

# ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПЛОДА И НОВОРОЖДЕННОГО

---

В.М. СИДЕЛЬНИКОВА

А.Г. АНТОНОВ

**Сидельникова В.М., Антонов А.Г. “Гемолитическая болезнь плода и новорожденного”. М., Издательство “Триада-Х”, 2004 г. — 192 с.**

ISBN 5-8249-0099-X

В книге представлены современные представления о сенсibilизации к эритроцитарным антигенам и ее роли в патологии плода и новорожденного. Наибольший раздел книги посвящен проблемам антенатальной диагностики и антенатальному лечению гемолитической болезни плода вследствие несовместимости крови матери и плода по резус-фактору.

Представлены современные методы неинвазивные и инвазивные методы диагностики и лечения.

В книге даны современные методы терапии гемолитической болезни новорожденных. Особого внимания заслуживает глава профилактики резус-сенсibilизации в ее современном аспекте. Книга предназначена для врачей акушеров-гинекологов и неонатологов.

- © Сидельникова В.М., Антонов А.Г., 2004
- © Издательство «Триада-Х», 2004
- © Оформление — «Издательский дом «Паллар», 2004

Подписано в печать 9.12. 2003.

Формат 60x90 1/16.

Печать офсетная. Усл. п.л. 12

Тираж 5 000 экз (1-й завод 2500 экз.)

Заказ № 8838

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленных диапозитивов  
в ППП «Типография «Наука» 121099, Москва, Шубинский пер., 6

## Оглавление

---

Предисловие I .....	6
Предисловие II .....	8
<b>Глава I. Этиология гемолитической болезни плода и новорожденного .....</b>	<b>10</b>
Эритроцитарные антигены крови человека и их значение в развитии гемолитической болезни.....	10
Система крови Rh-Hr и основные свойства резус-фактора и антирезус антител .....	20
Значение резус-фактора в развитии сенсбилизации.....	28
<b>Глава II. Гемолитическая болезнь плода и новорожденного .....</b>	<b>37</b>
<b>Глава III. Антенатальная диагностика гемолитической     болезни плода .....</b>	<b>45</b>
Иммунологические и иммуногенетические исследования в диагностике гемолитической болезни плода.....	45
Применение электрофизиологических методов исследования для оценки состояния плода .....	52
Ультразвуковая эхография .....	59
Допплерометрия плодово-плацентарного и маточно-плацентарного кровотока .....	64
Исследование околоплодных вод для диагностики гемолитической болезни плода .....	67
Трансабдоминальный амниоцентез .....	67
Определение содержания билирубина в околоплодных водах .....	71
Содержание белка в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни плода .....	86
Изменение содержания глюкозы в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни плода .....	92
Концентрация креатинина в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни плода .....	95

Кислотно-основное состояние околоплодных вод при различных формах гемолитической болезни плода .....	100
Содержание эстриола в амниотической жидкости при гемолитической болезни плода .....	108
Иммунологический анализ околоплодных вод при гемолитической болезни плода .....	111
Кордоцентез .....	115
Определение генотипа плода по амниоцитам .....	116
Значение определения пола плода при гемолитической болезни .....	118
Оценка степени зрелости легких плода по околоплодным водам .....	119
<b>Глава IV. Лечение гемолитической болезни плода</b>	
в антенатальный период .....	127
Неинвазивные методы терапии при резус-сенсibilизации .....	127
Десенсibilизирующая терапия антигенами .....	128
Плазмаферез .....	129
Имуноглобулин .....	132
Лимфоцитоиммунотерапия .....	135
Профилактика плацентарной недостаточности .....	139
Инвазивные методы терапии гемолитической болезни плода .....	141
Внутрисосудистое переливание крови .....	143
<b>Глава V. Тактика ведения резус-сенсibilизированных женщин ....</b>	<b>148</b>
<b>Глава VI. Лечение гемолитической болезни новорожденных .....</b>	<b>153</b>
Заменное переливание крови .....	153
Фототерапия .....	161
Терапия внутривенными иммуноглобулинами .....	167
<b>Глава VII. Профилактика резус-сенсibilизации .....</b>	<b>171</b>

**Светлой памяти академика  
ПЕРСИАНИНОВА Л.С.  
и профессора  
ЕЛИЗАРОВОЙ И.П.  
посвящается эта книга**

akusher-lib.ru

## Предисловие I

---

Среди важнейших проблем практического акушерства одно из первых мест занимает проблема иммунологии беременности и родов.

Начиная с первых недель беременности, между зародышем и материнским организмом возникают сложные иммунобиологические взаимосвязи, которые во многом определяют дальнейшее течение беременности, состояние матери, развитие плода и новорожденного ребенка. В ряде случаев иммунологическая несовместимость между матерью и плодом становится причиной тяжелых нарушений эмбриогенеза и постнатального развития. Гемолитическая болезнь, возникающая на почве сенсибилизации матери антигенами плода по системе Rh-Нг, до сих пор все еще занимает одно из первых мест среди причинных факторов гибели плода и новорожденного.

Сенсибилизация развивается в результате трансплацентарного перехода эритроцитов плода в кровотоки матери в процессе родов.

Частота иммунизации зависит от величины трансплацентарного кровотечения. Она повышается после различных оперативных вмешательств (кесарево сечение, ручное отделение последа), которые намного увеличивают переход эритроцитов плода в материнский кровоток. Установлено, что после родов иммунизация имеет место примерно у 10% женщин с резус-отрицательной кровью. Несовместимость крови матери и плода по системе АВО способствует уменьшению возможности резус-иммунизации в два раза.

Одной из частых причин развития резус-сенсибилизации является прерывание первой беременности, особенно в сроки после 8 нед, когда уже образуется резус-фактор у плода. В прежние годы иммунизация нередко возникала вследствие гемотерапии без учета резус-принадлежности как во время повторных внутримышечных инъекций, так и при трансфузиях крови.

Экспериментальными и клиническими исследованиями в 60-х годах была установлена возможность предотвращения резус-иммунизации путем блокирования эритроцитарных антигенов антителами вводимой сыворотки или антирезус-глобулином.

Во Всесоюзном НИИ акушерства и гинекологии МЗ СССР были выполнены исследования по разработке методов диагностики, лечения и профилактики гемолитической болезни. Под наблюдением находилось 1500 женщин с резус-отрицательной кровью. Для определения состояния плода, диагностики степени тяжести гемолитической болезни и для определения эффективности антенатального лечения тщательному анализу было подвергнуто течение беременности и проведены соответствующие исследования у 300 резус-отрицательных женщин, в том числе у 280 изосенсибилизированных и 20 — несенсибилизированных (контрольная группа). С целью уточнения эффективности профилактики резус-сен-

билизации было обследовано 1200 резус-отрицательных несенсибилизированных женщин. Под наблюдением находились женщины, у которых предполагалась возможность развития сенсибилизации к резус-фактору: первородящие женщины с резус-отрицательной кровью, родившие детей с резус-положительной кровью, совместимой с кровью матери по системе АВО, при наличии у мужа гомозиготного типа крови (сочетание антигенов резус ССDee, СсDeE, ссDEE).

Из 1200 женщин наибольшему риску подверглось 422. Иммуноглобулин антирезус был введен 302 женщинам, 120 составили контрольную группу. Несмотря на большой риск возможной сенсибилизации, из 302 женщин, получавших иммуноглобулин антирезус, иммунизация наступила только у двух (0,6%) в связи с массивным трансплацентарным кровотечением. В контрольной группе иммунизация выявлена у 9 (7,5%) женщин.

Наличие антител в крови у женщин с резус-отрицательной кровью во время беременности требует тщательного наблюдения за состоянием здоровья беременной и ее будущего ребенка.

Десенсибилизирующая терапия во время беременности имеет своей целью по возможности нейтрализовать резус-антитела, снизить их титр, воспрепятствовать их дальнейшему образованию и действию на плод.

