

IZAZOVI LABORATORIJSKE DIJAGNOSTIKE HEMOSTATSKIH POREMEĆAJA U DJECE

DESIREE COEN HERAK*

Laboratorijska dijagnostika hemostatskih poremećaja u djece predstavlja poseban izazov, ponajprije zbog specifičnosti i značajnih razlika u hemostatskom sustavu između djece i odraslih. Hemostatski sustav je dinamičan i razvojan pa se vrijednosti pojedinih komponenti hemostatskog sustava nejednoliko mijenjaju s obzirom na starosnu dob, a ta je promjena najviše izražena u novorođenčadi. Iako hemostatski sustav u dječjoj dobi nije u potpunosti razvijen, on je fiziološki funkcionalan pa su spontana krvarenja i tromboembolijski poremećaji relativno rijetki. Laboratorijsko ispitivanje mogućih uzroka krvarenja ili trombotičkih komplikacija u djece, a posebice u novorođenčadi je zahtjevno i složeno, a preduvjeti za pravilno tumačenje rezultata su pravilno uzorkovanje te uporaba odgovarajućih referentnih intervala prema dobi. Ispitivanje funkcije trombocita u nedonoščadi i novorođenčadi je prilično neistraženo područje i prilično izazovno ponajprije zbog velike količine uzorka potrebnog za izvođenje pretraga. Ponekad je teško razlučiti patološke od fizioloških vrijednosti pojedinih hemostatskih parametara za pojedinu dob, što može dovesti do pogrešnog tumačenja rezultata laboratorijske dijagnostike i primarne i sekundarne hemostaze. Načelno, u slučaju patoloških rezultata hemostatskih pretraga u usporedbi s referentnim intervalima prema dobi, potreban je postupni dijagnostički pristup, a početna laboratorijska dijagnostika uvijek bi trebala uključiti određivanje funkcionalnih aktivnosti pojedinih komponenti.

Deskriptori: LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA, HEMOSTAZA, DJECA

Laboratorijska dijagnostika hemostatskih poremećaja u djece predstavlja poseban izazov, ponajprije zbog specifičnosti i značajnih razlika u hemostatskom sustavu između djece i odraslih. Poznavanje značajki hemostatskog sustava u djece je preduvjet za laboratorijsku dijagnostiku hemostatskih poremećaja, za ispravno postavljanje dijagnoze, te optimalnu prevenciju i liječenje (1, 2). Sve do 1980. godine smatralo se kako je hemostatski sustav u djece istovjetan onom u odraslih. Temelj za razumijevanje hemostatskog sustava u djece postavila je Maureen Andrew koja je u kasnim 80-im godinama prošlog stoljeća prva objavila referentne intervale 30-ak hemostatskih parametara za dječju populaciju prema starosnoj dobi, i to zasebno za nedono-

ščad, zdravu novorođenčad i djecu 1-16 godina starosti, te uvela pojam razvojne hemostaze (3-5). Koncept razvojne hemostaze postavljen je na temelju spoznaja o različitim vrijednostima velikog broja hemostatskih parametara između djece i odraslih, kao i o njihovoj promjeni tijekom djetinjstva.

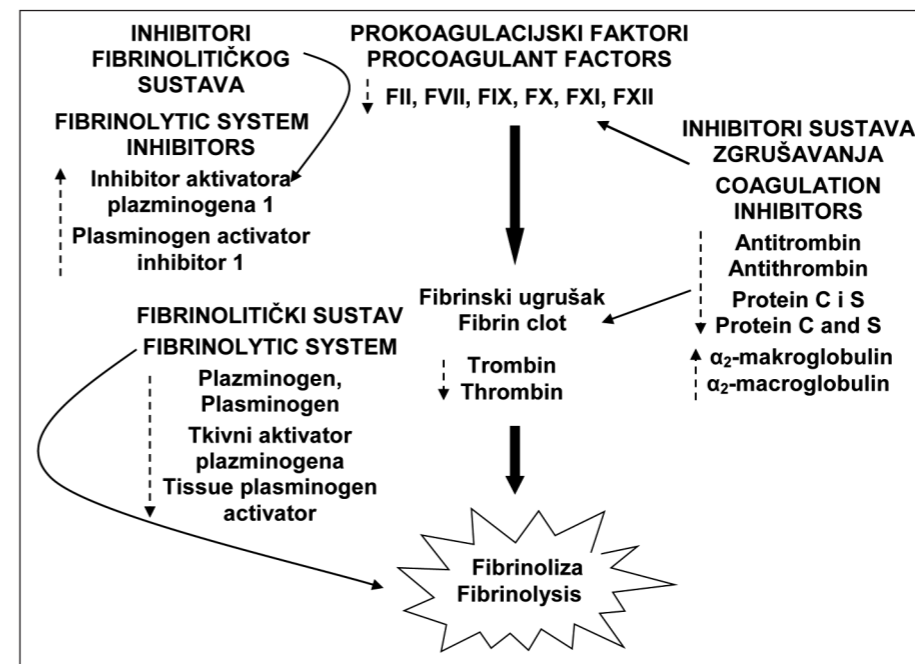
Razvojna hemostaza (hemostatski sustav u djece)

