

казатели метаболизма железа в гомогенатах печени и лейкоцитов. Клини. и лаб. диагн. 2000; 4: 33–34.

19. *Nacone N.A.* The peroxidase conjugates for immunoenzyme method. *J. Biol. Chem.* 1965; 85: 585–587.

20. *Цветаева Н.В., Левина А.А., Мамукова Ю.И. и др.* Определение растормимых трансферриновых рецепторов для дифференциальной диагностики анемий. Клини. и лаб. диагн. 2001; 4: 29–31.

21. *Цветаева Н.В., Левина А.А., Виноградова О.Ю. и др.* Клиническое значение определения ферритина эритроцитов. Клини. и лаб. диагн. 1997; 5: 38–40.

22. *Цветаева Н.В., Левина А.А., Мамукова Ю.И. и др.* Определение витамина В₁₂ и фолиевой кислоты иммуноэнзимным методом. Клини. и лаб. диагн. 2001; 10: 45–48.

23. *Подружко А.А., Подружко А.С.* Интервальное представление полиномиальных регрессий. Труды Института системного анализа РАН. М., 2003; 48.

24. *Georgieff M.K., Landon M.B., Mills M.M. et al.* Abnormal iron distribution in infants of diabetic mothers: spectrum and maternal antecedents. *J. Pediatr.* 1990; 117: 455–461.

25. *Reynolds P.* Newborns have unique confounding factors regarding the TfR-F ratio. *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal.* Ed. 2001; 85: F145.

26. *Lott D.G., Zimmerman M.B., Labbe R.F. et al.* Erythrocytes Zinc Protoporphyrin Is Elevated With Prematurity and Fetal Hypoxemia. *Pediatrics.* 2005; 116 (2): 414–422.

27. *Румянцев А.Г.* Роль дефицита железа в структуре расстройств здоровья у детей. В кн.: Дефицит железа и железодефицитная анемия у детей. Под ред. Н.С. Кисляк. М.: Славянский диалог, 2001: 25–35.

28. *Dallman P.R., Yip R.* Iron. In *Ziegel E.E., Filer L.J.* (eds). Present knowledge in nutrition, 7th ed. ILSI Press, Washington, DC; 1996: 277–292.

29. *Wegmann T.G., Lin H., Guilbert L., Mosmann T.R.* Bidirectional cytokine in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? *Immunol. Today.* 1993, 14 (7): 353–356.

30. *Szekeres-Bartho J., Wegmann T.G.* A progesterone-dependent immunomodulatory protein alters the TH1/Th2 balance. *Reprod. Immunol.* 1996, 31(1–2): 81–95.

31. *Bessler H., Sirota L., Notti I. et al.* IL-2 receptor gene expression and IL-2 production by human preterm newborns cells. *Clin. Exp. Immunol.* 1993; 94(1): 189–194.

32. *Bessler H., Merrdel C., Straussberg R. et al.* Effects of dexamethasone on IL1 β , IL6 and TNF α production by mononuclear cells of newborns and adults. *Biol. Neonate.* 1999; 75 (4): 225–233.

33. *Bessler H., Kagazanov S., Punsky I., Sirota L.* Effect of dexamethasone on IL10, IL12 p40 production in newborns and adults. *Biol. Neonate.* 2001; 80: 262–266.

34. *Bessler H., Komios L., Punsky I. et al.* CD14 receptor expression and lipopolysaccharide-induced cytokine production in preterm and term newborns. *Biol. Neonate.* 2001; 80: 239–247.

35. *Nadya S., Kazzi J., Romero R., McLaughlin K.* Surfactant therapy modulates levels of interleukin 6 (IL6) and interleukin-1B (IL-1B) in tracheal aspirates of premature infants with respiratory distress syndrome (RDS). *Pediatric Research.* 1999; 45 (4): Part 2 of 2: 204A.

36. *Piccinni M.P., Maggi E., Romagnani S.* Role of hormone-controlled T-cell cytokines in the maintenance of pregnancy. *Biochem. Soc. Trans.* 2000, 28: 212–215.