Наряду с проведением неспецифической терапии у некоторых женщин с наиболее тяжелым анамнезом и выраженными явлениями сенсибилизации применяется метод специфического воздействия на организм путем пересадки кожного лоскута, взятого у мужа. По нашим наблюдениям, применение этого метода способствует снижению возбудимости матки, исчезновению симптомов токсикоза беременных. Потеря детей при предыдущих беременностях составила 95%; применение комплекса лечебно-профилактических мероприятий при последующей беременности, включая пересадку кожного лоскута, позволило снизить ее в этой группе женщин до 14,0%.

Большое внимание в монографии, обобщившей многолетний опыт авторов и ряда наших сотрудников, уделено диагностике состояния плода и новорожденного при резус-конflikте и системе мероприятий профилактического и лечебного характера.

Авторы приносят глубокую благодарность сотрудникам института, которые оказывали помощь и содействие при выполнении данной работы: сотрудникам отделения патологии беременных (зав. — проф. И. П. Иванов), родильного отделения (зав. — доц. Е. А. Чернуха), сотрудникам лаборатории иммунологии (зав. — проф. Л. С. Волкова), лаборатории биохимии (зав. — доктор биологических наук Н. В. Боявленская).

Герой Социалистического Труда,  
лауреат Государственной премии СССР,  
академик АМН СССР Л. С. Персианинов

## Предисловие II

---

Со времени публикации первого издания этой книги прошло более 20 лет. За этот период произошли существенные изменения в решении проблемы гемолитической болезни плода и новорожденного.

Благодаря внедрению метода профилактики резус-сенсibilизации введением иммуноглобулина антирезус после родов, частота резус-сенсibilизации снизилась до 1,2%, а после внедрения во многих странах мира антенатальной профилактики — до 0,1–0,2%.

Возрос интерес к редким антигенам, вызывающим сенсibilизацию матери и рождение ребенка с гемолитической болезнью вследствие Kell, Kid, Ss, Ja-несовместимости.

Появились новые методы оценки генотипа плода по эритроцитам плода в крови матери, амниоцитам.

Разработаны новые генные способы получения антирезус антител для профилактики сенсibilизации.

К сожалению, в нашей стране вопросы профилактики резус-сенсibilизации, выпали из практики врачей и в Центр часто обращаются женщины с сенсibilизацией, с гибелью детей от гемолитической болезни в анамнезе.

Имуноглобулина отечественного производства чрезвычайно мало и он не стандартизирован в мкг, а только указан титр антител. Это затрудняет использование эффективной дозы иммуноглобулина.

Мы хотели бы привлечь внимание производителей иммуноглобулинов к возможностям получения генных иммуноглобулинов анти-D.

В книге представлены данные литературы и собственные данные авторов, новые данные по диагностике и лечению гемолитической болезни плода и новорожденного. Авторы надеются, что настоящая монография будет полезна врачам акушерам-гинекологами и неонатологами в их практической работе, и с благодарностью примут все замечания.

Авторы приносят благодарность Борисовой О.С. за техническую помощь при подготовке книги.



**ЭРИТРОЦИТАРНЫЕ АНТИГЕНЫ КРОВИ  
ЧЕЛОВЕКА И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В РАЗВИТИИ  
ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ**

Организм беременной женщины постоянно подвергается воздействию многообразных антигенных раздражителей, поступающих из крови и тканевых элементов развивающегося плода. Однако такая перманентная изоиммунизация матери, как правило, не препятствует физиологическому течению беременности и нормальному развитию плода. Во время беременности между организмами матери и плода устанавливаются сложные иммунобиологические взаимосвязи, которые оказывают определенное влияние на развитие зародыша, на течение беременности и постнатальное развитие новорожденного.

Согласно современным представлениям, плод можно рассматривать как аллотрансплантат; он чужероден по отношению к организму матери, так как половина его наследственного материала получена от отца. Существует много гипотез о причине преодоления тканевого барьера несовместимости в системе мать - плод: матка — иммунологически привилегированный орган; низкая антигенность фетоплацентарных тканей; снижение иммунологической реактивности матери; маточно-плацентарный барьер. Однако ни одна из них не имеет достаточно твердого научного обоснования. Следует признать, что в этих разделах иммунология поставила больше вопросов, чем решила. Плацентарный барьер, разделяющий мать и плод, является одной из наиболее сложных биологических систем с точки зрения иммунологии. Тем не менее, в настоящее время возможность преодоления тканевого барьера несовместимости в системе мать-плод объясняется сложными процессами взаимодействия иммунной и эндокринной систем. Исследования последних лет показали участие

иммунных процессов уже на фазах оплодотворения, преимплантации и имплантации, в период формирования трофобласта и плаценты, в процессе всей беременности и в запуске родов.

Для успешной имплантации надо чтобы в эндометрии произошла дифференциация клеток и появилось «окно имплантации», которое в норме наблюдается на 6–7 день после овуляции и чтобы бластоциста достигла определенной степени зрелости и были активированы протеазы, которые будут способствовать продвижению бластоцисты в эндометрий. Процессы появления «окна имплантации» и созревания бластоцисты должны быть синхронными. Если этого не произойдет, то имплантация не состоится, либо беременность прервется на ранних ее стадиях. Перед имплантацией бластоциста экспрессирует преимплантационный фактор (PIF), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и также мессенжеры рибонуклеиновой кислоты (m RNA) и протеина к VEGF, что дает возможность эмбриону очень быстро осуществить ангиогенез для успешной плацентации и для дальнейшего его развития.

Перед имплантацией поверхностный эпителий эндометрия покрыт муцином, который предотвращает преждевременную имплантацию. К моменту открытия «окна имплантации» муцин разрушается протеазами продуцируемыми эмбрионом. Имплантация включает 2 этапа:

I этап — адгезия двух клеточных масс — эндометрия и эмбриона;

II этап — децидуализация стромы эндометрия.

Вопрос о том, как эмбрион идентифицирует место имплантации остается до сих пор открытым. Гипотетически предполагают, что эмбрион выделяет растворимые факторы/молекулы, которые, воздействуя на эндометрий, подготавливают его к имплантации.

В процессе имплантации ключевая роль принадлежит адгезии, но этот процесс, который позволяет удерживать две различные клеточные массы, чрезвычайно сложен. В нем принимает участие огромное количество факторов. Полагают, что ведущим фактором в адгезии в момент имплантации являются интегрины, экспрессия которых увеличивается в момент имплантации. Однако интегрины не имеют энзиматической активности. Исследования, проведенные группой японских исследователей (Shiokama et al., 2000) показали, что протеины RhoA превращают неактивный интегрин в активный, который в состоянии участвовать в процессах клеточной адгезии.

Помимо интегринов адгезивными молекулами является целый ряд протеинов: трофеин, бустин, тастин. Они принимают участие не только в имплантации, но и в дальнейшем развитии плаценты. В адгезии принимают участие молекулы внеклеточного матрикса — остеопонтин, ламинин. Чрезвычайно большая роль отводится различным факторам роста. Особое внимание исследователи уделяют значению в имплантации инсулиноподобных факторов роста и связывающих их протеинов. Значительное место в процессах имплантации играет гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста, который экспрессируется как в эндометрии, так и в эмбрионе, фактор роста фибробластов, костный морфогенный протеин. После адгезии двух клеточных систем — эндометрия и трофобласта начинается фаза инвазии трофобласта. Клетки трофобласта выделяют ферменты протеазы, которые позволяют трофобласту «протиснуть» себя между клетками в строму, лизируя внеклеточный матрикс ферментом металлопротеазой. Важнейшим фактором роста трофобласта является инсулиноподобный фактор роста II.