Pojam razvojne hemostaze označava fiziološke promjene hemostatskog sustava tijekom života, ovisno o starosnoj dobi, koje su najizraženije tijekom djetinjstva. Hemostatski sustav je dinamičan, započinje *in-utero*, te se postupno razvija od fetalnog, preko novorođenčad, dječjeg i adolescentnog, pa sve do odrasle i starije životne dobi, uz promjenu vrijednosti pojedinih komponenti sustava s obzirom na starosnu dob (Slika 1).

Proteini hemostatskog sustava se prelaze kroz placentalnu barijeru nego se sintetiziraju neovisno od majčinog su-

stava u fetusu, od kojih neki već u vrlo ranom gestacijskom razdoblju. Fetalna jetra započinju sintezu fibrinogena u šestom gestacijskom tjednu, dok se zgrušavanje krvi i fibrinolitička aktivnost mogu opaziti u jedanaestom gestacijskom tjednu. Fiziološke koncentracije hemostatskih proteina postupno rastu tijekom fetalnog i neonatalnog života, ali njihov porast nije ujednačen pa se vrijednosti slične odraslim osobama dostižu u različitim razvojnim fazama (6). Molekularne strukture većine fetalnih koagulacijskih proteina istovjetne su zrelim strukturama, osim fibrinogena i plazminogena koje sadrže veći udjel sijačinske kiseline, te von Willebrandovog faktora (VWF) koji se sastoji od multimerizirano izrazito velike molekularne mase. Promjena fetalnog VWF u odrasli oblik odvija se tijekom prvih tjedana postnatalno (1, 6, 7).

Plazmatske koncentracije faktora ovisnih o vitaminu K (II, VII, IX, X) i kontaktnih faktora (XI, XII, prekalkreina, kininogena velike molekularne mase)



Slika 1. Sustav zgrušavanja i fibrinolize. Isprekidane strelice predstavljaju razlike pojedinih komponenta koje se razlikuju u djece u odnosu na odrasle.

Figure 1. The coagulation and fibrinolytic systems. Dotted arrows represent the differences in neonates and children compared to adults.

snižene su u novorođenčadi i iznose približno 50% vrijednosti u odraslih (Tablica 1). Postupan se porast koncentracija odvija tijekom prvih 6 mjeseci života kad iznose približno 80% vrijednosti u odraslih, ali ostaju snižene tijekom djetinjstva. Plazmatske vrijednosti gotovo svih inhibitora zgrušavanja snižene su u odnosu na odrasle te iznose približno 20% za inhibitor puta tkivnog faktora (engl. tissue factor pathway inhibitor, TFPI), 35% za protein C (PC) i protein S (PS), te 50% vrijednosti za antitrombin (AT) i heparinski kofaktor II. Iako se vrijednosti odraslih dostižu tijekom 6 mjeseci života, koncentracije PC ostaju snižene tijekom djetinjstva sve do mladenačke dobi (3-5). Nadalje, u novorođenčadi se PS nalazi isključivo u slobodnom, aktivnom obliku zbog nedostatka veznog proteina C4b (7).

U novorođenčadi su plazmatske koncentracije samo malog broja hemostatskih proteina (fibrinogena te faktora zgrušavanja V, VIII i XIII) približno slične vrijednostima u odraslih (1). Za razliku od toga, vrijednosti VWF su povišene tijekom prva 2 mjeseca života,

dok su vrijednosti α_2 -makroglobulina približno dvaput više u odnosu na vrijednosti u odraslih te ostaju povišene tijekom djetinjstva i počinju se smanjivati u kasnoj adolescentnoj dobi. Povišene vrijednosti α_2 -makroglobulina mogu se objasniti njegovom ulogom najvažnijeg inhibitora trombina u djetinjstvu koji kompenzira smanjenu inhibiciju trombina AT zbog niskih vrijednosti AT u novorođenčadi (7).

