

© Третьякова М.Б., 2004

М.Б. Третьякова

ОСОБЕННОСТИ АГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И БОГАТОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЕ У НОВОРОЖДЕННЫХ С ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, г. Санкт-Петербург

У детей с симметричной и тяжелой асимметричной формой (гипотрофия III степени) задержки внутриутробного развития (ЗВУР) повышена функциональная активность тромбоцитов в цельной крови и богатой тромбоцитами плазме. Величина амплитуды агрегации тромбоцитов в цельной крови коррелирует с таковой в богатой тромбоцитами плазме. Выявленные изменения функционального состояния тромбоцитов у детей с ЗВУР свидетельствуют не только об изменении рецепторного аппарата клетки, но и о нарушении метаболизма самих тромбоцитов. Амплитуда агрегации тромбоцитов тем выше, чем больше степень отставания формирования позно-тонических и рефлекторных реакций ЦНС. Высокая функциональная активность тромбоцитов играет существенную роль в генезе неврологических нарушений у детей с ЗВУР.

Neonates with retarded intrauterine development (RIUD) of symmetric and severe asymmetric form (III degree of malnutrition) demonstrated increased functional platelet activity during examination of native blood (NB) and plasma enriched by platelets (PEP). Amplitude of aggregation in NB correlated with the same parameter in PEP. These changes in platelet functional state in patients with RIUD are the evidence of not only changes of cell receptor apparatus, but of metabolic disorders in platelets. Aggregation amplitude is the more the severe is retardation of pose tonic reflexes and reftectory CNS reactions forming. High functional activity of platelets plays important role in pathogenesis of neurological disorders in patients with RIUD.

В последние годы наблюдается значительный рост числа новорожденных с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР), для которых характерны не только высокая перинатальная заболеваемость и смертность, но и значительные отклонения нервно-психического и соматического развития в последующие годы жизни [1, 2]. Чем раньше плод начинает испытывать патогенное воздействие, тем больше выражена степень задержки морфологического и функционального развития и более существенны изменения структуры и свойств клеточных мембран [3, 4]. Наши предыдущие исследования показали, что у детей с тяжелой формой ЗВУР снижено количество тромбоцитов [15]. Однако данных, касающихся изменений функциональной активности тромбоцитов у детей с ЗВУР, в литературе мы не встретили. Вместе с тем установлено, что у детей, перенесших хроническую гипоксию, часто наблюдаются изменения гемостаза, в генезе которых существенную роль играет изменение функциональных свойств тромбоцитов [6]. Известно, что в физиоло-

гических условиях важную роль в поддержании гемостаза играют механизмы межклеточного взаимодействия. В цельной крови (ЦК) на состояние тромбоцитов влияет активность других форменных элементов крови — эритроцитов, моноцитов, полиморфноядерных нейтрофилов [7], которые посредством сигнальных молекул, таких, как простагландины, кинины, цитокины, лизосомальные ферменты и биогенные амины, могут оказывать разнонаправленные влияния на функциональное состояние тромбоцитов.

Цель настоящего исследования — выяснить особенности агрегационной активности тромбоцитов (ААТ) в ЦК и богатой тромбоцитами плазме (БТП) у детей с ЗВУР.

Материалы и методы исследования

Обследовано 62 новорожденных, из которых основную группу составили 27 детей с ЗВУР. 22 ребенка этой группы были доношенными и 5 родились на 35—36-й неделе беременности. Среди детей основной группы у 11 детей была симметричная форма ЗВУР

(масса тела, рост и окружность головы для данного гестационного возраста <10%), 16 детей имели асимметричную форму ЗВУР — при нормальном росте и окружности головы для данного гестационного возраста имел место дефицит массы тела <3% (гипотрофия III степени).

Масса тела детей основной группы в среднем составила $2130 \pm 82,3$ г, рост — $45,3 \pm 0,5$ см. 2 ребенка родились в состоянии легкой асфиксии (оценка по шкале Апгар 6 баллов), остальные были оценены по шкале Апгар на 7 баллов. В раннем постнатальном периоде 14 детей имели симптомы нарушения мозгового кровообращения (НМК), 3 ребенка — внутриутробную инфекцию (ВУИ) бактериальной этиологии и 3 — внутриутробную вирусную инфекцию, 7 детей были здоровы.