© Коллектив авторов, 2007

М.А. Бессонова¹, Г.Н. Буслаева¹, Е.В. Никушкин², Т.Е. Цимбалова²,
А.Г. Коноплянников¹

ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА У ПЛОДОВ С ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

¹ ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет Росздрава,

² Центральная клиническая больница с поликлиникой УД Президента РФ, Москва

В статье представлены результаты исследования показателей системы гемостаза у 24 плодов с гемолитической болезнью плода (ГБП) на сроке гестации 24–33 недели в сравнении со здоровыми плодами. Пуповинная кровь была получена методом кордоцентеза. Оценивали показатели антикоагулянтной системы (антитромбин III и протеин С) и системы фибринолиза (плазминоген, α_2 -антиплазмин, ингибитор активатора плазминогена и Д-димер). При ГБП выявлена активация свертывания крови и напряженный фибринолиз. Снижение количества тромбоцитов, уровня протеина С и повышение содержания Д-димера в пуповинной крови плодов с ГБП можно рассматривать как лабораторные признаки ДВС-синдрома.

Article presents the results of study of clotting system parameters in 24 fetuses with hemolytic disease of fetus (HDF) on 24–33 weeks of gestation in comparison with healthy fetuses. Cord blood samples were obtained by cordocentesis. Next parameters were determined: anticoagulant system parameters (anithrombin III and protein C); fibrinolysis system parameters (plasminogen, α_2 -antiplasmin, inhibitor of plasminogen activator and D-dimer). The study showed that patients with HDF had activated clotting system, tensed fibrinolysis. Decreased platelet count and increased D-dimer level in cord blood of fetuses with HDF can be as laboratory signs of disseminated intravascular coagulation.

Гемолитическая болезнь (ГБ) плода (ГБП) и новорожденного (ГБН) в настоящее время занимает одно из ведущих мест в структуре перинатальной

заболеваемости и смертности, несмотря на успехи, достигнутые в профилактике, тактике ведения и лечения беременных с изосенсибилизацией, а так-

же наблюдения за новорожденными, угрожаемыми по развитию ГБН. ГБН диагностируют примерно у 0,6% всех новорожденных, и за последние десятилетия частота заболеваемости остается практически на одном уровне [1]. Перинатальная смертность от ГБН составляет 2,5–11,3% [2].

В связи с внедрением метода кордоцентеза – метода получения крови плода под ультразвуковым контролем, появились новые возможности для диагностики и лечения ГБП. Данный метод позволяет изучать параметры крови у плода и проводить лечебные тяжёлой ГБП путем внутриутробной трансфузии эритроцитарной массы (ВУТЭМ). Однако, несмотря на успехи, достигнутые в диагностике и лечении ГБП, перинатальная смертность от ГБП и ГБН остается на достаточно высоком уровне. Кроме того, наличие таких тяжелых осложнений изосенсибилизации, как антенатальная гибель плода, тяжелое течение ГБН с повторными заменными переливаниями крови (ЗПК), осложнения со стороны многих органов и систем, в том числе поражение ЦНС и печени, приводящие к инвалидизации ребенка, требует дальнейшего изучения патогенетических основ ГБП. Отдельно следует выделить наличие при ГБН нарушений системы гемостаза – геморрагического синдрома, в частности ДВС-синдрома.

В настоящее время в отечественной литературе отсутствуют данные о состоянии системы гемостаза плода в условиях изосенсибилизации без гемолиза и при развитии ГБП. В зарубежной литературе имеются наблюдения, касающиеся особенностей гемостаза у здоровых плодов в различные сроки гестации, а также доношенных и недоношенных новорожденных [3, 4].

В связи с вышесказанным целью нашей работы явилось изучение состояния гемостаза у плодов с тяжелым течением ГБ и оценка возможных влияний внутриутробных заместительных переливаний эритроцитарной массы на систему гемостаза плодов с ГБ.