Fibrinolitički sustav je u djece podložan promjenama koncentracija pojedinih komponenti, slično sustavu zgrušavanja. Iako su sve komponente fibrinolitičkog sustava prisutne u plazmi novorođenčadi, vrijednosti plazminogena su snižene na 50% vrijednosti, a vrijednosti inhibitora plazmina na 80% vrijednosti u odraslih sve do 6 mjeseci života. Plazmatske koncentracije antigene komponente tkivnog aktivatora plazminogena (t-PA) značajno su povišene neposredno nakon rođenja, progresivno se smanjuju nakon prvog dana života te ostaju snižene tijekom djetinjstva za približno 50% u odnosu na odrasle. Za razliku od toga, plazmatske koncentracije antigene komponente inhi-

bitora aktivatora plazminogena 1 (PAI-1) značajno su povišene nakon rođenja te ostaju povišene tijekom djetinjstva (8). Nezrelost hemostatskog sustava ima za posljedicu smanjeno stvaranje trombina kao i smanjenu fibrinolitičku aktivnost tijekom djetinjstva u odnosu na odrasle.

Primarna hemostaza

Trombociti se nalaze u cirkulirajućoj fetalnoj plazmi od jedanaestog gestacijskog tjedna, dok trombocitni glikoproteinski receptori bivaju izraženi između dvanaestog i šesnaestoga gestacijskog tjedna (6). Broj i volumen trombocita u novorođenčadi sličan je broju i volumenu trombocita u odraslih, ali su novorođenački trombociti funkcionalno hiporeaktivni na veći broj agonista koji aktiviraju trombocite. Fiziološki uzroci odgovorni za hiporeaktivnost trombocita u novorođenčadi nisu u potpunosti razjašnjeni, ali smatra se kako su neki od mogućih uzroka snižen broj receptora, poremećena sinteza tromboksana te poremećen prijenos signala (9). Podaci o funkciji trombocita ovisno o gestacijskoj dobi su oskudni, pa nije poznato koliko dugo nakon rođenja trombociti ostaju hiporeaktivni. Pokazano je kako hiporeaktivnost trombocita može biti prisutna i nakon novorođenačkog razdoblja kasnije u djetinjstvu, iako nije razjašnjen uzrok (10).

Hemostatski poremećaji u dječjoj dobi

Hemostatski poremećaji u pravilu uključuju dvije velike skupine: poremećaje krvarenja i tromboembolijske poremećaje. Iako hemostatski sustav u dječjoj dobi, a posebice u novorođenčadi nije u potpunosti razvijen, on je fiziološki funkcionalan pa su zdrava djeca zaštićena kako od krvarenja, tako i od tromboze. Stoga su spontana krvarenja i tromboembolijski poremećaji relativno rijetki u dječjoj dobi, ali se češće javljaju u slučaju stresnih patoloških stanja jer hemostatski sustav u novorođenčeta nema dovoljnu kompenzacijsku sposobnost (6).

Većina poremećaja krvarenja u novorođenačkoj i dječjoj dobi su stečena, dok je samo manji broj nasljednih.

*Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb

Adresa za dopisivanje:
Mr. sc. Desiree Coen Herak
Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku
10000 Zagreb, Kišpatićeva 12
E-mail: dcoen@kbc-zagreb.hr

Tablica 1.
Usporedbe vrijednosti pojedinih hemostatskih parametara u djece u odnosu na odrasle

Table 1
Comparison of values of hemostatic parameters in children compared to adults

