболии и могут прогнозировать будущие тромботические осложнения при определенных условиях [27]. Эти анализы обычно используют связывание специфических антител.

Общие нарушения свертывания и их терапия у детей с гемобластозами

Иммунодефицит и сепсис

Сепсис является одной из ведущих причин смертности детей с гемобластозами [28]. Практически у всех маленьких пациентов с гемобластомами наблюдаются осложнения бактериальной природы, обусловленные

в том числе внутрибольничной флорой. Основные причины развития септических осложнений у детей с гемобластомами: 1) применение цитостатических препаратов и высокодозной химиотерапии (ХТ); 2) трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК); 3) наличие катетера. Наиболее частым осложнением противоопухолевой терапии у детей, на фоне которой развивается сепсис, является нейтропения (снижение концентрации нейтрофилов ниже 1,5 тыс/мл).

Клинически значимые нарушения свертывания встречаются у 50–70 % пациентов с сепсисом, примерно у трети больных развивается ДВС-синдром [29]. Эти нарушения проявляются тромбоэмболиями либо отложениями фибрина в микроциркуляторном русле, которые становятся причиной возникновения полиорганной недостаточности.

Воспалительные реакции во время сепсиса сопровождаются активацией системы свертывания крови, подавлением антикоагулянтных механизмов и фибринолиза [30]. Активация свертывания тесно связана с иммунитетом. Предполагают, что образование фибриновых сгустков способствует локализации очага инфекции или инфекционных заболеваний [31]. Однако баланс системы свертывания при этом нарушается, и чрезмерная активация свертывания в совокупности с перечисленными выше фактами приводит к развитию ДВС-синдрома [32].

Активация свертывания при сепсисе идет по пути ТФ. В частности, в ходе воспаления под воздействием бактериальных токсинов, провоспалительных цитокинов и медиаторов воспаления происходит экспрессия ТФ на поверхности эндотелиальных клеток и мононуклеарных лейкоцитов [33]. Кроме того, под действием провоспалительных цитокинов фактора некроза опухоли и интерлейкина-6 эндотелиальные клетки экспрессируют и выделяют растворимый ТФ [34]; в крови увеличивается концентрация прокоагулянтных фосфолипидных микровезикул, несущих ТФ [33].

Одновременно с процессами усиления свертывания происходит ухудшение физиологических антикоагулянтных механизмов [35] за счет увеличенного потребления естественных антикоагулянтов или нарушения механизмов их нормального функционирования [36]. Во время острого воспалительного ответа происходит значительное снижение уровня АТIII вследствие сильного его потребления (за счет образования неактивных ТАТ-комплексов), подавления синтеза и деградации нейтрофильной эластазы [37]. Кроме того, из-за уменьшения доступности на эндотелии глюкозаминогликанов (по причине воздействия провоспалительных цитокинов на синтез в эндотелиальных клетках), являющихся гепариноподобными кофакторами АТIII, активность последнего ослабляется [38]. Подобно АТIII в условиях воспаления при сепсисе уменьшается количество протеина С

вследствие ухудшения его синтеза и деградации нейтрофильной эластазой [38]. Нарушение нормальной функции эндотелия сказывается и на работе системы протеина С. Провоспалительные цитокины подавляют синтез тромбомодулина эндотелиальными клетками, что приводит к снижению активации протеина С [39]. Кроме того, повышение в крови активности компонента приводит к относительному увеличению количества связанного и уменьшению активного несвязанного протеина S [38]. Наконец, фагоцитарные ферменты могут отщеплять тромбомодулин от эндотелиальной поверхности. Он появляется в свободной циркуляции, но его активность в этих условиях значительно ниже, чем у тромбомодулина, фиксированного на мембране. Процессы лизиса сгустка также ослаблены в основном за счет дисбаланса между концентрацией активных ферментов и их ингибиторов [40].

Белки системы свертывания, в свою очередь, оказывают воздействие на процесс воспаления. Одним из наиболее важных механизмов этого взаимодействия является связывание факторов свертывания с PAR-рецепторами (рецепторами, активируемыми протеиназами) на клетках эндотелия, моноцитов и других клетках и, как следствие, усиление воспалительного ответа, в частности за счет усиления экспрессии этими клетками провоспалительных цитокинов [38]. С другой стороны, АТIII и протеин С обладают выраженными противовоспалительными свойствами [41].