Материалы и методы исследования

В процессе выполнения работы под нашим наблюдением находились 24 плода со сроком гестации 24–33 нед от 23 женщин с иммуноконфликтной беременностью на почве резус-несовместимости крови матери и плода (одна беременность бихориальной биамниотической двойней), а также 22 ребенка, рожденных от обследуемых женщин. Также была выделена группа сравнения, в которой нами проведено наблюдение за 29 женщинами, перенесшими диагностический кордоцентез для исключения хромосомной патологии плода. Все беременные наблюдались в Центре планирования семьи и репродукции МЗ РФ.

Критериями отбора женщин с резус-сенсибилизацией для проведения лечебного и/или диагностического кордоцентеза являлись титр антител 1:32 и выше; отягощенный акушерский анамнез, включающий ante-, инт-

ра- или постнатальную гибель детей от тяжелых форм ГБ; наличие детей, перенесших ЗПК в связи с ГБН; соответствие уровня оптической плотности билирубина при амниоцентезе 3-й зоне или верхней границе 2-й зоны шкалы Лили (2С), наличие ультразвуковых маркеров ГБП – увеличение толщины плаценты, многоводие, увеличение размеров печени и селезенки плода, выявление асцита и гидроперикарда у плода.

С целью определения тяжести анемии плода и ее коррекции всем беременным с резус-сенсибилизацией был проведен лечебный и/или диагностический кордоцентез от 1 до 3 раз.

При исследовании крови плода наиболее важным диагностическим критерием тяжести ГБП считали гематокрит (Ht), который являлся показателем компенсаторной возможности гемопоэза. При снижении Ht на 15% и более относительно гестационной нормы с лечебной целью проводили внутрисосудистую трансфузию эритроцитов. При исследовании крови плода также определяли параметры, характеризующие уровень анемии – гемоглобин (Hb) и эритроциты, которые были снижены относительно гестационной нормы. Однократно ВУТЭМ была проведена 20 плодам.

После проведения первичного кордоцентеза все 23 женщины с иммунологической несовместимостью крови матери и плода находились под динамическим наблюдением: проводили контроль функционального состояния плода с помощью кардиомонитора, УЗИ. У 5 плодов было отмечено ухудшение состояния и им был повторно проведен лечебный кордоцентез с трансфузией эритроцитов. Гестационный возраст этих плодов колебался от 26–33 нед. Уровень Ht, как маркер компенсаторной возможности гемопоэза, Hb и эритроцитов был снижен у всех плодов.

В связи с ухудшением состояния плода по данным кардиомониторного наблюдения и УЗИ и невозможностью досрочного родоразрешения 2 плодам с ГБ был проведен 3-й кордоцентез с внутрисосудистым переливанием эритроцитов с лечебной целью, при котором также было выявлено значительное снижение Ht, Hb и эритроцитов.

Исходом беременности на фоне резус-сенсибилизации явились преждевременные (20) и срочные роды (1), а также антенатальная гибель плода в 2 случаях. Роды у женщин с резус-сенсибилизацией проходили через естественные родовые пути, а также путем планового и экстренного кесарева сечения. Одни роды произошли бихориальной биамниотической двойней.

Из всех новорожденных с ГБ большинство относилось к мужскому полу, женский пол встречался в 2 раза реже. Гестационный возраст у обследованных детей с ГБН при рождении варьировал от 28 до 38 нед. Дети, не имевшие в анамнезе ВУТЭМ, родились наиболее зрелыми. Состояние при рождении у детей с ГБ оценивали с помощью шкалы Апгар: оценка на 1-й минуте жизни была от 1 до 8 баллов, на 5-й минуте – от 3 до 9 баллов. При сопоставлении показателей шкалы Апгар и

количества ВУТЭМ выявлено, что проведение повторных ВУТЭМ способствовало снижению внутриутробной гипоксии и лучшей адаптации детей после родов. У некоторых новорожденных с одной внутрисосудистой трансфузией эритроцитов лечебный эффект данной процедуры не проявился в связи с ранними родами, и адаптация после родов проходила более тяжело.