Hemostatski parametar/Hemostatic parameter	Niže vrijednosti u odnosu na odrasle/Decreased values compared to adults	Vrijednosti približno slične odraslim/Values comparable to adult values	Više vrijednosti u odnosu na odrasle/Increased values compared to adults
Faktori zgrušavanja ovisni o vitaminu K: Faktor II (FII), Faktor VII (FVII), Faktor IX (FIX), Faktor X (FX)/Vitamin K-dependent coagulation factors: Factor II (FII), Factor VII (FVII), Factor IX (FIX), Factor X (FX)	Faktori zgrušavanja: Fibrinogen, Faktor V (FV), Faktor VIII (FVIII), Faktor XIII (FXIII)/Coagulation factors: Fibrinogen, Factor V (FV), Factor VIII (FVIII), Factor XIII (FXIII)	Faktori zgrušavanja: von Willebrandov faktor (VWF)/Coagulation factors: von Willebrand factor (VWF)	
Kontaktne faktori zgrušavanja: Faktor XI (FXI), Faktor XII (FXII), Prekalikrein, Visokomolekularni kininogen/Contact coagulation factors: Factor XI (FXI), Factor XII (FXII), Prekallikrein, High-molecular-weight kininogen			
Inhibitori zgrušavanja: Antitrombin, Protein C i S, Heparinski kofaktor II, Inhibitor puta tkivnog faktora (TFPI)/Coagulation inhibitors: Antithrombin, Protein C and S, Heparin cofactor II, Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)		Inhibitori zgrušavanja: α_2 -makroglobulin/Coagulation inhibitors: α_2 -macroglobulin	
Fibrinolitički sustav: Plasminogen, Inhibitor plazmina Tkivni aktivator plazminogena (t-PA)/Fibrinolytic system: Plasminogen, Plasmin inhibitor, Tissue plasminogen activator (t-PA)		Fibrinolitički sustav: Inhibitor aktivatora plazminogena 1 (PAI-1)/Fibrinolytic system: Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)	

Najčešći stečeni poremećaj krvarenja u dječjoj dobi je manjak vitamina K koji nastaje zbog poremećaja funkcije jetre, gastrointestinalnih poremećaja ili terapijske primjene lijekova (11). Manjak vitamina K uzrok je i hemoragijske bolesti novorođenčadi koja se može pojaviti u prvih 24 sata života (rani oblik), 2-7 dana nakon rođenja (klasični oblik) i između 2. tjedna i 6 mjeseci nakon rođenja (kasni oblik) (12). Od ostalih stečenih poremećaja krvarenja diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK) može uzrokovati obilna krvarenja u kožu, gastrointestinalni trakt i središnji živčani sustav (11).

Venski tromboembolizam (engl. *venous thromboembolism*, VTE) u djece je relativno rijetka bolest, s utvrđenim najvećim rizikom u novorođenčadi i adolescenata. Za razliku od odraslih, spontani VTE u dječjoj populaciji vrlo se rijetko pojavljuje, a najčešće je posljedica višestrukih rizičnih čimbenika koji uključuju uporabu centralnih venskih katetera, upalna stanja, maligne bolesti, imobilizaciju, trombofiliju i nasljedne srčane bolesti (13).

Laboratorijska dijagnostika hemostatskih poremećaja u dječjoj dobi

Zadatak laboratorijske dijagnostike je utvrditi moguće nasljedne ili stečene hemostatske poremećaje (krvarenje ili trombozu). Ispitivanje mogućih uzroka krvarenja ili trombotičkih komplikacija u djece, a posebice u nedonoščadi i novorođenčadi istovremeno je izuzetno zahtjevno i izazovno. Preduvjeti za pravilno tumačenje rezultata su pravilno uzorkovanje te uporaba odgovarajućih referentnih intervala prema dobi.

Uzorkovanje za koagulacijske pretrage

Dobro je poznat utjecaj predanalitičkih varijabli na koagulacijske pretrage bez obzira na dobnu skupinu. Stoga je odgovarajući uzorak od presudne važnosti za dobivanje pravovaljanih rezultata, a posebice se to odnosi na djecu. Tehničke poteškoće s uzorkovanjem u novorođenčadi i male djece te potreba za relativno velikom količinom uzorka krvi za analizu, su osnovni razlozi zbog kojih karakteristike hemostatskog sustava

u djece nisu bile u potpunosti poznate dugi niz godina. Ispravno uzorkovanje prije svega podrazumijeva dobivanje nehemoliziranog uzorka u kojem omjer puferiranog trinitrijevog citrata kao osnovnog antikoagulant za koagulacijske pretrage i krvi iznosi 1:10. Stoga svako odstupanje volumena krvi većeg od 10% (premalog volumena krvi), nedovoljno miješanje krvi s antikoagulantom koje dovodi do aktivacije zgrušavanja *in vitro* i nastajanja mikro ili makro ugrušaka kao i hemolizirani uzorak plazme izravno, u manjoj ili većoj mjeri, utječu na rezultate koagulacijskih pretraga pa takvi uzorci nisu prihvatljivi za analizu. Nadalje, veliki problem predstavljaju uzorci kontaminirani intravenskim otopinama, posebice heparinom koji utječe na rezultate većine pretraga, pa je za postavljanje dijagnoze mogućih hemostatskih poremećaja neophodno, ako je to ikako moguće, izbjeći kontaminaciju heparinom. Poseban problem predstavljaju pretrage agregacije trombocita s različitim agonistima jer je za izvođenje ovih pretraga potreban relativno veliki volumen krvi (najmanje 10-15 mL). S obzirom na sve tehničke poteškoće uzorkovanja u djece,

