

КОАГУЛОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.12-007.1-053.1-07:616.151.5-073.97

Леонов Н.П.¹, Караськов А.М.¹, Литасова Е.Е.¹, Струнин О.В.¹, Кармадонова Н.А.¹, Акопов Г.Д.²,
Вышегородцева Л.И.²

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАОЛИН-АКТИВИРОВАННОЙ ТРОМБОЭЛАСТОГРАФИИ У ЗДОРОВЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ И НОВОРОЖДЕННЫХ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

¹ФГБУ ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина Минздрава РФ, 630055, г. Новосибирск; ²ГБУЗ Новосибирской области «Родильный дом № 6»; Россия, 630048, г. Новосибирск, Российская Федерация

Исследование посвящено выделению референтных значений для каолин-активированной тромбоэластографии (ТЭГ) у новорожденных с врожденными пороками сердца (ВПС). В исследование включены 2 группы пациентов: первая – 62 новорожденных с ВПС и вторая – 35 здоровых новорожденных. Результаты проведенной каолин-активированной ТЭГ в группах оцениваются нами как состояние нормокоагуляции. Значимых различий системы гемостаза у здоровых новорожденных и новорожденных с ВПС (без тяжелой сопутствующей патологии) не выявлено. Они имеют сходные показатели каолин-активированной ТЭГ. Полученные результаты могут быть использованы как нормативные у доношенных новорожденных с ВПС.

Ключевые слова: каолин-активированная тромбоэластография; новорожденные; врожденные пороки сердца.

Для цитирования: Леонов Н.П., Караськов А.М., Литасова Е.Е., Струнин О.В., Кармадонова Н.А., Акопов Г.Д., Вышегородцева Л.И. Сравнительная характеристика каолин-активированной тромбоэластографии у здоровых новорожденных и новорожденных с врожденными пороками сердца. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (2): 87-90.
DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-2-87-90.

Leonov N.P.¹, Karas'kov A.M.¹, Litasova E.E.¹, Strunin O.V.¹, Karmadonova N.A.¹, Akopov G.D.², Vishegorodtseva L.I.²

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF KAOLIN-ACTIVATED THROMBOELASTOGRAPHY IN HEALTHY NEWBORNS AND NEWBORNS WITH HEART AILMENTS.

¹The E.N. Meshalkin research institute of pathology of blood circulation of Minzdrav of Russia, 630055 Novosibirsk, Russia;

²The Novosibirsk oblast maternity hospital № 6, 630048 Novosibirsk, Russia

The study was carried out to differentiate reference values for kaolin-activated thromboelastography in newborns with congenital heart disease. The study included two groups of patients. The first one consisted of 62 newborns with congenital heart disease and the second one consisted of 35 healthy newborns. The results of kaolin-activated thromboelastography implemented in groups are evaluated as condition of normal coagulation. The valuable differences of homeostasis system in healthy newborns and newborns with congenital heart disease (without severe concomitant pathology) are not established. They have similar indicators of kaolin-activated thromboelastography. The derived results can be applied as standards in full-term newborns with congenital heart disease.

Keywords: kaolin-activated thromboelastography; newborn; congenital heart disease

For citation: Leonov N.P., Karas'kov A.M., Litasova E.E., Strunin O.V., Karmadonova N.A., Akopov G.D., Vishegorodtseva L.I. The comparative characteristic of kaolin-activated thromboelastography in healthy newborns and newborns with heart ailments. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2016; 61 (2): 87-90. (in Russ.)

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-2-87-90.

For correspondence: Leonov N.P., physician of department of anesthesiology and reanimation. E-mail: NikoLeonov@yandex.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Financing. The study had no sponsor support.