Контрольную группу составили 35 здоровых новорожденных. Дети родились с массой тела $3444,0 \pm 66,2$ г, ростом $52 \pm 0,5$ см. Оценка по шкале Апгар 8—9 баллов. Период ранней постнатальной адаптации новорожденных протекал без осложнений.

Клиническое состояние новорожденных оценивали в динамике в сопоставлении с результатами лабораторных исследований. Учитывали результаты нейросонографии, ЭКГ и рентгенографических исследований, а также микробиологических и вирусологических обследований. Для оценки соответствия гестационному возрасту постурального, пассивного и активного тонуса, а также рефлекторных реакций использовали таблицы С. Амеэ — Тиссон и S.A. Dargassies (1974). Выделяли равномерное отставание формирования функций ЦНС и диссоциированную задержку, когда формирование рудиментарных безусловных рефлексов отстает в большей степени по сравнению с развитием позно-тонических реакций. Продолжительность и тяжесть внутриутробного страдания ребенка оценивали на основании изучения особенностей течения беременности и родового акта, а также результатов гистологического исследования последа.

Изучение ААТ в ЦК проводили импедансным методом на агрегометре АИ-300 [8]. ААТ в БТП исследовали с помощью фотометрического метода по С.К. Ворн [9]. Определение ААТ проводили с помощью анализатора агрегации тромбоцитов АР-2110. Забор крови у новорожденных проводили в первые 24 ч после рождения в пробирку с 3,8% цитратом натрия в соотношении 1:9. В качестве индуктора агрегации использовали раствор АДФ, в конечной концентрации 10^{-6} . Оценивали следующие показатели, характеризующие интенсивность и скорость процесса агрегации: МА — максимальная амплитуда агрегации в ЦК (ом) равна разнице между значением модуля импеданса в максимальной точке на агрегатограмме и значением модуля импеданса в точке, соответствующей началу агрегации. В БТП МА агрегации выражается в %, где за 100% принят коэффициент светопропускания без тромбоцитарной плазмы; СК — скорость агрегации, измеряемая отношением амплитуды агрегации к интервалу (первые 30 с), в течение которого она была достигнута (для ЦК выражается в ом/мин, для БТП — %/мин); ВР — время от момента добавления индуктора до достижения МА агрегации (мин).

Учитывая тот факт, что функциональная активность тромбоцитов у недоношенных детей не отличается от таковой у доношенных [10, 11], показатели агрегации

тромбоцитов детей основной группы мы сравнивали с показателями здоровых доношенных детей контрольной группы.

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием программы «Statistica» на компьютере IP 4. Достоверность полученных результатов оценивали с помощью непараметрического метода Вилкоксона, корреляционный анализ проведен методом Спирмана.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследований показали, что у детей с ЗВУР МА агрегации в ЦК и БТП выше, чем у здоровых новорожденных. В ЦК у детей с ЗВУР повышена и СК, тогда как в БТП имеется лишь тенденция к ее повышению. ВР существенно не отличается от показателей здоровых детей, как в ЦК, так и в БТП (табл. 1, 2).

Таблица 1

Особенности агрегации тромбоцитов в ЦК у новорожденных с ЗВУР

Параметры ААТ	Основная группа (n=9)	Контрольная группа (n=14)	p
МА, ом	$4,73 \pm 0,90$	$2,42 \pm 0,18$	<0,05
СК, ом/мин	$2,94 \pm 0,97$	$1,7 \pm 0,21$	<0,05
ВР, мин	$4,40 \pm 0,83$	$3,43 \pm 0,50$	>0,05

Таблица 2

Особенности агрегации тромбоцитов в БТП у новорожденных с ЗВУР

Параметры ААТ	Основная группа (n=27)	Контрольная группа (n=21)	p
МА, %	$75,68 \pm 9,03$	$42,96 \pm 2,6$	<0,05
СК, %/мин	$64,06 \pm 7,30$	$48,32 \pm 4,05$	>0,05
ВР, мин	$3,1 \pm 0,27$	$2,80 \pm 0,32$	>0,05