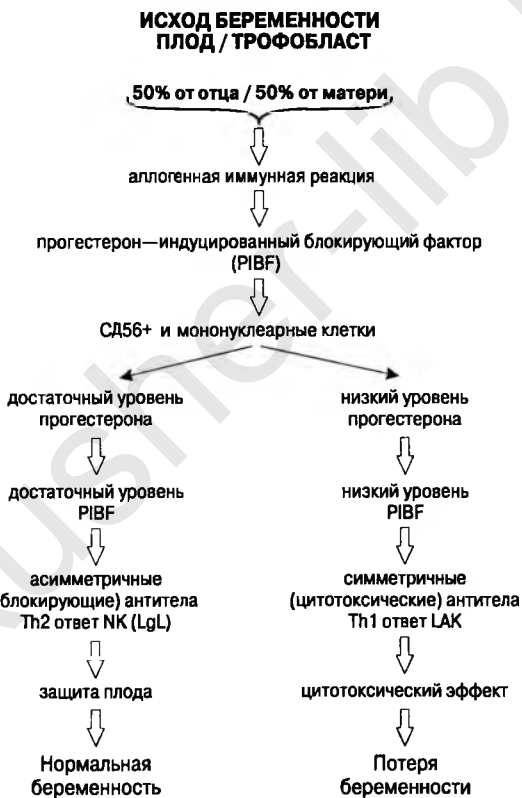
В момент имплантации весь эндометрий пронизан иммунокомпетентными клетками — одного из важнейших компонентов взаимодействия трофобласта с эндометрием. Иммунологические взаимоотношения между эмбрионом и матерью в процессе беременности схожи с теми взаимоотношениями, которые наблюдаются в реакции трансплантат — реципиент. Полагали, что имплантация в матку контролируется сходным путем, через Т-клетки, распознающие аллоантигены плода, экспрессируемые плацентой. Однако недавние исследования показали, что антигены гистосовместимости, т.е. антигены системы HLA I и II класса, не экспрессируются на трофобласте (Beer A. et al., 2000).

В настоящее время полагают (Loke Y. et al., 2000), что есть другой путь распознавания эмбриона. На трофобласте экспрессируется полиморфный антиген HLA-G. Этот антиген служит как молекула адгезии для больших гранулярных лейкоцитов NK клеток, несущих маркеры CD3- CD8+ CD56+, количество которых значительно увеличивается в эндометрии в середине лютеиновой фазы. Эти клетки функционально более инертны, чем децидуальные гранулярные лейкоциты с маркерами CD8- CD56+ в продукции провоспалительных цитокинов (TNF $\alpha$ , ИФН $\gamma$  и др.). Кроме того, трофобласт экспрессирует рецепторы к провоспалительным цитокинам низкой связывающей способности. В результате этого на плодовые антигены ответ будет в основном через Th-2, а не Th-1, т.е. будет преимущественно выработка регуляторных цитокинов (il-3, il-4, il-10, il-13 и др.), а не провоспалительных.

Нормальный баланс между Th-1 и Th-2 способствует успешной инвазии трофобласта. В норме в результате роста и развития трофобласта под влиянием факторов роста, продуцируемых клетками децидуа и NK клетками, увеличивается продукция гормонов. Особенно существенным для иммунных отношений является прогестерон.

Схема 1

### Иммунологический эффект прогестерон-индуцированного блокирующего фактора ( Szekeres-Bartho J., 2001)



NK - естественные киллеры CD56+  
LgL - большие гранулярные лимфоциты  
LAK - лимфокин-активированные киллерные клетки

Прогестерон при беременности играет исключительно важную роль: он готовит эндометрий к имплантации, способствует росту и развитию миометрия, его васкуляризации, поддерживает миометрий в состоянии покоя путем нейтрализации действия окситоцина. При беременности благодаря повышенному содержанию прогестерона клетки эндометрия продуцируют секреторный компонент, который снижает синтез простагландина, обеспечивая покой матке.

Прогестерон является одним из основных гормонов, который ингибирует реакцию отторжения плода. Полагают, что высокая концентрация прогестерона блокирует клеточный иммунный ответ на чужеродные антигены. Под влиянием прогестерона иммунокомпетентные клетки синтезируют прогестерон-индуцированный блокирующий фактор (PIBF) (Szekeres-Bartho J., 2001). Этот фактор увеличивает продукцию регуляторных цитокинов (il-3, il-4, il-10) и снижает продукцию провоспалительных цитокинов. Кроме того, CD56+ под влиянием PIBF становятся функционально менее активными (CD56+16-) — большими гранулярными лимфоцитами (LgL). При низком содержании PIBF клетки CD56+ за счет провоспалительных цитокинов становятся иммунологически активными — лимфокин-активированными киллерами (CD56+ 16+). Иммунные взаимоотношения при этих вариантах представлены на схеме 1. Кроме того, прогестерон стимулирует местно продукцию протеинов (Tj 6), которые вызывают апоптоз естественных киллеров в эндометрии.

Таким образом, осуществляется блокирующая роль прогестерона в иммунном отторжении эмбриона.

Полагают, что ХГ обладает иммуносупрессивными свойствами и является одним из компонентов «блокирующих свойств сывотки», предотвращающей отторжение чужеродного для иммунной системы матери плода. Рецепторы к ХГ найдены в миометрии, в сосудах миометрия, по-видимому, ХГ как и прогестерон способствует обеспечению покоя матки и ее развития.

Эти данные показывают, насколько сложны и взаимосвязаны иммунные и эндокринные факторы в поддержании беременности.

Нормальное развитие беременности многими исследователями объяснялось наличием маточно-плацентарного барьера, полностью отделяющего плод от матери. Однако установлено, что плацента является проницаемым барьером.

Трансплацентарный перенос эритроцитов лежит в основе иммунизации матери к антигенам клеток крови плода. Доказано также, что перенос клеток крови может осуществляться и от матери к плоду.

Среди клинических форм иммунопатологии беременности наиболее изучена и занимает ведущее место гемолитическая болезнь плода и новорожденного, которая развивается вследствие несовместимости организмов матери и плода по различным эритроцитарным антигенам.

В настоящее время известно более 10 изосерологических систем эритроцитарных антигенов (табл.1). В подавляющем большинстве случаев гемолитическая болезнь плода и новорожденного вызывается сенсбилизацией матери антигенами системы резус и АВО. Значительно реже она возникает при несовместимости крови матери и плода по другим эритроцитарным антигенам.

Таблица 1

### Эритроцитарные антигены системы крови человека (сводные данные)

	Антитела	Характер антител	Вероятность трансфузионных осложнений	Способность вызывать гемолитическую болезнь плода новорожденного
1	2	3	4	5
<b>Система (ABO A, B, A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>0</sub>, Az, B, O, H)</b>				
A	Анти-A	Естественные - IgM Иммунные IgG агглютинины гемолизины	--- Вероятно	--- Частая причина гемолитической болезни при наличии у матери O(I) гр. крови и явлений сенсбилизации
B	Анти-B	Естественные - IgM Иммунные IgG агглютинины гемолизины	--- Вероятно	--- Вызывают гемолитическую болезнь при наличии у матери O(I) группы крови и явлений иммунизации
H	Анти-H	Естественные	---	Не вызывают
O	Анти-O	Естественные	---	Не вызывают
<b>Система Rh-Hr (D, C, E, d, c, e, D<sup>w</sup>, D<sup>u</sup>, C<sup>w</sup>, C<sup>x</sup>, C<sup>u</sup>, E<sup>w</sup>, E<sup>u</sup>, E<sup>t</sup>, e<sup>s</sup>, e<sup>i</sup>, f(ce), w(ce), G (CD))</b>				
D	Анти-D	Иммунные	Вероятно	Наиболее частая причина гемолитической болезни
C	Анти-C	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко; если есть, то вызывают гемолитическую болезнь
E	Анти-E	Редко-естественные Иммунные	--- Вероятно	--- Не вызывают
c	Анти-c	Иммунные	Вероятно	Вызывают гемолитическую болезнь