Received 30.05.15

Accepted 15.12.15

Введение. В настоящее время отсутствует единый подход к оценке состояния гемостаза у детей раннего возраста и особенно новорожденных. Шаблонное назначение всем

большим «общей коагулограммы» имеет низкую, ограниченную диагностическую ценность. Это тем более важно, что при распознавании важнейших видов кровоточивости и повышенного тромбообразования, а также осуществлении контроля действия гемостатических препаратов либо антикоагулянтов должны быть использованы принципиально разные методические подходы к назначению лабораторных тестов

Для корреспонденции: Леонов Николай Петрович, врач отделения анестезиологии и реанимации, NikoLeonov@ya.ru

[1]. На данный момент альтернативным, скрининговым и эффективным методом диагностики нарушений системы гемостаза является тромбозастиграфия (ТЭГ). Этот метод позволяет мониторировать систему гемостаза пациента путем измерения плотности сгустка, его размеров и стабильности. Преимущество этого метода диагностики заключается в интегральной оценке системы гемостаза, быстроте получения документированного результата непосредственно у постели больного, возможности оценить действие антикоагулянтов и антиагрегантов, а также в использовании минимальных объемов крови для получения всех необходимых характеристик системы гемостаза. В научной литературе описаны многочисленные успехи применения ТЭГ у взрослых больных в кардиохирургии [2–4], у больных на экстракорпоральной поддержке [5, 6], в травматологии [7, 8], при пересадке печени [9], в нейрохирургии [10] и гематологии [11]. Сомнений в применимости уже выработанных референтных интервалов у взрослых нет. Однако работ, посвященных применению ТЭГ у новорожденных и детей раннего возраста, немного [4, 5]. Также остается мало изученным вопрос правильной оценки показателей ТЭГ у новорожденных с врожденными пороками сердца (ВПС) и применимости к данным группам референтных интервалов, полученных у здоровых новорожденных, особенно при использовании активаторов свертывания, таких как каолин и тканевой фактор [12–15]. Показатели нативной ТЭГ значительно отличаются от значений, полученных при проведении каолинактивированной ТЭГ [14], что существенно при интерпретации результатов исследования особенно у новорожденных.

Материалы и методы. Целью нашего исследования было выделение референтных значений для каолин-активированной ТЭГ у новорожденных с ВПС. Было спланировано проспективное наблюдательное исследование, которое выполнено в период с января 2013 г. по декабрь 2014 г. в Новосибирске. Были выделены 2 группы пациентов. Первая группа – это новорожденные с ВПС в предоперационном периоде, поступившие на оперативное лечение в ФГБУ ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина. Вторая группа – здоровые доношенные новорожденные из ГБУЗ Новосибирской области «Родильный дом № 6». Перед началом исследования было получено разрешение этического комитета института, а перед включением пациентов в исследование – согласие родителей пациентов на участие в исследовании. Критериями включения были: период новорожденности (возраст до 28 дней), масса тела более 2,5 кг, длина тела более 45 см, роды после 38-й недели гестации, оценка по шкале Апгар на 5-й минуте более 7 баллов, шкале Даунса менее 4 баллов. Критериями исключения были: наличие гематологической, почечной, печеночной, активной инфекционной патологии; шоковые состояния; ИВЛ более 1 сут; применение гемостатических препаратов и антикоагулянтов, а также НПВС. Забор 1 мл крови производили из центрального (пупочного, подключичного, яремного) катетера. В дальнейшем всем участникам исследования была выполнена каолинактивированная ТЭГ на аппарате TEG 5000 фирмы Haemoscore Corporation. Использовались стандартная методика (при температуре 37°C) и стандартные реактивы (Medtel; for Hemoscope Corp.). В сравнительное исследование включены следующие показатели ТЭГ: интервал R (время до начала образования фибрина); интервал K и угол-альфа (отражают процессы взаимодействия тромбоцитов и фибриногена, образования фибрина); максимальная амплитуда – МА (отражает максимальную прочность сгустка – показатель тромбоцитарной функции и прочности фибрина); коагуляционный индекс – CI (вычисляемый параметр, объединяющий предшествующие четыре измерения); процент фибринолиза в течение 30 мин (Ly30). Статистическая обработка была проведена с использованием программы

Statistica-8. Для описания полученных данных использованы медиана, 25% и 75% процентиля. Для оценки различий между группами использован критерий Манна–Уитни, так как данные имели асимметричное распределение. Для проверки полученных результатов мы предположили, что данные могут иметь нормальное распределение и использовали *t*-критерий для двух независимых выборок [16]. Результаты признаны статистически значимыми, если $p < 0,05$.