Описанное выше смещение равновесия в гемостатическом балансе может привести к развитию ДВС-синдрома. ДВС-синдром – это вторичное явление, следствие основного патологического процесса, способствующего активации системы свертывания крови и генерации тромбина в результате поступления в кровь или образования в ней веществ, запускающих свертывание крови. При развитии ДВС-синдрома происходят отложение фибрина в микрососудистом русле и развитие блокады микроциркуляции в органах, гипоксии, дистрофии и глубокой дисфункции этих органов вплоть до полиорганной недостаточности. Эти нарушения сопровождаются интоксикацией организма продуктами тканевого распада и развитием тяжелого тромбогеморрагического синдрома [42]. По мере потребления факторов свертывания и тромбоцитов это приводит к возникновению кровотечений вследствие истощения плазменных протеолитических систем, потребления физиологических антикоагулянтов и факторов свертывания крови [43].

В развитии ДВС-синдрома выделяют 3 фазы: 1) гиперкоагуляционный синдром, 2) гиперкоагуляционная фаза острого ДВС-синдрома и 3) гипокоагуляционная фаза острого ДВС-синдрома. Под гиперкоагуляционным синдромом понимают повышенную готовность к свертыванию в отсутствие тромбоза [44]. При гиперкоагуляционном синдроме любое повреждение

сосудов может привести к массивному свертыванию. Гиперкоагуляционная фаза ДВС характеризуется тотальными стазами и свертыванием крови, образованием множественных сгустков фибрина. При развитии этого процесса происходит ширококомасштабное тромбирование сосудов, ведущее к полиорганной недостаточности. В гипокоагуляционной фазе вследствие массового формирования фибрина происходит истощение запасов ключевых факторов свертывания и тромбоцитов, развивается коагулопатия потребления. Эта фаза характеризуется выраженной полиорганной недостаточностью, несвертываемостью крови с признаками диффузной кровоточивости и лабораторными признаками сильной гипокоагуляции [45].

Диагностика ДВС-синдрома основана прежде всего на анализе существующей ситуации с учетом всех возможных условий и видов патологии (в том числе критических состояний), при которых вероятно развитие этого синдрома, учете его клинических проявлений и данных лабораторного обследования пациентов [46]. Каждый из этих подходов имеет самостоятельное значение и все они взаимно дополняют друг друга. В зависимости от стадии развития ДВС меняются лабораторные показатели, характеризующие состояние гиперкоагуляции и внутрисосудистого свертывания.

Общие скрининговые тесты системы свертывания крови имеют малую диагностическую ценность при ДВС-синдроме [47]. АЧТВ и ПВ плохо отражают реальное состояние гемостаза *in vivo* во время развития ДВС-синдрома и практически не чувствительны к гиперкоагуляции [48]. Время свертывания зачастую удлинено при сепсисе из-за снижения концентрации факторов свертывания вследствие их потребления [49] либо значения колеблются в области нормальных величин.

При сепсисе значительно увеличивается содержание в крови продуктов гиперактивации плазменного гемостаза – F1+2, D-димеров, РФМК, фибринопептида А, ТАТ-комплекса [50]. В ряде случаев при ДВС определяется снижение уровня физиологических антикоагулянтов – АТIII, протеинов С и S и плазминогена [14]. Общей чертой этих тестов является неспецифичность – они могут проявляться не только в стадии гиперкоагуляции при ДВС-синдроме, но и при тромбообразовании, массивной тромболитической терапии и ряде других патологий. Эти маркеры лишь подтверждают клинические проявления нарушения свертывания при сепсисе и септическом шоке, но не в состоянии предсказать динамику развития этого процесса на более ранних стадиях воспалительного ответа. Кроме того, так как во время проведения ХТ концентрация D-димеров часто бывает повышена еще до развития сепсиса, то этот показатель не всегда информативен в диагностике. Также возможные при сепсисе нарушения лизиса сгустка не дают исключить развитие тромбоза при нормальной концентрации D-димеров [40].

Что касается глобальных тестов гемостаза, данные ТЭГ показывают, что при сепсисе пролонгируется фаза активации свертывания в сочетании с последующей нормальной либо ускоренной фазой образования сгустка. Гипокоагуляция, согласно ТЭГ, чаще наблюдается у пациентов с ДВС-синдромом [51]. Кроме этого, ТЭГ позволяет выявить группу пациентов с тромбоцитопенией и более неблагоприятным прогнозом исхода при сепсисе [40]. Однако имеются исследования, в которых показано, что у больных с тяжелым сепсисом, несмотря на активацию свертывания, не выявляются изменения в тромбоэластограмме [52]. Тест генерации тромбина отражает гиперкоагуляционные нарушения при ДВС-синдроме [53]. Тромбодинамика позволила выявить как стадию гиперкоагуляции по увеличению скорости роста сгустка (что согласуется с последующим развитием тромбоза или резким увеличением концентрации D-димеров), так и гипокоагуляционную стадию, сопровождающуюся резким падением скорости роста сгустка с последующим летальным исходом у пациентов [22].