e	Анти-e	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь
V(ce <sup>a</sup> )	Анти-V	Иммунные	Вероятно	Не вызывают
CD (G)	Анти-CD	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь
f (ce)	Анти-f	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь
<b>Система Келл (K, k, Kp<sup>a</sup>, Kp<sup>b</sup>, Ku, Is<sup>a</sup>, Is<sup>b</sup>)</b>				
K	Анти-K	Иммунные	Вероятно	Вызывают гемолитическую болезнь; более часто при крови матери и плода, совместимой по ABO и Rh
k	Анти-k	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь
Kp <sup>a</sup>	Анти-Kp <sup>a</sup>	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь
Kp <sup>b</sup>	Анти-Kp <sup>b</sup>	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь
Is <sup>a</sup>	Анти-Is <sup>a</sup>	Иммунные	Нет	Не вызывают
Is <sup>b</sup>	Анти-Is <sup>b</sup>	Иммунные	Нет	Не вызывают
<b>Система Даффи (Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>)</b>				
Fy <sup>a</sup>	Анти-Fy <sup>a</sup>	Иммунные	Вероятно	Вызывают редко
Fy <sup>b</sup>	Анти-Fy <sup>b</sup>	Иммунные	Нет	Не вызывают
<b>Система MNSs (M, N, M<sub>1</sub>, N<sub>1</sub>, S, s, V, (S<sup>u</sup>), U, Hu, He, N<sub>2</sub>, M<sup>c</sup>, M<sup>g</sup>, Tm, Si, M<sup>k</sup>, M<sup>v</sup>, M<sup>i</sup> и т.д. – всего 29 антигенов)</b>				
M	Анти-M	Естественные (очень редко)	Нет	Не вызывают
	Анти-M	Иммунные	Вероятно	Чрезвычайно редко
N	Анти-N	Естественные	Нет	Не вызывают
	Анти-N	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь

S	Анти-S	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь.
s	Анти-s	Иммунные	Вероятно	Встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь
Система Pp (P, P <sub>1</sub> , P <sub>2</sub> , Pp <sup>K</sup> , Tj <sup>a</sup> )				
P	Анти-P	Естественные (редко)	Вероятно	Описания не найдено
P <sub>1</sub>	Анти-P <sub>1</sub>	Естественные	Нет	Не вызывают
Система Лютеран (Lu <sup>a</sup> , Lu <sup>b</sup> )				
Lu <sup>a</sup>	Анти-Lu <sup>a</sup>	Естественные	---	---
Lu <sup>b</sup>	Анти-Lu <sup>b</sup>	Иммунные	Не исключают	Описания не найдено
	Анти-Lu <sup>b</sup>	Иммунные	Вероятно	Антитела встречаются редко, если есть, вызывают гемолитическую болезнь
Система Льюис (Le <sup>a</sup> , Le <sup>b</sup> )				
Le <sup>a</sup>	Анти-Le <sup>a</sup>	Естественные, редко иммунные	Вероятно	Описания не найдено

Частота гемолитической болезни вследствие несовместимости крови по системе АВО равна 1:200 — 256 родов (Таболин В. А., 1964). По данным Dausset (1959), если учитывать все случаи ранней желтухи, поражение плода антителами системы АВО наблюдается в 2–3 раза чаще, чем другими антителами. При гетероспецифической беременности развитие гемолитической болезни плода и новорожденного более часто наблюдается при наличии у матери 0(I) группы крови, у отца (и плода) — А (II) группы (Levine, 1943, Shurin S. 1992), так как А антиген обладает более сильными антигенными свойствами. Этот факт, по-видимому, можно также объяснить более высоким титром анти-А антител по сравнению с титром анти-В антител. Кроме того, в настоящее время выяснено, что молекулярная масса α-частицы у лиц с 0(I) группой крови в 5 раз меньше, чем у лиц с кровью В(III). Следовательно, при сочетании групп крови матери и плода 0–А материнские анти-А антитела будут проникать через плаценту намного легче, чем при сочетании В–А. Групповые антигены системы АВО обнаруживаются в эритроцитах зародыша на ранних стадиях его развития — с 5–6 нед беременности.

Агглютинабельная активность антигенов А и В новорожденного в 5 раз меньше, чем у взрослого человека. Групповые изо-



агглютинины  $\alpha$  и  $\beta$  в отличие от А и В антигенов, появляются в значительно более позднем периоде индивидуального развития (Косяков П.Н., 1974).

Различают две категории групповых антител-агглютининов: естественные, возникающие в процессе формирования организма, и иммунные, появляющиеся в результате иммунизации антигенами А или В. Помимо геагглютининов в сыворотке крови здоровых людей встречаются групповые гемолизины, но в невысоком титре; чаще они образуются при АВО-изоиммунизации. Гемолизины  $\alpha$  более активны, чем гемолизины  $\beta$ . Появление иммунных антител может быть вызвано либо переливанием несовместимой крови, либо беременностью и родами (или абортom).

Известно, что целый ряд вакцин в связи с особенностями питательных сред, на которых выращиваются микробные культуры, содержат фактор А. Поэтому сенсбилизация женщины с первой ( $O\alpha\beta$ ) или третьей ( $B\alpha$ ) группами крови возникает достаточно часто еще до беременности и вне связи с гемотрансфузией; она может быть вызвана в этих случаях повторными профилактическими вакцинациями.

Гемолитическая болезнь при АВО-несовместимости редко бывает тяжелой. Это обусловлено тем, что экспрессия антигенов А и В слабо развита у плода и, кроме того, эти антигены широко представлены в тканях, они растворимы в жидкостях организма и связывают антитела, ограничивая их поступление в кровоток плода. Кроме того, естественные анти-А и анти-В нередко иммуноглобулины класса IgM и не проникают через плаценту (Hanton-Landbery K. et al., 2000).

\*  
\* \*

Другими изосерологическими системами крови, с которыми могут быть связаны те или иные формы иммунопатологии беременности женщины, являются системы Келл-Челлано (Кк), Даффи ( $F_y^a - F_y^b$ ), Кидд ( $I k^a$ ), MNSs, Pp, Лютеран ( $L_u^a L_u^b$ ).

\*  
\* \*

Антигены системы Kell формируются в эритроцитах зародышей также на ранних стадиях развития на 6–7-й неделе.

Система антигенов Kell сложная и содержит примерно 21 антиген. Наиболее иммуногенными является Kell-1(K), который встречается у 9% населения. Его противоположностью является Kell-2(k), который встречается у большинства населения (Lee S. et al., 1996). Антитела

анти-Kell-1 обычно является результатом переливания несовместимой по Kell крови. В большинстве стран мира, в том числе в России, этот антиген не тестируется при переливании крови. Антитела редко, но могут возникать и после родов. Частота Kell-1 сенсибилизации среди акушерских пациентов составляет 0,1% (Caine M., et al., 1986, Mayne K. et al., 1990). У сенсибилизированной к Kell-1 женщины при Kell-1 положительной крови мужа имеется 50% шансов иметь ребенка с гемолитической болезнью. Гемолитическая болезнь при Kell-1 сенсибилизации может быть такой же тяжелой, как и при резус-сенсибилизации, но имеет свои особенности. Во-первых, нет параллелизма между тяжестью заболевания и уровнем антител даже при первой беременности протекающей при Kell-1 сенсибилизации. Отмечали тяжелую форму заболевания при низком уровне антител (Stanworth S., et. Al., 2001). Анемия плода и новорожденного при Kell-гемолитической болезни не связана с гемолизом эритроцитов и по уровню билирубина в околоплодных водах невозможно определить степень тяжести гемолитической болезни. Анемия плода связана с уникальной способностью антител подавлять эритропоэз плода (Moise K., 2000). В связи с этой особенностью отмечены случаи вторичных анемий у детей (Vaughan J., et al., 1998; Luben N., 1998).

Пренатальное определение генотипа плода чрезвычайно важно при ведении таких сенсибилизированных женщин. Использование современных технологий — метод полимеразной цепной реакции с использованием аллель-специфических праймеров, позволяет по крови матери, по клеткам, полученным при биопсии хориона и при амниоцентезе, определить Kell-принадлежность плода. Эти методы позволяют определить генотип плода Kell-1/1, Kell-2/2, Kell-1/2 (Lee S., et al., 1996). При выявлении у плода генотипа Kell-2/2 дальнейшие диагностические мероприятия не проводятся, при других генотипах — необходим кордоцентез, для диагностики степени тяжести гемолитической болезни. Амниоцентез и определение оптической плотности билирубина в околоплодных водах не имеет диагностической ценности.