Результаты. В первую группу (группа новорожденных с ВПС) вошли 78 пациентов. В ходе исследования из этой группы были исключены 16 новорожденных: у 10 инфекционный синдром (у 3 позже развилась тяжелая TORCH-инфекция; у 7 при поступлении бактериологическими методами были выделены внутрибольничные штаммы микроорганизмов); у 2 геморрагическая болезнь новорожденных; у 4 детей обнаружена тромбоцитопения при поступлении в клинику института. Во вторую группу (здоровые новорожденные) вошли 48 пациентов. В ходе исследования из этой группы были исключены 13 новорожденных: 3 с геморрагической болезнью новорожденных, 6 детей с TORCH-инфекцией, позже развившейся в тяжелое заболевание, и у 4 пациентов выявлена тромбоцитопения.

Результаты сбора и обработки демографических данных пациентов групп исследования представлены в табл. 1.

Для оценки различий между группами по уровню демографических признаков использован тест Манна–Уитни. Выявлены достоверные различия в группах по возрастному критерию ($p = 0,005$). Такие результаты объясняются тем, что новорожденные с ВПС поступают в ФГБУ ННИИПК из родильных домов не сразу после рождения, а в течение полутора недель жизни. Это дети с дуктусзависимым кровообращением, которые требуют неотложного оперативного лечения в периоде новорожденности. Нозологическая характеристика пациентов первой группы была следующей: атрезия/критический стеноз легочной артерии ($n = 17$), синдром гипоплазии левых отделов сердца ($n = 7$), коарктация (атрезия/гипоплазия дуги) аорты ($n = 7$), клапанный стеноз аорты ($n = 1$), транспозиция магистральных сосудов ($n = 29$), перерыв дуги аорты ($n = 1$).

Результаты статистической обработки данных каолин-активированной ТЭГ в группах исследования оцениваются нами как состояние нормокоагуляции (табл. 2).

Таблица 1

Демографические данные новорожденных, включенных в исследование

Показатель	Группа 1 ($n = 62$)	Группа 2 ($n = 35$)
Возраст гестации при рождении, нед	39 (38; 40)	39 (38; 40)
Пол		
мужской/женский, %	55/45	60/40
Родоразрешение		
естественное/кесарево сечение, %	53/47	71/29
Раса		
монголоиды/европеоиды, %	71/29	77/23
Масса тела, г	3425 (2963; 3600)	3080 (2875; 3325)
Рост, см	51 (50; 52)	50 (49; 52)
Возраст на момент взятия пробы, сут	7 (5; 10)*	3 (1; 3)*

Примечание. * – $p < 0,05$ – выявлены значимые различия между группами.

Таблица 2

Показатели каолинактивированной ТЭГ у новорожденных в группах исследования

Показатель	Группа 1 (ВПС), n = 62	Группа 2 (здоровые), n = 35
R	6,8 (5,45; 7,6)	6,1 (5,8; 6,9)
K	1,8 (1,43; 2,2)	1,7 (1,4; 2)
Угол-альфа	63,45 (58,1; 69,6)	66,3 (56,1; 68,7)
МА	62,95 (59,8; 67,6)	63,1 (60,35; 65,5)
CI	-0,4 (-1,9; 1,1)	1,2 (-1,15; 1,8)
Ly30	0,45 (0; 1,45)	0 (0; 0,5)

Оценка различий между группами по показателям ТЭГ проводилась с использованием теста Манна–Уитни. Не выявлено достоверных различий между исследуемыми показателями в группах. Таким образом, показатели каолинактивированной ТЭГ идентичны у здоровых новорожденных и у новорожденных с ВПС. С целью проверки результатов предположили, что данные могут иметь нормальное распределение, и оценили различие между группами по показателям ТЭГ, используя *t*-критерий для двух независимых выборок. Значимых различий обнаружено не было, что подтверждает правильность вывода об идентичности показателей ТЭГ в исследуемых группах.