Tablica 2.
Referentni intervali hemostatskih parametara prema dobi

Table 2
Age-specific reference intervals of hemostatic parameters

Pretraga/Test	Referentni interval prema dobi/Age-specific reference interval							
	<5d/<5d	5d-1mj/5d-1mo	>1-3mj/>1-3mo	>3-6mj/>3-6mo	>6mj-5g/6mo-5y	>5-10g/>5-10y	>10-16g/>10-16y	>16g i odrasli/>16y and adults
FII-aktivnost (kIU/L)3, 5/FII activity (kIU/L) 3, 5	0,26-0,93/0.26-0.93	0,33-1,02/0.33-1.02	0,34-1,05/0.34-1.05	0,45-1,16/0.45-1.16	0,60-1,16/0.60-1.16	0,67-1,07/0.67-1.07	0,61-1,04/0.61-1.04	0,70-1,46/0.70-1.46
FV-aktivnost (kIU/L)3, 5/FV activity (kIU/L) 3, 5	0,34-1,45/0.34-1.45	0,45-1,34/0.45-1.34	0,62-1,32/0.62-1.32	0,48-1,27/0.48-1.27	0,55-1,27/0.55-1.27	0,63-1,16/0.63-1.16	0,55-0,99/0.55-0.99	0,62-1,50/0.62-1.50
FVII-aktivnost (kIU/L)3, 5/FVII activity (kIU/L) 3, 5	0,28-1,43/0.28-1.43	0,35-1,38/0.35-1.38	0,42-1,43/0.42-1.43	0,39-1,27/0.39-1.27	0,47-1,16/0.47-1.16	0,52-1,20/0.52-1.20	0,58-1,15/0.58-1.15	0,67-1,43/0.67-1.43
FVIII-aktivnost (kIU/L)3, 5/FVIII activity (kIU/L) 3, 5	0,50-1,54/0.50-1.54	0,50-1,57/0.50-1.57	0,50-1,25/0.50-1.25	0,50-1,09/0.50-1.09	0,50-1,42/0.50-1.42	0,58-1,32/0.58-1.32	0,53-1,31/0.53-1.31	0,50-1,49/0.50-1.49
FIX-aktivnost (kIU/L)3, 5/FIX activity (kIU/L) 3, 5	0,15-0,91/0.15-0.91	0,15-0,81/0.15-0.81	0,21-1,13/0.21-1.13	0,21-1,36/0.21-1.36	0,36-1,04/0.36-1.04	0,63-0,89/0.63-0.89	0,59-1,22/0.59-1.22	0,55-1,63/0.55-1.63
FX-aktivnost (kIU/L)3, 5/FX activity (kIU/L) 3, 5	0,12-0,79/0.12-0.79	0,19-0,87/0.19-0.87	0,31-1,07/0.31-1.07	0,35-1,18/0.35-1.18	0,38-1,16/0.38-1.16	0,55-1,01/0.55-1.01	0,50-1,17/0.50-1.17	0,70-1,52/0.70-1.52
FXI-aktivnost (kIU/L)3, 5/FXI activity (kIU/L) 3, 5	0,10-0,87/0.10-0.87	0,23-0,79/0.23-0.79	0,27-0,97/0.27-0.97	0,41-1,34/0.41-1.34	0,49-1,50/0.49-1.50	0,52-1,20/0.52-1.20	0,50-0,97/0.50-0.97	0,67-1,27/0.67-1.27
FXII-aktivnost (kIU/L)3, 5,17/FXII activity (kIU/L) 3, 5,17	0,13-0,83/0.13-0.83	0,11-0,81/0.11-0.81	0,17-1,09/0.17-1.09	0,25-1,15/0.25-1.15	0,39-1,29/0.39-1.29	0,60-1,40/0.60-1.40	0,60-1,37/0.60-1.37	0,49-1,41/0.49-1.41
von Willebrandov faktor-Ristocetin kofaktor/von Willebrand ristocetin cofactor activity (VWF:RCO) (%) 3, 5	50-254	50-246	50-206	50-197	50-120	44-144	46-153	50-158
von Willebrandov faktor antigen/von Willebrand factor antigen (VWF: Ag) %17	60-250	60-250	55-200	50-190	50-1,50	52-153	55-150	50-170
Antitrombin (AT)-aktivnost/Antithrombin (AT) activity (%) 3, 5, 17, 18	39-93	41-108	48-121	73-124	84-139	82-131	84-139	85-137
Protein C (PC)-aktivnost/Protein C (PC) activity (%) 3, 5, 17, 18	17-64	20-65	21-80	28-81	37-102	64-125	62-128	74-149
Protein C antigen (PC:Ag)/Protein C antigen (PC:Ag) (%)17	12-50	12-50	12-75	22-100	40-98	55-120	55-120	65-145
Protein S (PS)-aktivnost/Protein S (PS) activity (%) 3,5	12-78	22-93	33-118	54-119	55-118	54-114	52-92	65-140* 48-120**
Ukupni protein S-antigen (PS:Ag)/Total protein S antigen (PS:Ag) (%)17	14-55	14-55	14-90	35-110	50-120	60-118	59-115	70-140
Slobodni protein S-antigen (PS:Ag)/Free protein S antigen (PS:Ag) (%) 17	15-55	15-55	15-92	35-115	45-120	62-130	62-140	64-130
Plazminogen-aktivnost/Plasminogen activity (%) 17, 18	35-95	35-95	45-100	65-123	63-123	63-120	68-115	79-136
Inhibitor plazmina-aktivnost/Plasmin inhibitor activity (%) 3	55-130	70-140	76-140	76-139	93-117	89-110	78-118	68-136
CI-inhibitor-aktivnost/CI-inhibitor activity (%) 3, 5	36-130	60-131	57-159	71-193	85-183	88-114	88-150	71-131
Kapacitet primarne hemostaze PFA-100 (kolagen/adrenalin)/Primary hemostasis capacity PFA-100 (collagen/epinephrin) (s) (21-23)			<1mj/<1mo	>1mj-2g/>1mo-2y	>2-4g/>2-4y	>4-10g/>4-10y	>10-15g/>10-15y	>15g/>15y
Kapacitet primarne hemostaze PFA-100 (kolagen/ adenozin-difosfat)/Primary hemostasis capacity PFA-100 (collagen/ adenosin diphosphate) (s) (21-23)	61-108		64-148		75-143	65-153	58-164	82-150
	48-65		47-127		56-112	49-129	46-132	62-100