Антигены других систем эритроцитов появляются при следующих сроках развития: MN Ss — на 5–6-й или 7–8-й неделе, Pp — на 6–7-й, Даффи — на 10–14-й и Кидд — на 17-й неделе.

По данным американских исследователей, несмотря на профилактику резус-сенсибилизации, гемолитическая болезнь по другим эритроцитарным антигенам продолжает иметь место, так как нет

методов профилактики сенсибилизации к этим антигенам. Особую роль играют вышеуказанные антигены. По данным Нью-Йорского Центра лечения ГБ, сенсибилизация у женщин репродуктивного возраста после внедрения в практику анте- и постнатальной профилактики резус-сенсибилизации, встречается в 1,1% от всех беременностей, из них анти-D — в 25%, анти-Kell — в 28%, анти-C — в 7%, анти-Duffy — в 7%, анти-Kidd — в 2%, анти-E — в 18%, анти-c — в 6%, анти-MNS — в 6% и анти-Luteran — в 2% наблюдений.

Однако из всех клинических форм гемолитической болезни, развивающейся в результате несовместимости крови матери и плода по эритроцитарным антигенам, наиболее часто и наиболее тяжело протекает гемолитическая болезнь при резус-несовместимости.

### СИСТЕМА КРОВИ Rh-Hr И ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА РЕЗУС-ФАКТОРА И АНТИРЕЗУС-АНТИТЕЛ

Резус-фактор был открыт в 1940 г. в результате экспериментальных работ Landsteiner и Wiener с сывороткой крови, полученной от иммунизированных животных. Длительное время считали, что сыворотка от иммунизированных животных и сыворотка анти-резус от человека выявляют один и тот же антиген-резус (D). Однако постепенно накапливающиеся данные показали, что антиген-резус крови человека не идентичен антигену, открываемому этими сыворотками в крови животных. По предложению Levine фактору, открытому Landsteiner и Wiener, дано название LW в честь первооткрывателей. Системе крови человека было оставлено историческое название — система резус-фактора.

С 1940 г. началось интенсивное изучение антигенных свойств крови человека. Было обнаружено, что резус-фактор представляет собой целую систему антигенов. По данным Landsteiner и Wiener (1941), Wiener и Soon (1946), существует три основных разновидности резус-фактора, качественно отличающиеся друг от друга: антиген D/Rh<sup>1</sup>, содержащийся в крови у 85% людей; антиген C(rh<sup>1</sup>), содержащийся в крови у 70% людей и антиген E(rh<sup>2</sup>), имеющийся у 30% людей. В связи с тем, что они являются доминантными, при наличии хотя бы одного из этих антигенов на эритроцитах человек является резус-положительным.

Как показали дальнейшие исследования, кровь резус-отрицательных лиц также не лишена антигенных свойств. В 1948 г. Hoberman и Hill обнаружили в крови резус-отрицательного человека фактор Hr

(Haberman et al., 1954). Имеется три разновидности антигена Нг: антигены d, с, е — аллели антигенов D, С, Е. Предполагают (Mollison, 1967), что фактор d является аморфной массой и не обладает способностью вызывать образование антител. Антиген с (hr) открыт Levine (1945 г.); он встречается в крови 85% людей, обладает выраженными антигенными свойствами. В литературе описано немало случаев гемолитической болезни вследствие несовместимости крови матери и плода по антигену с. Антиген е (hr<sup>+</sup>) открыт Mourant (1946г.), встречается в крови 98% людей и обладает слабыми антигенными свойствами.

Согласно предположению Fisher и Race (1944), наследование резус-антигенов определяется серией аллельных генов, расположенных тесно на одной хромосоме, причем гены D и d, С и с, Е и е находятся во взаимоисключающих отношениях, т. е. при наличии антигена D на хромосоме отсутствует ген d и наоборот. Присутствие D-антигена на эритроцитах обусловлено геном D, который имеет аллель d. Таким образом, может быть три генотипа: DD — гомозиготный, Dd — гетерозиготный и dd — гомозиготный. Все три гена одной хромосомы наследуются одновременно. Однако связь их при этом иногда нарушается, в частности тогда, когда происходит кроссинговер, т. е. перекрест хромосом.

По мнению Wiener (1951), наследование резус антигенов идет не по отдельным антигенам D, С, е, а целым комплексом антигенов, соединенных вместе — «DCE».

Принимая во внимание 6 основных аллелей антигенов системы резус, выделяют 8 основных их комбинаций (табл. 2). Однако различные сочетания антигенов резус встречаются не с одинаковой частотой. Наиболее часто среди европейского населения встречаются три комбинации: CDe (R<sup>1</sup>), cDE (R<sup>2</sup>) и cde (r).

Таблица 2

**Частота Rh-количество антигенов (Mollison 1967 г.)**

Короткие обозначения (Wiener)	CDE-номенклатура (Fischer Race)	Частота
R <sup>1</sup>	CDe	0,4076
r <sub>2</sub>	Cde	0,3886
R <sub>0</sub>	CDE	0,1411
R	cDe	0,0257
r <sup>11</sup>	cdE	0,0119
r <sup>1</sup>	Cde	0,0098
R <sup>2</sup>	CDE	редко
r <sup>y</sup>	CdE	

Если принять во внимание, что ребенок наследует по одному гену от каждого родителя, то существует по крайней мере 36 возможных генотипов системы резус (табл. 3).

Таблица 3

**Вероятная частота гомо- и гетерозиготных типов крови в зависимости от сочетаний антигенов системы резус (Jouvencaux и Michand, 1961)**

Фенотип	Наиболее часто встречающийся генотип	Частота, %
CCDee	CDe/CDe	95
CcDEe	CDe/cDE	91
ccDEE	cDE/cDE	85
CcDee	CDe/cde	92
ccDEe	cdE/cde	94

Резус-антигены — это группа полипептидов, тесно расположенных на клеточной мембране эритроцитов: D, C, E, c, e. Наиболее иммуногенными является антиген D, он является основным в резус-иммунизации. Гены, кодирующие Rh-систему крови, расположены на хромосоме 1p34.3–1p36.1 (Cherif-Zahar Betal, 1991, MacGeoch C. et al., 1992). В настоящее время уточнены многие детали в генетике системы резус-фактора.

После кодирования ДНК один из полипептидов Rh был выделен. Было обнаружено, что Rh локус имеет два гомологических гена, которые, по-видимому, происходят от дупликации наследственных генов. Один кодирует D полипептид и присутствует только у Rh-положительных лиц, другой кодирует C/c, E/e полипептиды (Colin G., et al., 1991). В дальнейшем было подтверждено, что полиморфизм нуклеотидов в кодировании последовательности аминокислот позволяет дифференцировать два разных гена системы (Le Van Kim et al., 1992). Выделенные нуклеотидные изменения, вызывая дифференциацию аминокислот изменяют изоформу каждого полипептида (Le Van Kim et al., 1992, Mouro I., et al., 1993).

55% резус-положительных людей белой расы являются гетерозиготами по D-гену. Если Rh-отрицательная женщина беременна от Rh-положительного мужчины, то плод имеет 50% шансов быть гетерозиготным Rh-положительным как отец и 50% шансов быть резус-отрицательным.

Благодаря исследованиям генетической природы антигенов системы резус в настоящее время разработаны технологии, которые позволяют определить резус-принадлежность плода по анализу материнской крови (вернее по генам плода в материнской крови),

по анализу клеток амниотической жидкости и даже по исследованиям одной клетки, полученной из бластомера в программе ЭКО. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — основной метод для диагностики резус-принадлежности.

Метод ПЦР основан на принципе репликационного умножения числа копий небольшого фрагмента ДНК (генетических текстов). Для создания ПЦР системы необходим небольшой фрагмент ДНК, строго специфичный для данного антигена, с помощью амплификации увеличивают его, затем электрофорезом в агарозном геле идентифицируют.