Таблица 3

Величина амплитуды агрегации в БТП у новорожденных с ЗВУР при различной перинатальной патологии

Патология	МА в БТП, %		p
	основная группа	контрольная группа	
ЗВУР (n=7)	$51,1 \pm 6,0$	$42,96 \pm 2,6$	>0,05
ЗВУР+ВУИ (n=6)	$84,1 \pm 21,4$	$42,96 \pm 2,6$	>0,05
ЗВУР+НМК I—II степени (n=14)	$84,5 \pm 14,1$	$42,96 \pm 2,6$	<0,05

У 9 детей основной и 6 детей контрольной группы мы сопоставили индивидуальные показатели ААТ в БТП и ЦК. Оказалось, что у детей с ЗВУР чем выше значения МА агрегации в ЦК, тем выше этот показатель в БТП ($r=0,7$; $p=0,03$). Подобная корреляционная связь между параметрами СК и ВР у детей с ЗВУР в ЦК и БТП не выявлена. У здоровых детей корреляция между показателями агрегации в ЦК и БТП отсутствует.

Выявленные изменения ААТ у детей с ЗВУР не могли не повлиять на течение процесса ранней постнатальной адаптации. В связи с этим мы сопоставили клиническое состояние новорожденных и особенности их постнатальной адаптации с ААТ в БТП (табл. 3).

Из табл. 3 видно, что у детей с ЗВУР, не имеющих сопутствующей патологии, амплитуда агрегации существенно не отличается от таковой у здоровых новорожденных. Тенденция к повышению интенсивности агрегации выявлена у детей с ВУИ. Так, у новорожденных с цитомегаловирусной и герпетической инфекцией МА агрегации достигала 70,7—105,5—167,8%, у детей с бактериальной инфекцией амплитуда агрегации колебалась от 14,6% до 95,9%. В то же время показатели агрегации тромбоцитов значительно выше нормы у детей с клиническими симптомами НМК, среди которых у 8 имелась тяжелая симметричная форма ЗВУР, 6 детей имели тяжелую асимметричную форму ЗВУР (гипотрофия III степени). У 11 детей этой группы ЗВУР сочеталась с отставанием формирования познотонических и рефлекторных реакций. На тяжесть внутриутробного страдания этих детей указывали и результаты гистологического исследования последов, в которых выявлены патологическая незрелость и диссоциированное созревание ворсин хориона, высокая степень инволютивно-дистрофических и циркуляторных нарушений. В 9 случаях плацентарная недостаточность была субкомпенсированной. Причем чем больше была задержка развития функций ЦНС, тем более выражена амплитуда агрегации ($r=0,6$; $p=0,001$).

У всех детей этой подгруппы имелась неврологическая симптоматика, преобладал синдром гипервозбудимости. По данным нейросонографии выявлялся длительно сохраняющийся отек перивентрикулярных структур мозга, указывающий на нарушение гемодинамики. В первые часы жизни у детей наблюдались одышка, периоральный и акроцианоз, свидетельствующие о замедленной перестройке гемодинамики. По данным ЭКГ отмечалась перегрузка правых отделов сердца, результаты ЭХОКГ-исследования свидетельствовали о длительном функционировании фетальных шунтов. Таким образом, имеющаяся клиническая картина указывала на нарушение микроциркуляции и гемодинамики, что существенно осложнило процесс постнатальной адаптации этих детей.

Установлено, что повышенная ААТ изменяет реологические свойства крови. В ходе агрегации

секретируются вазоактивные вещества, что в конечном итоге приводит к нарушению микроциркуляции, вазоконстрикции и может способствовать длительному отеку перивентрикулярных структур мозга и клинически проявляться в виде симптомов НМК. Поскольку только один ребенок перенес легкую асфиксию при рождении (оценка по шкале Апгар 6 баллов), можно полагать, что выявленная нами повышенная ААТ играет существенную роль в генезе неврологических расстройств у детей с ЗВУР. Следует отметить, что повышение МА агрегации в ЦК также имели дети с тяжелой формой ЗВУР и клиническими симптомами НМК.