У всех обследованных новорожденных отмечена та или иная форма ГБ: желтушная, желтушно-анемическая или отечная. На основании клинической картины заболевания мы сделали вывод, что ВУТЭМ пролонгировали беременность, снизили внутриклеточный гемолиз и уменьшили количество детей с тяжелой отечной формой ГБ, а также способствовали рождению живых детей, несмотря на наличие тяжелой отечной формы ГБП.

Все новорожденные с различной степенью тяжести ГБ после рождения перенесли от 1 до 4 операций ЗПК с целью лечения ГБН. Нами отмечено, что дети, перенесшие повторные ВУТЭМ, лучше адаптировались после рождения, у них отмечен менее выраженный гемолиз, и они не нуждались в большом количестве ЗПК.

Критериями для включения беременных в группу сравнения явились возраст женщины старше 35 лет, заболевание краснухой во время настоящей беременности, отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, выявление изменений при раннем пренатальном скрининге, ультразвуковые маркеры хромосомной патологии у плода. Гестационный возраст плодов группы сравнения был от 20 до 28 нед. Все 29 плодов группы сравнения обследованы на наличие хромосомной патологии: генетическая патология отсутствовала у 27, наличие генетической патологии подтвердилось у 2 плодов, из них один плод женского пола и один плод мужского пола с трисомией по хромосоме 21 (синдром Дауна).

С целью изучения гемостаза у плодов с ГБ нами проведено исследование антикоагулянтной системы (антитромбин III, протеин С) и системы фибринолиза (плазминоген, α_2 -антиплазмин, ингибитор активатора плазминогена и Д-ди-

мер) у здоровых плодов и плодов с ГБ. Измерение показателей плазменного гемостаза (антитромбина III, протеина С, плазминогена, α_2 -антиплазмина, ингибитора активатора плазминогена и Д-димера) проводили на автоматическом анализаторе Behring Coagulation Timer (ВСТ) с использованием реактивов, калибраторов, стандартных и контрольных материалов фирмы Behring (Германия) по следующим методам. Антитромбин III (АТ III), протеин С, плазминоген и α_2 -антиплазмин определяли методом с хромогенным субстратом с использованием наборов Berichrom Antithrombin III (A), Berichrom Protein C, Berichrom Plasminogen, Berichrom α_2 -Antiplasmin. Результаты оценивали с помощью анализатора ВСТ автоматическим кинетическим методом (Kinetic with enzyme) по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартной человеческой плазмы с паспортным значением АТ III 100%, протеина С 99%, плазминогена 98%, α_2 -антиплазмина 92%. Ингибитор активатора плазминогена определяли методом с хромогенным субстратом, с использованием наборов Berichrom PAI. Результаты оценивали с помощью анализатора автоматическим кинетическим методом (Kinetic with enzyme) по калибровочной кривой, построенной с использованием калибраторов с паспортным значением ингибитора активатора плазминогена 0 и 5,82 Ед/мл. Д-димер определяли иммунологическим методом с помощью наборов BC D-Dimer. Результаты оценивали с помощью анализатора автоматическим кинетическим методом по калибровочной кривой, построенной с использованием калибратора с паспортным значением Д-димера 4300 мкг/л.

Результаты и их обсуждение

При анализе состояния гемостаза у плодов с ГБ нами определены показатели антикоагулянтной и фибринолитической систем в различные периоды внутриутробной жизни (табл. 1).

Тенденция к повышению в пуповинной крови уровней АТ III, протеина С, α_2 -антиплазмина и количества тромбоцитов при увеличении гестационного возраста может свидетельствовать о постепенном созревании системы гемостаза плодов с ГБ. Достоверные различия в уровнях плазминоге-

Таблица 1

Показатели гемостаза у плодов с ГБ в зависимости от сроков гестации

Показатели	ГБП (n=24)	ГБП, 24–28 нед гестации (n=9)	ГБП, 29–33 нед гестации (n=15)	Здоровые плоды 24–28 нед гестации (n=8)
АТ III, %	32,2±1,95	30,4±3,42	33,1±2,43	19,5±0,91
Протеин С, %	15,5±1,53	13,3±3,20	16,4±1,72	8,1±1,72
Плазминоген, %	25,3±1,85	25,7±3,01**	25,2±2,36	13,8±1,93**
α_2 -антиплазмин, %	50,3±4,30	44,3±8,76	52,9±4,89	59,6±9,58
РАИ, Ед/мл	2,3±0,39	3,0±0,69	1,9±0,43	1,7±0,45
Д-димер, мкг/л	135,3±40,85	211,4±70,89*	173,3±48,07	25,0±2,10*
Тромбоциты, $\cdot 10^9$ /л	286,0±26,47	252,4±54,41	299,9±30,40	н/д

Достоверность различия показателей при сравнении со здоровыми плодами: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; н/д – не делали.