*referentni interval za muškarce, **referentni interval za žene
*male reference interval, **female reference interval

od posebne je važnosti, uz ispravan uzorak, i racionalan izbor pretraga i individualizirani pristup.

Referentni intervali

Razvojna hemostaza ima izravan utjecaj na vrijednosti pojedinih hemostatskih parametara pa se i njihovi referentni intervali razlikuju za pojedine dječje dobne skupine. Dokazano je kako se apsolutne vrijednosti za pojedine parametre više ili manje razlikuju ovisno o kombinaciji reagensa i sustava na kojem se pretrage izvode, ali da je dinamika promjena pojedinih parametara s obzirom na dob ujednačena (14). Vrijednosti globalnih pretraga zgrušavanja protrombinskog vremena (PV) i aktiviranoga parcijalnog tromboplastinskog vremena (APTV) odraz su sniženih koncentracija i aktivnosti pojedinih faktora zgrušavanja. Manjak faktora zgrušavanja ovisnih o vitaminu K ima relativno mali utjecaj na vrijednost PV pa su vrijednosti samo neznatno snižene u odnosu na donju granicu referentnog intervala za odrasle osobe. Za razliku od toga, vrijednosti APTV su značajnije povišene iznad gornje granice referentnog intervala za odrasle osobe, bez obzira na reagens, zbog niskih vrijednosti kontaktnih faktora zgrušavanja čiji je utjecaj mnogo izraženiji na APTV od utjecaja faktora ovisnih o vitaminu K na PV (1).