Обсуждение. Клиническое применение ТЭГ у новорожденных детей с использованием активаторов свертывания, уменьшающих время получения документированного результата, является практически значимым особенно в кардиоанестезиологии в периперационном периоде, а также при использовании продленной механической поддержки (ЭКМО, EXCOR). Не менее важным является тот факт, что при использовании стандартных методов диагностики системы гемостаза (развернутая коагулограмма и агрегатограмма) необходимо забрать от 4 до 6 мл крови на одно исследование. В процессе диагностики и лечения пациентов с ВПС таких исследований может быть несколько. Таким образом, объем крови, взятый у новорожденных для лабораторных анализов, может составлять от 3 до 6% объема циркулирующей крови, что сопоставимо с донорской кроводачей у взрослого человека. При использовании ТЭГ объем крови, необходимый для выполнения одного исследования, составляет от 360 мкл до 1 мл, что значительно меньше и, по нашему мнению, это является важным преимуществом и позволяет применять данный метод у новорожденных и детей раннего возраста.

В настоящее время многие исследователи признают необходимость стандартизации ТЭГ [17]. Для точной интерпретации полученных данных и принятия правильных решений необходимо иметь представление о референтных пределах каолинактивированной ТЭГ для данной возрастной и нозологической группы. Наше исследование показало, что значимых различий в каолинактивированной ТЭГ у доношенных новорожденных как с ВПС, так и здоровых нет. Полученные результаты в группах исследования полностью сопоставимы с референтными пределами, описанными другими авторами [14], и могут быть использованы как нормативные у доношенных новорожденных с ВПС, поступающих на лечение в кардиологический стационар.

Выводы

1. Состояние гемостаза новорожденных с ВПС без сопутствующей (гематологической, почечной, печеночной, активной инфекционной) патологии; шоковых состояний; не находящихся длительно на ИВЛ и не получавших гемостатических препаратов и антикоагулянтов, а также НПВС в дооперационном периоде, характеризуется как нормокоагуляция.

2. Значимых различий системы гемостаза у здоровых новорожденных и новорожденных с ВПС (без тяжелой сопутствующей патологии) не выявлено. Они имеют сходные показатели каолинактивированной ТЭГ.

3. Полученные результаты можно использовать как нормативные у доношенных новорожденных с ВПС, поступающих на лечение в кардиологический стационар.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 2–3, 5–7, 9–10, 12–15)
см. REFERENCES

1. Чупрова А.В., Лоскутова С.А., Анмут С.Я., Стуров В.Г. *Геморрагические и тромботические заболевания и синдромы у детей. Диагностика и терапия: Учебное пособие*. Ростов-на-Дону: Феникс; 2007.
4. Соловьев Г.М., Супрунов М.В., Попов Л.В. Кровоточивость и гемостаз в кардиохирургии. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2000; 1–2: 50–2.
8. Буланов А.Ю. Роль тромбоэластографии в трансфузионной терапии посттравматической коагулопатии. *Трансфузиология*. 2011; 12 (4): 47–55.
11. Буланов А.Ю., Городецкий В.М., Щербакова О.В., Рязанова И.Б., Судейкина Н.Н., Шулуто Е.М. и др. Тромбоэластографическая оценка системы гемостаза и эффективность ее коррекции перед оперативными вмешательствами у больных с заболеваниями системы крови. *Гематология и трансфузиология*. 2012; 57 (5): 36–42.
16. Корнеев А.А., Кричевец А.Н. Условия применимости критериев Стьюдента и Манна–Уитни. *Психологический журнал*. 2011; 32 (1): 97–110.
17. Добровольский А.Б., Титаева Е.В. Коагулологические факторы риска тромбозов и лабораторный контроль антикоагулянтной терапии. *Атеротромбоз*. 2009; 1 (2): 2–14.