Таким образом, на сегодняшний момент диагностика ДВС, особенно на I стадии гиперкоагуляционного синдрома, осложняется тем, что стандартные коагулологические тесты являются малочувствительными к гиперкоагуляционным изменениям в состоянии гемостаза, а специфические маркеры гиперкоагуляции позволяют лишь уточнить тяжесть и этап развития данного синдрома. При этом для понимания направления развития процесса необходимо длительное наблюдение за динамикой многих лабораторных маркеров, так как по отдельности они обладают низкой специфичностью. Однако на практике лабораторные тесты играют лишь вспомогательную роль в постановке диагноза ДВС-синдрома.

Снижение концентрации и функции тромбоцитов

Тромбоцитопения и нарушения функции тромбоцитов широко распространены при гемобластозах, в том числе у детей, и являются ведущей причиной кровотечений и кровоизлияний. При самых распространенных педиатрических нозологиях, таких как острый лимфобластный (ОЛЛ) и острый миелобластный (ОМЛ) лейкозы, вклад кровоизлияний (преимущественно внутричерепных и легочных) в структуру смертности на определенных стадиях заболевания составляет 50–70 % [54]. Нарушения количества и качества тромбоцитов не являются единственной причиной и однозначным предиктором кровотечений: гиперлейкоцитоз, гиперфибринолиз, коагулопатия, повреждение тканей (также по причине основного заболевания, инфекции, воспаления или ХТ), последствия неудачной ТГСК могут независимо способствовать разным типам кровоизлияний. Однако нормальная функция тромбоцитов считается основой гемостатической без-

опасности, а ее снижение — критическим фактором риска.

Тромбоцитопения как следствие основного заболевания широко распространена в первую очередь при ОЛЛ и ОМЛ. Она считается обусловленной инфильтрацией костного мозга, но также может быть связана со спленомегалией, системной активацией свертывания, аутоиммунной реакцией и другими механизмами. При хроническом лимфобластном лейкозе (ХЛЛ) она выражена слабее, при хроническом миелобластном лейкозе (ХМЛ) уровень тромбоцитов повышен (как, естественно, при эссенциальном тромбоцитозе и истинной полицитемии), при лимфомах может проявляться с разной вероятностью в зависимости от их типа.

Тромбоцитопения, связанная с ХТ, характерна для многих препаратов. Предположительно, основным механизмом ее развития является миелосупрессия, но для разных препаратов существенный вклад могут вносить аутоиммунные механизмы, увеличенное потребление в селезенке за счет гепатотоксичности, прямые эффекты на производство тромбоцитов или индукция у них апоптоза. Распространенность и тяжесть тромбоцитопении могут варьировать в широких пределах в зависимости от заболевания, препарата и схемы терапии. Комбинация нескольких препаратов, повышение их концентрации или сочетание препаратов с лучевой терапией обычно склонны усиливать степень тромбоцитопении. Классическим примером химиотерапевтически индуцированной тромбоцитопении является фаза индукции при терапии ОМЛ, когда тромбоцитопения возникает практически обязательно.

Дисфункция тромбоцитов считается второй по значимости после тромбоцитопении причиной кровоизлияний, хотя она изучена достаточно плохо. Предполагается, что она особенно актуальна для миелолиферативных заболеваний [55]. Парадоксальным образом в первую очередь она выявлена при эссенциальном тромбоцитозе и истинной полицитемии: риски кровотечений могут превышать риски тромбозов, несмотря на огромные концентрации тромбоцитов.

Влияние ХТ на функцию тромбоцитов (за исключением прямой цитотоксичности) также изучено заметно хуже, чем их способность вызывать тромбоцитопению. Можно предположить, что это связано с плохим пониманием того, что собой представляет функция тромбоцитов, а также с малой применимостью теста агрегации при комбинации дисфункции и тромбоцитопении. Однако тут также есть яркие исключения: например, препарат нового поколения ибрутиниб, используемый для терапии лимфолиферативных заболеваний, вызывает кровоизлияния у 50 % пациентов именно из-за нарушения ответа тромбоцитов на коллаген [56]. Пока этот препарат одобрен к применению по ряду показаний только

у взрослых, но клинические испытания для детей уже находятся в III фазе (идентификационный номер клинического испытания NCT02703272).