По данным Van-den Veyver и соавт. (1995), Chan et al., (2001), Crombach G. (1999) и др., внедрение этой технологии позволяет с точностью до 96% определить резус — принадлежность эмбриона по одной клетке.

Внедрение этой методики изменит протокол ведения беременности как в случае сенцибилизации, так и в программе профилактики резус-сенсibilизации.

Сложность системы резус обусловливается большим количеством мутаций каждого гена. Описан целый ряд антигенов, которые относятся к системе резус, но обладают несколько отличными от основных антигенов свойствами.

Практически важный вариант антигена D-антиген  $D^u$  обладает более слабыми антигенными свойствами, дает реакцию агглютинации не со всеми сериями анти-D. По данным Т. М. Пискуновой (1972), частота фактора  $D^u$  составляет 1,05%, чаще всего он встречается в фенотипах  $CD^u_e$ ,  $cD^uE$ .

Один из мутантов антигена C-антиген  $C^w$  открыт Callender и Race в 1946 г., чаще всего он встречается в фенотипе  $C^wDe$ . Stratton и Reuton (1954) описали случай гемолитической болезни вследствие несовместимости крови по антигену  $C^x$ . Race и соавт. в 1951 г. обнаружили антиген  $C^u$ . Greenwalt и Sanger (1955) описали редкий вариант антигена E, который они обозначили  $E^u$ . Антиген  $E^w$  был описан Ceppellini (1950).

Как показали исследования, варианты резус- $D^u$ ,  $C^u$ ,  $E^u$  не способны стимулировать образование специфических антител; по отношению к ним образуются антитела анти-D, анти-C и анти-E. По мнению П. Н. Косякова (1974), эти факты дают основания считать, что антигены  $D^u$ ,  $C^u$ ,  $E^u$  качественно не отличаются от соответствующих антигенов D, C, E, являясь их слабо выраженными вариантами. Все другие варианты антигенов резус- $D^w$ ,  $C^w$ ,  $C^x$ ,  $E^w$  и др. характеризуются качественными антигенными различиями; по отношению к ним получены специфические антитела.

Кроме описанных антигенных вариантов системы резус были обнаружены антигены, представляющие собой комплексы двух антигенов, характеризующиеся новыми серологическими свойствами. Так установлено, что антиген V возникает при комбинации антигенов  $ce^s$  ( $e^s$  — разновидность антигена  $e$ ) и встречается чрезвычайно редко. Allen и Tippett (1958) обнаружили эритроциты, которые реагировали с сывороткой анти-CD, но не с анти-D и анти-C. Они описали антиген G, который присутствует на эритроцитах в комбинации антигенов CD. П. Н. Косяков (1974) считает, что комплексные антигены не являются простой смесью двух или трех антигенов. В результате комбинации возникает новый антиген, обладающий другими серологическими свойствами. Наследование комплексных антигенов происходит под контролем комбинации различных генов, а их образование зависит от особого расположения генов в хромосоме.

Биологическая роль резус-фактора на эритроцитах стала понятна после исследований у лиц лишенных резус-фактора на эритроцитах — резус-дефицитной синдром (Rh-SUPNULL).

Было показано, что резус-антигены эритроцитов образуют на мембране сложный комплекс, тесно связанный с мембранными полипептидами. В состав этого комплекса помимо Rh-антигенов входят RhAg (резус-ассоциированный гликопротеин), антигены LW (Landsteiner и Wiener), gPB (антигены Ss) и CD47. Rh и RhAg — эритроцит-специфичны и кодируются гомологичными генами той же семьи генов, расположенных на 1 и 6 хромосомах. Этот комплекс принимает участие в организации мембраны фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина, образуя фосфолипидную трансдвуслойную асимметрию, обеспечивает пассивный и активный транспорт катионов K и Na, Na-K АТФазную активность мембран, обеспечивая нормальную гидротацию эритроцитов.

Роль других участников этого комплекса не совсем ясна. Полагают, что наличие на этом комплексе маркера CD47 является сигналом к макрофагам селезенки и предотвращает фагоцитоз.

При Rhсupnull аномалия обусловлена мутацией генов кодирующих Rh-протеин и Rh-Ag, в то время как остальные участки комплекса могут быть не изменены. Заболевание передается по наследству аутосомно-рецессивным путем и характеризуется хронической гемолитической анемией различной степени тяжести за счет нарушения организации мембраны, дегидратации ее, снижения осмотической стойкости, нарушения пассажа Na и K (Carton J-P, 1998).

Антигены системы резус, будучи введенными в организм людей с резус отрицательной кровью, вызывают у них выработку анти-резус антител.

По мнению Т. Г. Соловьевой (1963), Potter (1946), резус имеет равномерное распределение среди различных групп населения независимо от пола и возраста.

По данным Calvin и соавт. (1946), резус-фактор по своей природе является липопротеинэллинином. Dodd и соавт. (1964) нашли, что иммунологическую детерминанту антигена резус-D определяют D-галактоза, D-глюкоза, N-ацетилгалактозамин и N-ацетилнейраминавая кислота. В 1965 г. Green представил убедительные данные о том, что резус-фактор является протеином. Из-за большой лабильности антигена резус он в очищенном виде из эритроцитов человека не получен. В основе существования большого числа качественно отличающихся друг от друга разновидностей антигенов резус лежат, по-видимому, тонкие биохимические отличия. Однако конкретные характеристики этих особенностей отсутствуют.

В настоящее время нет убедительных данных, которые бы определенно свидетельствовали о наличии или отсутствии антигенов системы резус в лейкоцитах, тромбоцитах, в фиксированных клетках тканей, также в жидких средах организма. Данные по этому вопросу крайне противоречивы.

По мнению П. Н. Косякова (1974), антигены резус в отличие от групповых антигенов А и В если и переходят в жидкости организма, то в столь незначительном количестве, что с помощью современных методов исследования они не обнаруживаются. Отсутствие антигена резус в жидкостях организма является следствием нерастворимости его в воде. Следовательно, сыворотка или плазма крови плода, а также амниотическая жидкость не в состоянии осуществить в должной мере нейтрализующую функцию в отношении резус-антител, проникающих из организма матери. Этим, и не без оснований, объясняют тот факт, что гемолитическая болезнь плода и новорожденного в большинстве случаев связана с резус-фактором.

Дифференциация резус-фактора начинается в ранние сроки внутриутробного развития. По данным В. А. Струкова (1952), Potter (1947), Stratton (1948), он обнаруживается у плода в 8 нед беременности. В 1954 г. Furuhata и соавт. представили данные о высокой степени активности антигенов резус в эмбриональном периоде. К 5-6-му месяцу внутриутробного развития степень агглютинабельности резус-положительных эритроцитов достигает



300% по сравнению с теми же показателями у взрослых людей, в то время как степень активности агглютиногенов А, В, М и др. в эритроцитах плода намного ниже активности у взрослых.

Признано, что в крови человека естественные антитела по отношению к резус-фактору отсутствуют, хотя в литературе имеются отдельные сообщения о выявлении у некоторых резус-отрицательных лиц естественных антител, которые однако по своим свойствам отличаются от иммунных.

Иммунные антирезус-антитела появляются в организме в ответ на попадание резус-антигена либо после переливания резус-несовместимой крови, либо после родоразрешения резус-положительным плодом. Наличие в крови резус-отрицательных лиц антирезус-антител является показателем сенсibilизации организма к резус-фактору.

Появление антител у резус-отрицательных людей подчинено различным условиям: повторности попаданий антигена, интервалу между ними, количеству антигена, толерантности организма и т. д. По данным Т. Г. Соловьевой (1956), выработка антител наблюдается через 3–5 мес и позднее с момента попадания антигена в кровоток. Сенсibilизация организма усиливается по мере продолжающегося действия антигена.