Поступила 30.05.15

REFERENCES

1. Chuprova A.V., Loskutova S.A., Anmut S.Ya., Sturov V.G. *Hemorrhagic and Thrombotic Diseases and Syndromes in Children. Diagnosis and Therapy. Training Manual [Gemorragicheskie i tromboticheskie zabolovaniya i sindromy u detey. Diagnostika i terapiya: Uchebnoe posobie]*. Rostov-na-Donu: Feniks; 2007. (in Russian)
2. Shore-Lesserson L., Manspeizer H.E., DePerio M., Francis S., Vela-Cantos F., Ergin MA. Thromboelastography-guided transfusion algorithm reduces transfusions in complex cardiac surgery. *Anesth. Analg.* 1999; 88 (2): 312–9.
3. Nuttall G.A., Oliver W.C., Santrach P.J., Bryant S., Dearani J.A., Schaff H.V. et al. Efficacy of a simple intraoperative transfusion algorithm for nonerythrocyte component utilization after cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology*. 2001; 94 (5): 773–81.
4. Solov'ev G.M., Suprunov M.V., Popov L.V. Hemorrhage and hemostasis in cardiac surgery. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya*. 2000; 1–2: 50–2. (in Russian)
5. Miller B.E., Guzzetta N.A., Tosone S.R., Levy J.H. Rapid evaluation of coagulopathies after cardiopulmonary bypass in children using modified thromboelastography. *Anesth. Analg.* 2000; 90 (6): 1324–30.
6. Davis M.C., Andersen N.E., Johansson P., Andersen L.W. Use of thromboelastograph and factor VII for the treatment of postoperative bleeding in a pediatric patient on ECMO after cardiac surgery. *J. Extra. Corpor. Technol.* 2006; 38 (2): 165–7.
7. Vogel A.M., Radwan Z.A., Cox C.S.Jr., Cotton B.A. Admission rapid thrombelastography delivers real-time “actionable” data in pediatric trauma. *J. Pediatr. Surg.* 2013; 48 (6): 1371–6.
8. Bulanov A.Yu. The Role of thromboelastography in transfusion therapy of post-traumatic coagulopathy. *Transfuziologiya*. 2011; 12 (4): 47–55. (in Russian)
9. Kang Y., Borland L.M., Picone J., Martin L.K. Intraoperative coagulation changes in children undergoing liver transplantation. *Anesthesiology*. 1989; 71 (1): 44–7.

10. Goobie S.M., Soriano S.G., Zurakowski D., McGowan F.X., Rockoff M.A. Hemostatic changes in pediatric neurosurgical patients as evaluated by thrombelastograph. *Anesth. Analg.* 2001; 93 (4): 887–92.
11. Bulanov A.Yu., Gorodetskiy V.M., Shcherbakova O.V., Ryazanova I.B., Sudeykina N.N., Shulutko E.M. et al. Thromboelastographic evaluation of the hemostatic system and the effectiveness of its correction before surgery in patients with diseases of the blood system. *Gematologiya i transfuziologiya.* 2012; 57 (5): 36–42. (in Russian)
12. Miller B.E., Bailey J.M., Mancuso T.J., Weinstein M.S., Holbrook G.W., Silvey E.M. et al. Functional maturity of the coagulation system in children: an evaluation using thrombelastography. *Anesth. Analg.* 1997; 84 (4): 745–8.
13. Pivalizza E.G., Pivalizza P.J., Gottschalk L.I., Kee S., Szmuk P., Abramson D.C. Celite-activated thrombelastography in children. *J. Clin. Anesth.* 2001; 13 (1): 20–3.
14. Chan K.L., Summerhayes R.G., Ignjatovic V., Horton S.B., Monagle P.T. Reference values for kaolin-activated thromboelastography in healthy children. *Anesth. Analg.* 2007; 105 (6): 1610–3.
15. Edwards R.M., Naik-Mathuria B.J., Gay A.N., Olutoye O.O., Teruya J. Parameters of thromboelastography in healthy newborns. *Am. J. Clin. Pathol.* 2008; 130 (1): 99–102.
16. Korneev A.A., Krichevets A.N. The conditions of applicability criteria for the Student and Mann-Whitney. *Psikhologicheskiy zhurnal.* 2011; 32 (1): 97–110. (in Russian)
17. Dobrovol'skiy A.B., Titaeva E.V. Coagulation risk factors for thrombosis and laboratory control of anticoagulant therapy. *Aterotromboz.* 2009; 1 (2): 2–14. (in Russian)