Таблица 2

**Показатели гемостаза у плодов при первом кордоцентезе до ВУТЭМ
в зависимости от уровня Ht**

Показатели	N ≥ Ht ≥ 85% от N (n=4)	85% от N ≥ Ht ≥ 40% от N (n=13)	Ht < 40% от N (n=7)
АТ III, %	27,1±9,55	34,7±2,43	29,6±3,25
Протеин С, %	20,2±5,38	13,7±1,62	15,8±2,95
Плазминоген, %	25,9±4,89	26,8±2,82	22,4±2,66
α ₂ -антиплазмин, %	24,5±6,06	62,0±4,04**	45,0±7,32*
РАI, Ед/мл	–	1,8±0,41	3,1±0,69
Д-димер, мкг/л	28,5±1,50	40,45±10,24	314,9±80,92***
Тромбоциты, ·10 ⁹ /л	259,3±38,02	317,4±39,71	243,1±47,53

Достоверность различия показателей при сравнении с плодами, имеющими Ht ≥ 85% от N: * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

Таблица 3

**Показатели гемостаза у плодов при первом кордоцентезе в зависимости
от уровня тромбоцитов**

Показатели	Тр>N (n=10)	Тр в N (n=6)	Тр<N (n=8)
АТ III, %	32,1±3,67	31,1±3,93	33,4±3,31
Протеин С, %	17,3±2,15	17,6±3,02*	11,2±2,69*
Плазминоген, %	24,7±2,52	25,9±4,50	25,7±3,57
α ₂ -антиплазмин, %	54,2±6,09	48,8±10,47	46,1±7,61
РАI, Ед/мл	1,7±0,44	2,53±0,79	3,1±0,99
Д-димер, мкг/л	52,3±20,48	63,3±36,0*	318,0±97,49*

Достоверность различия показателей при сравнении с плодами, имеющими нормальное число тромбоцитов: * p<0,05.

на и Д-димера у здоровых плодов 24–28 нед и плодов с ГБ того же гестационного возраста, возможно, свидетельствуют о более активном процессе свертывания крови и фибринолиза у плодов с ГБ в эти сроки гестации.

Мы также провели анализ показателей гемостаза у плодов в зависимости от степени снижения уровня Ht в пуповинной крови (табл. 2).

Достоверное различие величин α₂-антиплазмина в крови в зависимости от снижения уровня Ht, вероятно, свидетельствует о том, что имеет место пониженное потребление данного показателя у плодов с наиболее тяжелым течением ГБ в связи с активацией фибринолиза, что подтверждается также высоко достоверным повышением уровня Д-димера.

Наряду с изменениями уровней Hb и Ht, характерными для течения ГБП, нами отмечено изменение количества тромбоцитов в пуповинной крови у плодов с ГБ: от его снижения до увеличения по отношению к гестационной норме (табл. 3).

Снижение уровня тромбоцитов, протеина С наряду с повышенным содержанием Д-димера в пупо-

винной крови плодов с ГБ можно рассматривать как лабораторные признаки ДВС-синдрома.