Иммунные антитела относятся к классу глобулинов М, G и А. На основании различия серологических свойств антитела делят на «полные», или солевые, агглютинины и «неполные». «Полные» антитела характеризуются способностью агглютинировать эритроциты, находящиеся в солевой среде. Они обычно выявляются на ранних стадиях иммунного ответа и относятся к фракции IgM. Молекулы «полных» антител обладают большими размерами. Их относительная молекулярная масса равна 1 000 000, что препятствует их прохождению через плацентарный барьер. Поэтому эти антитела не играют большой роли в развитии гемолитической болезни у плода.

«Неполные» антитела (блокирующие и агглютинирующие) реагируют с эритроцитами в коллоидной среде, в сыворотке, в альбумине. Они относятся к фракциям IgG и IgA. По данным Adinolfi и соавт. (1966), примерно 1 из 10 проб анти-резус сыворотки содержит наряду с IgG-антителами небольшое количество IgA-антител. «Блокирующие» антитела обладают способностью сенсibilизировать эритроциты без их агглютинации. По мнению Wiener (1944), блокирующие антитела одновалентны, агглютинирующие — двухвалентны. Поэтому двухвалентные антитела ведут

к склеиванию, одновалентные препятствуют этому процессу, так как заполняют единственную валентность резус-положительным эритроцитом.

По мнению некоторых исследователей, более вероятно, что обе соединяющие стороны молекулы антитела расположены слишком близко между собой по отношению к центру соединения всей молекулы. Очевидно, поэтому они могут реагировать только с одним эритроцитом — происходит блокирование, а не агглютинация. IgG-антитела обладают меньшей молекулярной массой, чем «полные» антитела, их относительная молекулярная масса 160 000. Поэтому они легко проникают через плаценту и являются основной причиной развития гемолитической болезни у плода.

Н.С. Дробышева в 1948 г. описала антитела, получившие название «скрытых». Этот вид антител относится к «неполным» находящимся в сыворотке крови в высокой концентрации, которая и препятствует их определению. Этот вид антител встречается у 5% резус-сенсibilизированных лиц.

Наиболее распространенными способами выявления антирезус-антител являются прямая и непрямая пробы Кумбса с применением антиглобулиновой сыворотки. Выявлению антител, особенно при слабой реакции, способствует применение эритроцитов, предварительно обработанных энзимами — трипсином, химотрипсином, папаином и др. [Королева А. М., 1959, др.].

Об активности антител судят по их титру. Однако титр и биологическая активность антител не обязательно совпадают, так как указанный титр обычно характеризует зафиксированное количество антител в реакции с эритроцитами и не указывает на количество свободных антител в растворе. Реакция взаимодействия антигена с антителом является обратимой и подчинена закону действия масс «антиген + антитело  $\rightleftharpoons$  (антиген-антитело)». Реакция протекает до наступления равновесия между свободными и связанными антителами. При высокой связывающей способности антител при одних и тех же выявляющих эритроцитах титр их будет более высоким, чем у антител низкой связывающей способности, хотя их концентрации будут одинаковы. Как показали исследования Hughes-Jones (1967), если взять концентрацию 1 мкг/мл двух антител с различной связывающей способностью:  $K_1^* = 1 \times 10^7$  Л/моль<sup>-1</sup>;  $K_2 = 1 \times 10^9$  Л/моль<sup>-1</sup>, то в первом случае титр антител будет равен 1:2, во втором — 1:22. При средней связывающей способности ( $10^8$  Л/моль<sup>-1</sup>) титр антител 1:1 соответствует концентрации, равной 0,00001 мкг/л.

Кроме связывающей способности антител на реакцию между антигеном и антителом влияют рН среды и температура, при которых протекает реакция. На величину титра антител оказывают влияние выявляющие эритроциты. Rochna и Hughes-Jones (1965), используя меченную  $^{125}\text{I}$  антиглобулиновую сыворотку, обнаружили, что число антигенных сторон на эритроцитах различных фенотипов различно (табл. 4).

Таблица 4

**Число антигенных сторон эритроцитов различных фенотипов (Mollison, 1967)**

Фенотип	Возможный генотип	Число антигенных сторон
CcDee	CDe/cde	9900-14600
ccDee	cDe/cde	12000-20000
ccDEe	cDE/cde	14000-16600
CCDee	CDe/CDe	14500-19300
CcDEe	CDe/cDE	23000-31000
ccDEE	cDE/cDE	15800-33300

Эритроциты с большим числом антигенных сторон при прочих равных условиях будут связывать большее число антител.

**ЗНАЧЕНИЕ РЕЗУС-ФАКТОРА В РАЗВИТИИ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ**

Процесс сенсibilизации организма рассматривается на основании клональной теории Burnet (1959). При попадании антигена в кровотока происходит его соединение с Т-лимфоцитами. Лимфоциты, затронутые антигеном, начинают размножаться — образуется клон лимфоидных клеток. Однако дифференцировка лимфоцитов отсутствует, освобождения антител не происходит. Размножающиеся лимфоидные клетки действуют как «клеточная память». В результате небольшого вторичного стимула они активизируют находящиеся в лимфатических узлах недолговечные лимфоциты, которые превращаются в плазматические клетки и начинают вырабатывать специфические антитела.

Резус-фактор обладает выраженными антигенными свойствами. По данным Mollison (1967), одно переливание резус-положительной крови резус-отрицательному реципиенту стимулирует образование антител у 50% людей, причем нередко относительно небольшое количество крови может служить первичным стимулом сенсibilизации.

К иммунизации резус-отрицательного человека может привести не только внутривенное, но и внутримышечное введение крови.

В настоящее время, старая практика вводить детям кровь родителей внутримышечно при лечении детских заболеваний «оставлена». При переливании крови она тестируется не только по АВО группе крови, но и по резус-фактору, и поэтому иммунизация женщин с резус-отрицательной кровью чаще всего наступает в результате беременности и родов плодом с резус-положительной кровью.

Как показали многочисленные исследования (Dudok et al., 1967; Hughes-Jones, Mollison, 1968, и др.), эритроциты плода определяются в материнском кровотоке в III триместре беременности довольно регулярно, но иммунизация не наступает. По мнению Freda (1962), критический уровень или доза антигена, необходимая для вызывания иммунного ответа у беременных, намного выше, чем у небеременных женщин. Поэтому, несмотря на наличие в кровотоке матери эритроцитов плода, иммунизация наступает чрезвычайно редко, примерно у 1% резус-отрицательных женщин. Способствует этому осложненное течение беременности (табл. 5).

Таблица 5

**Акушерские осложнения, способствующие развитию резус-сенсibilизации**

I триместр	<ul style="list-style-type: none"> <li>– внематочная беременность</li> <li>– самопроизвольный выкидыш</li> <li>– медицинский аборт</li> <li>(при условии, если эти осложнения возникли при сроке беременности более 7-8 недель)</li> </ul>
II триместр	<ul style="list-style-type: none"> <li>– спонтанные и индуцированные прерывания беременности</li> <li>– генетический амниоцентез</li> </ul>
III триместр	<ul style="list-style-type: none"> <li>– преждевременные роды</li> <li>– амниоцентез</li> <li>– отслойка плаценты</li> <li>– предлежание плаценты</li> <li>– токсикоз II половины беременности</li> <li>– многоплодная беременность</li> <li>– наружный поворот плода</li> <li>– травма</li> </ul>

По мнению большинства исследователей, у большинства женщин наиболее вероятное время получения первичного стимула — послеродовой период (Clarke, 1966; Hollan 1971, и др.).

Finn и соавт. (1963) убедительно показали, что различные оперативные вмешательства в родах, особенно ручное отделение по-

следа, кесарево сечение, намного увеличивают трансплацентарный переход эритроцитов плода в кровь матери.

По данным Parageorgiades (1976), при родоразрешении с помощью акушерских щипцов, большие трансплацентарные кровотечения от плода к матери отмечены у 33,7% женщин, при кесаревом сечении у 52,5%, при ручном отделении плаценты у 40,3%, при преэклампсии у 32,7% и при всех случаях родовых кровотечений у 30% женщин.