Катетеризация

Центральный венозный доступ в современном мире является важной частью терапии и периоперационных манипуляций у детей и новорожденных, перенесших хирургическое вмешательство, требующих парентерального питания или же имеющих необходимость в длительной терапии с введением лекарств внутривенно. Важным аспектом успешной катетеризации у этой популяции пациентов является знание техник установки венозных линий, а также о возможных осложнениях при манипуляции с катетерами. Несмотря на стандартизированный подход, врачи до сих пор сталкиваются с трудностями и осложнениями, связанными с катетеризацией пациентов детского возраста [57].

Наиболее распространенными точками постановки катетера являются доступ через бедренную вену, внутреннюю яремную вену и подключичную вену. Кроме того, у новорожденных имеются возможности для периферийного доступа с длинным силиконовым катетером через кубитальную или подкожную вену. В ситуациях с чрезвычайно сложным венозным доступом (очень часто после нескольких предыдущих центральных венозных катетеров в одной точке и последующего тромбоза) дополнительно возможны трансгепатический доступ и прямое введение правого предсердного катетера во время операции, однако эти методы не используются для долгосрочного стояния катетера. Преимуществом подключичного доступа остаются хорошая фиксация, простота обслуживания и использования и меньшая степень инфицирования, по крайней мере, у детей старшего возраста [1].

Проблемы с центральными венозными катетерами (ЦВК) различны, это трудности и осложнения при постановке катетера, а также проблемы с его обслуживанием: связанная с катетером инфекция/сепсис, тромбоз центральной вены, обструкция катетера, механические повреждения во время постановки ЦВК [58].

Инфекционные осложнения часты и в основном связаны с продолжительностью времени стояния катетера, более ранним возрастом пациентов, использованием проволочных проводников при репозиционировании или замене ЦВК, а также с нарушениями техники обработки и обслуживания постоянного катетера. Приверженность строгим протоколам обслуживания ЦВК сокращает количество инфекций. Стерильная катетеризация является одной из главных предпосылок для предотвращения катетер-ассоциированных инфекций [59].

У детей и новорожденных выбор точки доступа, по-видимому, не влияет на уровень инфицирования в отличие от взрослых, у которых, как сообщается,

влагалищные катетеры имеют наименьший риск заражения. Антибактериальная профилактика все еще остается спорным методом для предотвращения инфекций и сепсиса, ассоциированных с ЦВК. Исходя из последних исследований, непрерывная антибиотикопрофилактика не относится к основным рекомендациям по предупреждению катетер-ассоциированных инфекций, но все равно часто практикуется. Подкожное туннелирование для профилактики осложнений, связанных с ЦВК, рекомендуется при долгосрочном использовании катетеров и снижает риск инфекций. В среднем осложнения инфекционного характера возникают в 5–26 % случаев [59].

Многие венозные катетер-ассоциированные тромбозы остаются субклиническими, поэтому их процент в литературе сильно различается. В некоторых центрах и госпиталях проводится рутинное ультразвуковое исследование места стояния катетера, другие же учитывают только клинические признаки тромбоза. Тромбоз связан с множественными попытками введения катетера, большими катетерами и конкретными заболеваниями, например у пациента со злокачественным заболеванием риск тромбоза при катетеризации считается повышенным по сравнению с пациентами без злокачественного заболевания. Риск тромбоза повышается с увеличением продолжительности стояния венозных катетеров. Вливание гепарина, по-видимому, продлевает использование периферических ЦВК у детей и новорожденных, но точные рекомендации по использованию гепаринового замка катетера, стоящего в крупной центральной вене, на основании существующих исследований все еще не могут быть сделаны. Сообщается, что следует учитывать потенциальный риск развития гепарин-индуцированной тромбоцитопении, даже если он очень низок у детей. Промывание катетера с урокиназой или альтеплазой является обычной практикой, если ток через катетер затруднен. Катетеры, покрытые гепарином, также имеют преимущество, но они намного дороже и при этом исключается забор крови из катетера на некоторые анализы, чувствительные к гепарину. В среднем осложнения, связанные с катетер-ассоциированными тромбозами, по разным данным, составляют от 2 до 40 % [58].