Vrlo je malo podataka o referentnim intervalima pretraga primarne hemostaze. Ispitivanje funkcije trombocita u nedonoščadi i novorođenčadi predstavlja prilično neistraženo područje, ponajprije zbog velike količine potrebne plazme ili pune krvi za izvođenje pretraga. Dostupni podatci ukazuju na smanjenu funkciju trombocita pa je tako stupanj agregacije trombocita s adrenalinom izrazito snižen kao posljedica smanjenog broja α -adrenergičnih receptora na membranskoj površini trombocita, kao i agregacijski odgovor na kolagen. Za razliku od toga, stupanj agregacije trombocita arahidonskom kiselinom u novorođenčadi je sličan kao i u odraslih osoba (9). Globalne pretrage primarne hemostaze, koje uključuju vrijeme krvarenja po Ivyju i kapacitet primarne hemostaze (PFA-100) kojim se mjeri vrijeme nastajanja trom-

bocitnog ugruška kod fiziološke brzine arterijskog protoka krvi, ukazuju čak na pojačanu aktivnost zbog povećane adhezije trombocita i VWF, te koreliraju s povišenim aktivnostima VWF i višim hematokritom u novorođenčadi (15). S obzirom da ne postoje referentni intervali za hemostatske parametre za našu dječju populaciju, vrijednosti prikazane u Tablici 2 preuzete su iz dostupnih literaturnih podataka i predstavljaju okvirne vrijednosti.

Mogući uzroci pogrešnog tumačenja rezultata (zamke i nedoumice)

Ponekad je teško razlučiti patološke od fizioloških vrijednosti pojedinih parametara za pojedinu dob, a posebice se to odnosi na dijagnozu blagih nasljednih poremećaja krvarenja pa je sumnju potrebno potvrditi kasnije tijekom djetinjstva, a najranije nakon 6 mjeseci života. Referentni intervali za prirodne inhibitore zgrušavanja (npr. PC) izrazito se razlikuju u dječjoj dobi, pa tumačenje rezultata može biti zahtjevno. U novorođenačkoj dobi je sa sigurnošću jedino moguće analizirati parametre čije su vrijednosti slične onima u odraslih (fibrinogena, FV, FVIII). Aktivnosti FVIII su u novorođenčadi, ali i u nedonoščadi, unutar referentnih intervala za odrasle, što olakšava postavljanje dijagnoze hemofilije A već u najranijem djetinjstvu, bez obzira na gestacijsku dob. Dijagnoza teškog i umjerenog oblika hemofilije B je isto tako moguća, ali je praktično nemoguće postaviti dijagnozu blagog oblika hemofilije B jer aktivnosti FIX su u novorođenčadi izrazito niske (mogu biti niže od 30% u odnosu na vrijednosti u odraslih) (2). Unatoč dijagnostičkom značenju, za ispitivanje funkcije trombocita rutinski nije uobičajeno određivanje agregacija trombocita u nedonoščadi i novorođenčadi (9).

Kod tumačenja rezultata pretraga trombofilije treba imati na umu da vrijednosti AT, PC i PS mogu biti prolazno snižene ako su pretrage učinjene tijekom akutne tromboze. Osim toga, dobro je poznato kako vrijednosti AT mogu biti snižene zbog terapijske primjene heparina, a vrijednosti PC i PS ako se primjene antagonistima vitamina K. Nadalje u upalnim

stanjima vrijednosti FVIII, fibrinogena i VWF mogu biti povišene (16). Stoga je za postavljanje ispravne dijagnoze patološke vrijednosti potrebno ponoviti nekoliko mjeseci nakon akutnog događaja. Načelno početna laboratorijska dijagnostika hemostatskih poremećaja trebala bi uvijek uključiti određivanje funkcionalnih aktivnosti pojedinih komponenti, a tek u drugom koraku prema potrebi i određivanje koncentracija istih (antigenih komponenti).

Poseban izazov u djece predstavlja i terapijska primjena antikoagulacijske terapije jer, uz nedostatak terapijskih protokola za dječju dob, zahtijeva poznavanje razvojne hemostaze i promijenjene farmakokinetike lijekova u odnosu na odraslu dob (2). Najčešći antikoagulacijski pripravci koji se primjenjuju u djece su: niskomolekularni heparin s preporučenom terapijskom anti Xa aktivnošću od 0,5-1,0 kIU/L, te antagonist vitamina K (oralnih antikoagulanata) s preporučenim terapijskim intervalom vrijednosti INR-a od 2,0-3,0. Za pravilno tumačenje rezultata anti Xa aktivnosti neophodno je uzorkovanje 3-4 sata nakon primjene.