Большинству обследованных плодов с ГБ была проведена ВУТЭМ с целью повышения уровня Ht

Таблица 4

**Показатели гемостаза у плодов до и сразу после
первой ВУТЭМ**

Показатели	До 1-й ВУТЭМ (n=20)	После 1-й ВУТЭМ (n=20)
АТ III, %	32,8±2,0	24,4±2,19**
Протеин С, %	14,5±1,46	13,9±2,22
Плазминоген, %	25,2±2,10	18,3±2,89*
α ₂ -антиплазмин, %	55,8±4,10	44,0±5,55*
РАI, Ед/мл	2,3±0,39	1,3±0,55
Д-димер, мкг/л	147,2±44,6	109,7±40,29
Тромбоциты, ·10 ⁹ /л	291,4±31,0	257,9±34,30

* p<0,05, ** p<0,01.

Таблица 5

Показатели гемостаза у плодов при первом кордоцентезе в зависимости от формы ГБН после рождения

Показатели	Желтушная и желтушно-анемическая формы (n=15)	Отечная форма (n=7)
АТ III, %	33,13±2,74	30,89±3,73
Протеин С, %	16,56±1,87	13,61±3,29
Плазминоген, %	25,94±2,50	23,87±3,61
α_2 -антиплазмин, %	52,34±6,11	44,07±7,03
РАI, Ед/мл	1,87±0,47	2,57±0,64
Д-димер, мкг/л	30,91±3,94	286,71±84,73***
Тромбоциты, $\cdot 10^9$ /л	319,93±33,32	238,86±49,05

*** p<0,001.

и снижения риска развития отежной формы ГБ (табл. 4).

Нами выявлены достоверное снижение в пуповинной крови уровней АТ III, плазминогена, α_2 -антиплазмина и тенденция к снижению уровня протеина С, ингибитора активатора плазминогена, Д-димера и количества тромбоцитов сразу после процедуры ВУТЭМ, что, возможно, свидетельствует о некоторой тенденции к нормализации системы гемостаза у плодов с ГБ, однако нельзя исключить фактор разведения.

С целью прогнозирования состояния новорожденных исходные результаты исследования гемостаза у плодов разделены в зависимости от формы ГБН после рождения (желтушная, желтушно-анемическая и отежная) (табл. 5).

Нами выявлено снижение уровней физиологических антикоагулянтов АТ III и протеина С, а также плазминогена, α_2 -антиплазмина и количества тромбоцитов у плодов с более тяжелым течением ГБ после рождения, что, вероятно, свидетельствует об активации процессов свертывания и фибринолиза и является стадией потребления в течении ДВС-синдрома. Наряду с этими изменениями также достоверно был выше уровень Д-димера при более тяжелом течении ГБ, что также может являться признаком интенсивного фибринолиза.

Выводы

1. У плодов с ГБ по сравнению со здоровыми плодами того же гестационного возраста выявлен более активный процесс свертывания крови и напряженный фибринолиз, что, возможно, является следствием внутриутробного течения ГБ.

2. ВУТЭМ оказывают влияние на состояние гемостаза у плодов с тяжелым течением ГБ – снижение всех показателей, возможно, свидетельствует о некоторой тенденции к нормализации параметров гемостаза, однако нельзя исключить эффект разведения крови плодов эритроцитами донора.

3. Нарушения гемостаза – более активный процесс свертывания и интенсивный фибринолиз – прямо зависят от степени тяжести ГБ, при этом наиболее чувствительным показателем системы гемостаза является Д-димер, который можно использовать как критерий тяжести состояния плода.

4. Уровень тромбоцитов у плодов с течением ГБ различается: от его снижения в плодовой крови до превышения гестационной нормы. Снижение количества тромбоцитов, уровня протеина С наряду с повышенным содержанием Д-димера в пуповинной крови плодов с внутриутробным течением ГБ можно рассматривать как лабораторные признаки ДВС-синдрома.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шабалов Н.П., Цвелева Ю.В. Основы перинатологии. М., 2004.
2. Садыков Г.Ф., Игнатьева Д.П. Гемолитическая болезнь у новорожденных. Казань, 1988.
3. Manco-Johnson M., Nuss R. Hemostasis in the Neonate. NeoReviews. 2000; 1(10): 191–194.
4. Reverdiau-Moalic P., Delahousse B., Body G., et al. Evolution of Blood Coagulation Activators and Inhibitors in the Healthy Human Fetus. Blood. 1996; 88(3): 900–906.