Использование ЦВК является причиной 2/3 всех тромбозов при лейкозах у детей. Несмотря на то, что большинство из них протекает бессимптомно, они опасны развитием повторных тромботических эпизодов, которые случаются у 4–19 % больных. Тромбоз в системе центральных вен опасен из-за возможности тромбоэмболии легочной артерии – возникает у 8–15 % больных [60]. На данном этапе у детей с острыми лейкозами в рутинной практике не рекомендуется профилактика тромботических осложнений с помощью антикоагулянтной терапии, так как она может повысить токсичность лечения.

Заключение

Патогенез нарушений гемостаза у пациентов с гемобластомами носит сложный характер, поскольку помимо тромбгеморрагических осложнений вследствие самого заболевания, агрессивность применяемой терапии, наличие большого количества сопутствующих осложнений, которые сами по себе влияют на гемостаз, а также необходимость многочисленных инвазивных манипуляций вносят существенный вклад в риск развития тромбозов и кровотечений у таких пациентов.

Общее несовершенство стандартных методов лабораторной диагностики системы гемостаза также затрудняет предикцию (а, следовательно, своевременную профилактику) тромбгеморрагических осложнений. Тесты, входящие в современную коагулограмму, предназначены для оценки концентраций отдельных белков и функционирования отдельных компонентов системы гемостаза и никак не оценивают баланс между ее прокоагулянтными и антикоагулянтными составляющими. Появление новых чувствительных методов оценки гемостаза позволяет думать, что уже сегодня существующая стандартная панель тестов коагулограммы может быть дополнена и является гораздо более информативной.

Благодарности

Авторы выражают благодарность врачу-гематологу и административному коллективу ФГБУ «Национальный

медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России за содействие в организации и проведении научных исследований, результаты которых упомянуты в данном обзоре.

Конфликт интересов/Conflict of interests

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование/Financing

Работа Ф.И. Атауллаханова была поддержана грантом Российского научного фонда № 16-14-00224, работа А.Н. Баландиной и Е.М. Кольцовой была поддержана грантом президента для молодых ученых МК-913.2017.4 и грантом Российского научного фонда № 17-74-10224, работа М.А. Пантелеева была поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 17-04-01309.

The research of F.I. Ataulakhanov was supported by a grant from the Russian Science Foundation No. 16-14-00224, the research of A.N. Balandina and E.M. Koltsova was supported by a grant from the President for young scientists MK-913.2017.4 and a grant from the Russian Science Foundation No. 17-74-10224, the research of M.A. Panteleev was supported by a grant from the Russian Foundation for Basic Research No. 17-04-01309.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Karapinar B., Cura A. Complications of central venous catheterization in critically ill children. *Pediatr Int* 2007;49(5):593–9. doi: 10.1111/j.1442-200X.2007.02407.x.
- Tynngård N., Lindahl T.L., Ramström S. Assays of different aspects of haemostasis - what do they measure? *Thromb J* 2015;13:8. doi: 10.1186/s12959-015-0036-2.
- Кольцова Е.М., Баландина А.Н., Дёмина И.А. 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(2):32–9. doi: 10.20953/1726-1708-2016-2-32-39. [Koltsova E.M., Balandina A.N., Demina I.A. et al. The use of a spatial thrombin generation method for assessment of platelet procoagulant activity after platelet concentrate transfusion in children. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii* = *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2016;15(2):32–9. (In Russ.)].
- Ataulakhanov F.I., Koltsova E.M., Balandina A.N. et al. Classic and Global Hemostasis Testing in Pregnancy and during Pregnancy Complications. *Semin Thromb Hemost* 2016;42(7):696–716. doi: 10.1055/s-0036-1592303.
- Panzer S., Jilma P. Methods for testing platelet function for transfusion medicine. *Vox Sang* 2011;101(1):1–9. doi: 10.1111/j.1423-0410.2011.01467.x.
- Жарков П.А., Дёмина И.А., Пантелеев М.А. Использование метода функциональной активности тромбоцитов для диагностики тромбоцитопатий у детей. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии* 2016;15(2):40–6. doi: 10.20953/1726-1708-2016-2-40-46. [Zharkov P.A., Demina I.A., Panteleev M.A. Use of a platelet functional activity technique for diagnosing paediatric thrombocytopathies. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii* = *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology* 2016;15(2):40–6. (In Russ.)].
- Suntsova E.V., Demina I.M., Ignatova A.A. et al. Bleeding tendency and platelet function during treatment with romiplostim in children with severe immune thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2017;105(6):841–8. doi: 10.1007/s12185-017-2207-3.
- Levy J.H., Szlam F., Wölberg A.S., Winkler A. Clinical use of the activated partial thromboplastin time and prothrombin time for screening: a review of the literature and current guidelines for testing. *Clin Lab Med* 2014;34(3):453–77. doi: 10.1016/j.cll.2014.06.005.
- Panteleev M.A., Hemker H.C. Global/integral assays in hemostasis diagnostics: promises, successes, problems and prospects. *Thromb J* 2015;13(1):5. doi: 10.1186/s12959-014-0032-y.
- Panteleev M.A., Dashkevich N.M., Ataulakhanov F.I. Hemostasis and thrombosis beyond biochemistry: roles of geometry, flow and diffusion. *Thromb Res* 2015;136(4):699–711. doi: 10.1016/j.thromres.2015.07.025.
- Vincelot A., Nathan N., Collet D. et al. Platelet function during pregnancy: An evaluation using the PFA-100 analyser. *Br J Anaesth* 2001;87(6):890–3. PMID: 11878692.
- Favaloro E.J. Internal quality control and external quality assurance of platelet function tests. *Semin Thromb Hemost*