LITERATURA

- Kuhle S, Male C, Mitchell L. Developmental hemostasis: pro- and anticoagulant systems during childhood. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29: 329-37.
- Monagle P, Ignjatovic V, Savoia H. Hemostasis in neonates and children: pitfalls and dilemmas. *Blood Rev* 2010; 24: 63-8.
- Andrew M, Paes B, Milner R i sur. Development of the human coagulation system in the full-term infant. *Blood* 1987; 70: 165-72.
- Andrew M, Paes B, Milner R i sur. Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. *Blood* 1988; 72: 1651-7.
- Andrew M, Vegh P, Johnston M, Bowker J, Ofosu F, Mitchell L. Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood* 1992; 80: 1998-2005.
- Manco-Johnson MJ. Development of hemostasis in the fetus. *Thromb Res* 2005; 115 (1): 55-63.
- Kuhle S, Massicotte PM. Maturation of the coagulation system during childhood. *Prog Pediatr Cardiol* 2005; 21: 3-7.
- Albiseti M. The fibrinolytic system in children. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29: 339-47.

- Strauss T, Sidlik-Muskatel R, Kenet G. Developmental haemostasis: primary haemostasis evaluation of platelet function in neonates. *Semin Fetal Neonatal Med* 2011; 16: 301-4.
- Hezard 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.
- Khair K, Liesner R. Bruising and bleeding in infants and children - a practical approach. *Br J Haematol* 2006; 133: 221-31.
- Shearer MJ. Vitamin K deficiency bleeding (VKDB) in early infancy. *Blood Rev* 2009; 23: 49-59.
- Trenor CC 3rd. Thrombosis and thrombophilia; principles for pediatric patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2010; 21 (1): 11-5.
- Monagle P, Massicotte P. Developmental haemostasis: secondary haemostasis. *Semin Fetal Neonatal Med* 2011; 16: 294-300.

- Rand ML, Kuhle S. Platelets and platelet function testing in children. *Prog Pediatr Cardiol* 2005; 21: 63-9.
- Raffini L. Thrombophilia in children: who to test, how, when, and why. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 228-35.
- Ehrenforth S, Junker R, Koch HG i sur. Multicentre evaluation of combined prothrombotic defects with thrombophilia in childhood. *Eur J Pediatrics* 1999; 158: 97-104.
- Dolan G, Neal K, Cooper P, Brown P, Preston FE. Protein C, antithrombin III and plasminogen: effect of age, sex and blood group. *Br J Haematol* 1994; 86: 798-803.
- Broekman AW, Veltkamp JJ, Bertina RM. Congenital protein C deficiency and venous thromboembolism. A study of three Dutch families. *N Engl J Med* 1983; 309: 340-4.
- Andrew M, Paes B, Johnston M. Development of the hemostatic system in the neonate and young infant. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990; 12: 95-104.

- Carcao MD, Blanchette VS, Dean JA i sur. The Platelet Function Analyzer (PFA-100): a novel in-vitro system for evaluation of primary haemostasis in children. *Br J Haematol* 1998; 101: 70-3.
- Lippi G, Manzato F, Franchini M, Brocco G, Florenzano G, Guidi G. Establishment of reference values for the PFA-100 platelet function analyzer in pediatrics. *Clin Exp Med* 2001; 1: 69-70.
- Böck M, de Haan J, Beck KH i sur. Standardization of the PFA-100 platelet function test in 105 mmol/L buffered citrate: effect of gender, smoking, and oral contraceptives. *Br J Haematol* 1999; 106: 898-904.

Summary

THE CHALLENGE OF THE LABORATORY DIAGNOSIS OF HEMOSTATIC DISORDERS IN CHILDREN

D. Coen Herak

Laboratory diagnosis of hemostatic disorders in children is challenging, especially due to the unique characteristics of the hemostatic system in children and significant differences compared to adults. It is nowadays well known that hemostasis is a dynamic process and that concentrations of procoagulant and anticoagulant factors gradually increase with gestational age, albeit at different rates. Despite immaturity, the hemostatic system is physiologically functional, so spontaneous bleeding and thromboembolic disorders are relatively rare in children. The laboratory investigation of possible causes of bleeding or thrombosis is rather difficult and complicated, and prerequisites for correct result interpretation are adequate blood sampling and use of appropriate age-related reference intervals. The analysis of platelet function in preterm and full-term newborns is even more challenging, and primarily due to the need for large sample volumes has not been extensively investigated. It is sometimes very difficult to distinguish between pathological and age-related physiological values of some hemostatic components, which may lead to potentially incorrect interpretation of results of both primary and secondary hemostasis. Basically, in the case of pathological results of hemostatic assays in comparison with age-related reference intervals, a stepwise diagnostic approach is needed, with determination of functional activities as the first step.

Descriptors: LABORATORY DIAGNOSIS, HEMOSTASIS, CHILDREN

Primljeno/Received: 24. 2. 2012.
Prihvaćeno/Accepted: 6. 4. 2012.