Received 30.05.15

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.24-002.5-078.33

Цибулькин А.П.¹, Хаертынова И.М.¹, Уразов Н.Г.², Хаертынов К.С.¹

СКРИНИНГ ДИАГНОСТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА НАТИВНЫХ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ МЫСОБАКТЕРИУМ TUBERCULOSIS МЕТОДОМ ИММУНОБЛОТТИНГА

¹ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Минздрава России, 420012, Казань, Российская Федерация; ²Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИДом и инфекционными заболеваниями Минздрава Республики Татарстан, 420097, г. Казань, Российская Федерация

Методом иммуноблоттинга исследованы поверхностные белки, полученные из клеток *M. Tuberculosis*, подвергнутых частичной делипидизации. При этом использовались сыворотки больных туберкулезом легких; носителей ВИЧ и пациентов с сочетанной инфекцией ТБ-ВИЧ, а также ВИЧ-отрицательных, без клинических признаков заболевания легких и с хроническими заболеваниями легких другой этиологии. Диагностически значимой оказались фракции низкомолекулярных антигенов молекулярной массой 6,5–30 кДа. С этой фракцией антигенов прореагировали сыворотки всех больных туберкулезом легких и сыворотки 91% пациентов с сочетанной инфекцией ТБ-ВИЧ. Антигены белковых фракций с высокой (70–100 кДа) и промежуточной (30–69 кДа) молекулярной массой оказались диагностически незначимыми.

Ключевые слова: туберкулез; ВИЧ; антигены *M. tuberculosis*; иммуноблоттинг.

Для цитирования: Цибулькин А.П., Хаертынова И.М., Уразов Н.Г., Хаертынов К.С. Скрининг диагностического потенциала нативных белковых фракций *Mycobacterium tuberculosis* методом иммуноблоттинга. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61 (2): 90–92, 102.

DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-2-90-92, 102.

Tsibulkin A.P.¹, Khaertynova I.M.¹, Urazov N.G.², Khaertynov K.S.¹

THE SCREENING OF DIAGNOSTIC POTENTIAL OF NATIVE PROTEIN FRACTIONS OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS USING TECHNIQUE OF IMMUNE BLOTTING

¹The Kazanskaia state medical academy of Minzdrav of Russia, 420012 Kazan, Russia; ²The Republican center of prevention and fight of AIDS and infectious diseases of Minzdrav of the Republic of Tatarstan, 420012 Kazan, Russia

The technique of immune blotting was used to analyze surface proteins obtained from cells *M. Tuberculosis* exposed to partial mode of delipidization. At that, there were applied serums of patients with tuberculosis of lungs; HIV agents and patients with concomitant infection tuberculosis-AIDS and also HIV-negative patients without clinical signs of disease of lungs and with chronic diseases of lungs of other etiology. The fractions of low-molecular antigens with molecular mass 6.5-30 kilodaltons became diagnostically significant. To this fraction of antigens reacted serums of all patients with tuberculosis of lungs and serums of 91% of patients with concomitant tuberculosis-AIDS infection. The antigens of protein fractions with high (70-100 kilodaltons) and interim (30-69 kilodaltons) molecular mass became diagnostically significant.

Key words: tuberculosis; AIDS; antigens *M. Tuberculosis*; immune blotting