- 2009;35(2):139–49.
doi: 10.1055/s-0029-1220322.
13. Tutwiler V., Litvinov R.I., Lozhkin A.P. et al. Kinetics and mechanics of clot contraction are governed by the molecular and cellular composition of the blood. *Blood* 2016;127(1):149–59. doi: 10.1182/blood-2015-05-647560.
14. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2008. [Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostics and controlled therapy of violations of a hemostasis. Moscow: N'yudiamed, 2008. (In Russ.)].
15. Tutwiler V., Peshkova A.D., Andrianova I.A. et al. Contraction of Blood Clots Is Impaired in Acute Ischemic Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017;37(2):271–9. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.308622.
16. Lancé M.D. A general review of major global coagulation assays: Thrombelastography, thrombin generation test and clot waveform analysis. *Thromb J* 2015;13:1. doi: 10.1186/1477-9560-13-1.
17. Hemker H.C., Wielders S., Kessels H., Béguin S. Continuous registration of thrombin generation in plasma, it's use for the determination of the thrombin potential. *Thromb Haemost* 1993;70(4):617–24. PMID: 7509511.
18. Lipets E.N., Ataullakhanov F.I. Global assays of hemostasis in the diagnostics of hypercoagulation and evaluation of thrombosis risk. *Thromb J* 2015;13(1):4. doi: 10.1186/s12959-015-0038-0.
19. Ninivaggi M., Apitz-Castro R., Dargaud Y. et al. Whole-blood thrombin generation monitored with a calibrated automated thrombogram-based assay. *Clin Chem* 2012;58(8):1252–9. doi: 10.1373/clinchem.2012.184077.
20. Antovic A. The overall hemostasis potential: a laboratory tool for the investigation of global hemostasis. *Semin Thromb Hemost* 2010;36(7):772–9. doi: 10.1055/s-0030-1265294.
21. Ovanesov M.V., Ananyeva N.M., Panteleev M.A. et al. Initiation and propagation of coagulation from tissue factor-bearing cell monolayers to plasma: Initiator cells do not regulate spatial growth rate. *J Thromb Haemost* 2005;3(2):321–31. doi: 10.1111/j.1538-7836.2005.01128.x.
22. Soshitova N.P., Karamzin S.S., Balandina A.N. et al. Predicting prothrombotic tendencies in sepsis using spatial clot growth dynamics. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2012;23(6):498–507. doi: 10.1097/MBC.0b013e328352e90e.
23. Koltsova E.M., Balandina A.N., Gri-schuk K.I. et al. The laboratory control of anticoagulant thromboprophylaxis during the early postpartum period after cesarean delivery. *J Perinat Med* 2018;46(3):251–60. doi: 10.1515/jpm-2016-0333.
24. Gracheva M.A., Urnova E.S., Sinauridze E.I. et al. Thromboelastography, thrombin generation test and thrombodynamics reveal hypercoagulability in patients with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2015;56(12):3418–25. doi: 10.3109/10428194.2015.1041385.
25. Parunov L.A., Soshitova N.P., Fadeeva O.A. et al. Drug-drug interaction of the anti-TFPI aptamer BAX499 and factor VIII: studies of spatial dynamics of fibrin clot formation in hemophilia A. *Thromb Res* 2014;133(1):112–9. doi: 10.1016/j.thromres.2013.10.036.
26. Dashkevich N.M., Ovanesov M.V., Balandina A.N. et al. Thrombin activity propagates in space during blood coagulation as an excitation wave. *Biophys J* 2012;103(10):2233–40. doi: 10.1016/j.bpj.2012.10.011.
27. Masuda M., Ueta T., Shiba K., Iwamoto Y. D-dimer screening for deep venous thrombosis in traumatic cervical spinal injuries. *Spine J* 2015;15(11):2338–44. doi: 10.1016/j.spinee.2015.06.060.
28. Tsai H.C., Huang L.M., Chang L.Y. et al. Central venous catheter-associated bloodstream infections in pediatric hematology-oncology patients and effectiveness of antimicrobial lock therapy. *J Microbiol Immunol Infect* 2015;48(6):639–46. doi: 10.1016/j.jmii.2014.07.008.
29. Wheeler A.P., Bernard G.R. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 1999;340(3):207–14. doi: 10.1056/NEJM199901213400307.