В литературе имеются указания на повышение ААТ у новорожденных, перенесших хроническую гипоксию, что связано с истощением компенсаторных механизмов синтеза простагландина и преобладанием синтеза тромбосана и β -тромбоглобулина с вазоконстрикторным и агрегантным действием [12]. Установлено, что при хронической гипоксии происходит выраженное угнетение активности Ca^{2+} -АТФазы, что способствует току Ca^{2+} внутрь клетки, изменяя не только функциональное состояние, но и продолжительность ее жизни. Этому способствует высокая активность пероксидации липидов в мембранах тромбоцитов, что приводит к нарастанию уровня лизоформ, дающих токсический эффект [13]. В условиях хронической гипоксии генерируется большое количество супероксидного аниона, перекиси водорода и пероксинитрита, которые оказывают повреждающее действие на клетки.

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что данные механизмы изменений ААТ имеют место только у новорожденных с симметричной и тяжелой асимметричной формой ЗВУР (гипотрофия III степени), т.е. у тех детей, которые с самых ранних сроков внутриутробной жизни испытывали патогенные воздействия.

Тот факт, что в различных физиологических условиях у детей с ЗВУР сохраняются однонаправленные изменения ААТ, а также наличие корреляционной связи между величиной амплитуды агрегации в БТП и ЦК, могут свидетельствовать не только об изменении рецепторного аппарата клетки, но и о нарушении метаболизма самих тромбоцитов, в частности продукции ими биологически активных веществ.

Известно, что у детей, перенесших хроническую гипоксию, количество серотонина в тромбоцитах снижено, что авторы связывают с исходно низким уровнем его в тромбоцитах и мегакариоцитах [10]. Установлено, что в норме существует определенный баланс между захватом и секрецией серотонина, нарушение этих процессов возникает при различных патологических процессах [8]. Вероятно, при хронической гипоксии повышение ААТ приводит к активации секреции серотонина. Серотонин, являясь мощным вазоактивным соединением, а также фактором, потенцирующим эффект других агреган-

тов, может способствовать развитию тромбозов, спазму сосудов, нарушению микроциркуляции.

Известно, что в тромбоцитах с помощью ферментов N-ацетилтрансферазы и гидроксиндол-O-метилтрансферазы осуществляется синтез из серотонина гормона мелатонина, играющего важную роль в процессах адаптации, регуляции деятельности нервной, эндокринной, иммунной систем организма. Исследователи рассматривают экстрапинеальный мелатонин как сигнальную молекулу для локальной координации клеточных функций и межклеточных связей. Мелатонин является одним из сильнейших эндогенных поглотителей свободных радикалов, защищая клетки и ткани от окислительного стресса. Ингибируя циклооксигеназу тромбоцитов и продукцию тромбоксана В₂, мелатонин обладает антиагрегантным действием. Вазодилатирующий эффект мелатонина осуществляется посредством уменьшения уровня гидроперекиси, ингибирующего действия на активность NO-синтазы, подавляющего действия на вазоконстрикторный эффект норадреналина и серотонина [15].

Исходя из вышесказанного, можно предположить, что существует определенное равновесие меж-

ду секрецией серотонина и синтезом мелатонина в тромбоцитах. В условиях хронической гипоксии этот баланс нарушается, избыточная секреция серотонина активированными тромбоцитами влечет за собой снижение синтеза мелатонина. Уменьшение выработки мелатонина приводит к отмене антиагрегантного, вазодилатирующего и антиоксидантного эффектов.

Заключение

Таким образом, оценка функциональной активности тромбоцитов у детей с ЗВУР может быть использована как индикатор длительности и тяжести перенесенной гипоксии. Выявленные особенности функционального состояния тромбоцитов в БТП и ЦК могут свидетельствовать не только об изменении рецепторного аппарата клетки, но и о нарушении метаболизма в самих тромбоцитах. Проведенное исследование дает возможность углубить представление о роли изменений тромбоцитарных функций в генезе неврологических расстройств и нарушений микроциркуляции у детей с ЗВУР, что раскрывает перспективы разработки патогенетических подходов к профилактике и лечению.

ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала <http://www.pediatrjournal.ru> № 3/2005, приложение № 1.

© Коллектив авторов, 2004

В.Г. Стуров, А.В. Чупрова, А.Р. Антонов

ГЕМОМРАГИЧЕСКИЕ ДИСФИБРИНОГЕМИИ И ДРУГИЕ НАРУШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОНЕЧНОГО ЭТАПА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ У ДЕТЕЙ С СИНДРОМОМ СИСТЕМНОЙ МЕЗЕНХИМАЛЬНОЙ ДИСПЛАЗИИ

Новосибирская государственная медицинская академия, РФ

Дисфибриногемии (ДФГ) — структурные аномалии фибриногена врожденного или приобретенного генеза. Малая осведомленность клиницистов о данной патологии приводит к частой недооценке нарушений конечного этапа свертывания при первичной диагностике нарушений гемостаза у детей. В статье представлены результаты комплексного обследования 165 пациентов с нарушениями свертывания (наследственные тромбоцитарные дисфункции, гемофилия А, геморрагический васкулит, хронический ДВС-синдром), протекающие в условиях геморрагической гематомезенхимальной дисплазии (ГМД). Доказано, что в основе нарушений гемостаза у подавляющей когорты пациентов лежит снижение эффективности финального этапа фибриногенеза, чаще всего на уровне процессов полимеризации фибрин-мономеров, связанных с ДФГ. Исходя из патогенетических вариантов аномалии фактора I, предлагается программа терапевтической коррекции ДФГ, в том числе с использованием рекомбинантного фибриногена и модуляторов метаболизма мезенхимальных производных.

Dysfibrinogenemias (DFG) are congenital or acquired anomalies of fibrinogen structure. Low awareness of practitioners about this pathology leads to underestimate of final clotting pathology during

1. Барашнев Ю.И. // Рос. вест. перинатол. и педиатрии. — 2002. — № 1. — С. 6 —13.
2. Самсыгина Г.А., Дементьева Г.М., Талалаев А.Г. // Педиатрия. — 1999. — № 5. — С. 4.
3. Антонов А.Г., Бадюк Е.Е., Тылькиджи Ю.А. Гомеостаз новорожденного. — Л., 1984. — 184 с.
4. Додхоев Д.С., Евсюкова И.И, Бородина В.Л. и др. // Педиатрия. — 1999. — № 5. — С. 12 —15.
5. Третьякова М.Б. // Физиол. человека. — 2004. — № 5. — С. 198 — 200.
6. Пантелеева Ю.О. Внутрисосудистая активация тромбоцитов у новорожденных детей от матерей с гестозами второй половины беременности: Автореф. дисс. канд. ... мед. наук. — СПб., 2000. — С. 19 — 20.
7. Шабалов Н.П., Иванов Д.О., Шабалова Н.Н. // Педиатрия. — 2000. — № 3. — С. 84 — 91.
8. Гуревич В.С., Иванов В.И. Техническое описание инструкции по эксплуатации агрегометра импедансного АИ-300. — Л., 1992. — С. 17.
9. Берковский А.Л., Васильев С.А. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов. — М., 2000. — С. 22.
10. Дюков Э.В., Попов Ю.Г. Перинатальная патология и здоровье детей. / Под ред. Н.П. Шабалова. — Л., 1988. — С. 53 — 60.
11. Шабалов Н.П. // Гематол. и трансфузиол. — 1991. — № 5. — С. 10—14.
12. Башакин Н.Ф., Саляева М.В., Аксенов А.Н. // Акуш. и гинек. — 1994. — № 6. — С. 45—49.
13. Петрушина А.Д., Левитина Е.В., Халитов М.Ш. и др. // Рос. вест. перинатологии и педиатрии. — 2000. — № 1. — С. 22—23.
14. Карась С.И., Макарова Е.В., Языков К.Г. // Клин. лаб. диагностика. 1992. — № 5/6. — С. 50—52.
15. Кветная Т.В., Князькин И.В. Мелатонин — роль и значение в возрастной патологии. — СПб., 2003. — С. 5 — 19.