30. Esmon C.T., Fukudome K., Mather T. et al. Inflammation, sepsis, and coagulation. *Haematologica* 1999;84(3):254–9. PMID: 10189392.
31. McGilvray I.D., Rotstein O.D. Role of the coagulation system in the local and systemic inflammatory response. *World J Surg* 1998;22(2):179–86. PMID: 9451934.
32. Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation. *Hamostaseologie* 2010;30(1):10–2, 14–6. PMID: 20162247.
33. Schouten M., Wiersinga W.J., Levi M., van der Poll T. Inflammation, endothelium, coagulation in sepsis. *J Leukoc Biol* 2008;83(3):536–45.
34. Szotowski B., Antoniak S., Poller W. et al. Procoagulant soluble tissue factor is released from endothelial cells in response to inflammatory cytokines. *Circ Res* 2005;96(12):1233–9. doi: 10.1161/01.RES.0000171805.24799.f
35. Carey M.J., Rodgers G.M. Disseminated intravascular coagulation: clinical and laboratory aspects. *Am J Hematol* 1998;59(1):65–73. PMID: 9723580.
36. Jagneux T., Taylor D.E., Kantrow S.P. Coagulation in sepsis. *Am J Med Sci* 2004;328(4):196–204. PMID: 15486534.
37. Seitz R., Wolf M., Egbring R., Havemann K. The disturbance of hemostasis in septic shock: role of neutrophil elastase and thrombin, effects of antithrombin III and plasma substitution. *Eur J Haematol* 1989;43(1):22–8. PMID: 2788582.
38. Levi M., Marder V. Coagulation abnormalities in sepsis. In: Hemostasis and thrombosis: basic principles and clinical practice. Colman R.W., Clowes A.W., Goldhaber S.Z., Marder V.J., George J. (ed.). Philadelphia: Lippincott Company, 2006.
39. Nawroth P.P., Stern D.M. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1986;163(3):740–5. PMID: PMC2188058.
40. Semeraro F., Colucci M., Caironi P. et al. Platelet Drop and Fibrinolytic Shutdown in Patients With Sepsis. *Crit Care Med* 2018;46(3):e221–e8. doi: 10.1097/CCM.0000000000002919.
41. Esmon C.T. Role of coagulation inhibitors in inflammation. *Thromb Haemost* 2001;86(1):51–6.
42. Баркаган З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС-синдрома. *Материя Медика* 1997;1(13):5–14. [Barkagan Z.S. Pathogenesis, diagnosis and principles of therapy of DIC syndrome. *Materia Medica* = *Materia Medica* 1997;1(13):5–14. (In Russ.)].
43. Levi M., Opal S.M. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Crit Care* 2006;10(4):222. doi: 10.1186/cc4975.
44. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулушко Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. 178 с. [Vorobyov A.I., Gorodetsky V.M., Shulutko E.M., Vasilyev S.A. Acute massive hemorrhage. Moscow: GEOTAR-MED, 2001. 178 p. (In Russ.)].
45. Пантелеев М.А., Васильев С.А., Синауридзе Е.И. и др. Практическая коагулология. М.: Практическая медицина, 2011. [Panteleev M.A., Vasilyev S.A., Sinauridze E.I. et al. Practical coagulology. Moscow: Prakticheskaya meditsina, 2011. (In Russ.)].
46. Васильев С.А., Воробьев А.И., Городецкий В.М. Протокол диагностики и лечения острого ДВС-синдрома. Проблемы гематологии и переливания крови 1999;3:40–4. [Vasilyev S.A., Vorobyov A.I., Gorodetsky V.M. Protocol for diagnosis and treatment of acute DIC syndrome. *Problemy gematologii i perelivaniya krovi* = *Problems of Hematology and Blood Transfusion* 1999;3:40–4. (In Russ.)].
47. Colman R.W., Hirsh J., Marder V.J., Saltzman E. Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. Philadelphia: Lippincott Company, 2010.
48. Baglin T. Using the laboratory to predict recurrent venous thrombosis. *Int J Lab Hematol* 2011;33(4):333–42. doi: 10.1111/j.1751-553X.2011.01345.x.
49. Collins P.W., Macchiavello L.I., Lewis S.J. et al. Global tests of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls. *Br J Haematol* 2006;135(2):220–7. doi: 10.1111/j.1365-2141.2006.06281.x.
50. Kinasewitz G.T., Yan S.B., Basson B. et al.; PROWESS Sepsis Study Group. Uni-

versal changes in biomarkers of coagulation and inflammation occur in patients with severe sepsis, regardless of causative micro-organism [ISRCTN74215569]. Crit Care 2004;8(2):R82–90. doi: 10.1186/cc2459.

51. Daudel F., Kessler U., Folly H. et al. Thromboelastometry for the assessment of coagulation abnormalities in early and established adult sepsis: a prospective cohort study. Crit Care 2009;13(2):R42. doi: 10.1186/cc7765.

52. Dhainaut J.F., Shorr A.F., Macias W.L. et al. Dynamic evolution of coagulopathy in the first day of severe sepsis: relationship with mortality and organ failure. Crit Care Med 2005;33(2):341–8. PMID: 15699837.

53. Seo J.W., Kim H.K., Kim J.E. et al. Prognostic values of the factor Xa-activated clotting time and endogenous thrombin potential

in patients suspected of having disseminated intravascular coagulation. Thromb Res 2009;123(4):565–72. doi: 10.1016/j.thromres.2008.03.017.

54. Athale U.H., Chan A.K. Hemorrhagic complications in pediatric hematologic malignancies. Semin Thromb Hemost 2007;33(4):408–15. doi: 10.1055/s-2007-976176.

55. Franchini M., Frattini F., Crestani S., Bonfanti C. Bleeding complications in patients with hematologic malignancies. Semin Thromb Hemost 2013;39(1):94–100. doi: 10.1055/s-0032-1331154.

56. Shatzel J.J., Olson S.R., Tao D.L. et al. Ibrutinib-associated bleeding: pathogenesis, management and risk reduction strategies. J Thromb Haemost 2017;15(5):835–47. doi: 10.1111/jth.13651.

57. Church J.T., Jarboe M.D. Vascular Access in the Pediatric Population. Surg Clin North Am 2017;97(1):113–28. doi: 10.1016/j.suc.2016.08.007.

58. Jaffray J., Bauman M., Massicotte P. The Impact of Central Venous Catheters on Pediatric Venous Thromboembolism. Front Pediatr 2017;5:5. doi: 10.3389/fped.2017.00005.

59. Merrer J., De Jonghe B., Golliot F. et al.; French Catheter Study Group in Intensive Care. Complications of femoral and subclavian venous catheterization in critically ill patients: a randomized controlled trial. JAMA 2001;286(6):700–7. PMID: 11495620.

60. Payne J.H., Vora A.J. Thrombosis and acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 2007;138(4):430–45. doi: 10.1111/j.1365-2141.2007.06677.x.

Статья поступила в редакцию: 02.05.2018. Принята в печать: 31.07.2018.
Article was received by the editorial staff: 02.05.2018. Accepted for publication: 31.07.2018.

РЖДГО |

Подписка на журнал для стран СНГ

Уважаемые коллеги, появилась возможность оформить **ПЛАТНУЮ** подписку на «Российский журнал детской гематологии и онкологии» (РЖДГО) для стран ближнего зарубежья и СНГ!

Вы можете воспользоваться любым удобным ресурсом для онлайн-оформления данной услуги:

- www.pressa-rf.ru — официальный сайт объединенного каталога «Пресса России»;

- www.press-med.ru — интернет-магазин медицинских книг и профессиональной периодики для врачей;
- <https://www.akc.ru> — агентство по распространению зарубежных изданий.

Или прийти в любое почтовое отделение Почты России и оформить подписку по каталогу «Пресса России». Индекс издания — 93505.