В связи с выраженной антигенностью резус-фактора, у большого числа резус-отрицательных женщин в результате трансплацентарного перехода эритроцитов плода развивается иммунизация. Как показали исследования Woodrow и соавт. (1968), у резус-отрицательных женщин, родивших резус-положительных детей, совместимых с кровью матери по системе АВО, частота иммунизации зависит от величины трансплацентарного кровотечения. При отсутствии эритроцитов плода в крови матери сразу после родов иммунизация наблюдалась у 3,1% женщин. При определении в крови матери до 0,25 мл крови плода в дальнейшем антитела были выявлены у 9,4% женщин. По данным McConnell (1966), при трансплацентарном переходе от 0,25 до 3 мл плодовой крови, иммунизация наблюдается у 20% матерей, при большем количестве крови плода, попадающей в кровь матери, иммунизация выявлена у 50% женщин.

По данным Gogman и соавт. (1967), после первой беременности резус-положительным плодом сенсибилизируется 10% резус-отрицательных женщин. Если резус-отрицательная женщина избежала иммунизации при первой беременности, то при последующей беременности плодом с резус-положительной кровью она вновь в 10% случаев имеет возможность стать иммунизированной. Рождение ребенка с резус-положительной кровью, не совместимой с кровью матери по системе АВО, снижает возможность иммунизации.

Влияние АВО-несовместимости на развитие резус-иммунизации отмечено многими исследователями (Волкова Л.С., 1970; Stern et al., 1956; Race и Sanger, 1968, и др.). Механизм защитного действия АВО-несовместимости против резус-иммунизации не совсем ясен. По-видимому, он не связан с разрушением АВО-несовместимых клеток, так как иммунизация представляет собой строго специфический процесс.

По мнению Stern и соавт. (1961), защитное действие АВО-несовместимости связано с «клональным» соревнованием за антиген. Так, если резус-отрицательному реципиенту с 0(1) группой крови

ввести резус-положительную кровь А(II) группы, то вследствие большего содержания антител анти-А в крови реципиента антиген А будет связываться с антителами анти-А и резус-антиген не достигнет иммунокомпетентных клеток. Другое объяснение механизма защитного действия АВО-несовместимости состоит в том, что антитела системы АВО разрушают несовместимые клетки в местах ретикулоэндотелиальной системы, где нет иммунокомпетентных клеток, например в печени ( Woodrow et al., 1968).

Как уже указывалось, иммунизация после первых родов развивается у 8–10% резус-отрицательных женщин.

К сенсibilизации организма к резус-фактору могут вести не только роды. Причиной ее нередко является самопроизвольное либо искусственное прерывание беременности у резус-отрицательных женщин (Волкова Л.С., 1970, Murray et al., 1970). Иммунизация в этом случае наступает, по данным Bowman (1971), у 3% женщин.

По статистическим данным резус-несовместимость встречается в 9,5–13% всех браков (Бакшт Г. А., Дробышева Н. С., 1951; Levine, 1944, и др.); частота гемолитической болезни — намного ниже.

По данным Т. Г. Соловьевой (1956), иммунизация наступает у 1 из 10–25 резус-отрицательных женщин (Соловьева Т.Г. 1956; Полякова Г. П., 1957; Levine, 1944; Mollison, 1951). Очевидно, для развития резус-сенсibilизации необходимы еще какие-то условия, кроме поступления в кровь резус-антигена. Попытки объяснить различия в иммунизации с позиций свойств резус-фактора оказались неудачными. Owen с соавт. (1954) и др. считают, что различная чувствительность к резус-антигену является следствием приобретенной толерантности. В этом случае резус-отрицательная женщина, родившаяся от резус-положительной матери, не сенсibilизируется к резус-фактору. Однако в некоторых исследованиях эта закономерность не подтверждена. Более того, как показали Hindemann и Modly (1973), около 5% новорожденных сенсibilизируются в процессе родов при сочетании резус-отрицательный ребенок — резус-положительная мать.

По мнению Т. Г. Соловьевой (1956), повышенная чувствительность к резус-фактору есть проявление гипераллергической реакции организма.

Woodrow и соавт. (1968) считают, что на развитие сенсibilизации, кроме трансплацентарного перехода эритроцитов, влияют группа крови и генотип по резус фактору у плода. Кроме того, имеют

значение пол плода, иммунологическая толерантность организма матери, снижение иммунологической реактивности организма во время беременности, генетические факторы.

При изучении причин возникновения сенсбилизации мы принимали во внимание положение Nevanlina (1953) о том, что беременность, при которой впервые выявлены антитела, не является первичным стимулом, приводящим к иммунизации. Выявление антител во время настоящей беременности, особенно в ее начале, свидетельствует о том, что первичный иммунный стимул получен женщиной при предыдущей беременности.

При изучении анамнеза наблюдаемых нами женщин обнаружено, что 37,5% из них были сенсбилизированы переливанием крови без учета резус-принадлежности. Гемотрансфузии производили чаще в детстве при тонзилэктомии, лечении фурункулеза, детских инфекционных заболеваний, ювенильных кровотечений, при различных оперативных вмешательствах. У большинства женщин уже первый ребенок был с выраженной гемолитической болезнью. После предыдущих родов сенсбилизация наступила у 10% женщин, что примерно соответствует данным литературы. У 13,6% женщин сенсбилизация наступила после искусственного прерывания беременности, у 7% — после самопроизвольного выкидыша. У 31,9% женщин мы не смогли установить определенную причину сенсбилизации, так как антитела у них были обнаружены после родов и абортот. Полученные данные свидетельствуют о необходимости более строгого подхода к прерыванию первой беременности у женщин с резус-отрицательной кровью, особенно после 8-недельного срока беременности.

Какими бы ни были пути развития сенсбилизации, иммунное состояние, возникнув, остается на всю жизнь. У женщины, сенсбилизированной к резус-фактору, уже при первой беременности у плода может развиться гемолитическая болезнь.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакшт Г.А., Дробышева Н.С. Соотношение Rh+ и Rh-факторов в крови матери и новорожденного // Сов. Мед.,-1951.-, 8. -С.14-16.
2. Волкова Л.С. Иммунобиологические взаимоотношения организмов матери и плода // Медицина М., 1970.
3. Дробышева Н.С. Биологические и серологические свойства Rh-фактора и его значение в клинике // Дис...канд. мед. наук.,Л.-1948.
4. Королева А.М. Трипсиновая реакция для выявления сенсибилизации к резус-фактору во время беременности // Акуш. и гинек.,-1959.-, 1.-27с.
5. Косяков П.Н. Изоантигены и изоантитела человека в норме и патологии // Медицина, М.-1974.
6. Пискунова Т.М. Серологическая характеристика группового фактора D<sup>u</sup> и его клиническое значение // Вопросы изосерологии и иммуногематологии. Сборник научных трудов.-1972. -С.24-27.
7. Полякова Г.П. Гемолитическая болезнь новорожденных при резус-сенсибилизации матерей переливанием крови // Акуш и гинек.-1957.-3.-С.9-13.
8. Соловьева Т.Г. Значение резус-фактора в клинической практике // Докт. Дисс...Л.,-1956.
9. Соловьева Т.Г. Резус-фактор // Л.,-1963.
10. Струков В.А. Резус-фактор и время его появления у человеческого плода // В кн. Военная мед. акад. « Сборник рефератов и научных работ за 1949г.» Л. 1952. - С.170-171.
11. Таболин В.А. Гемолитическая болезнь новорожденных // Автореф. Докт. Дис.. М.,-1964.
12. Adinolfi A., Mollison R. A blood group antibodies // J.Exp.Med.-1966.-123:951.
13. Allen F., Tippett P. A new Rh blood type which reveals the Rh antigen G // Vox. Sang. (Basel). - 1958. - 3.-321.
14. Beer A.E., Kwak J. Reproductive medicine program Finch University of Health Science // Chicago Medical., School.-1999-2000.
15. Bowman J. Current problems in prophylactic treatment of Rh-erythroblastosis (an Invitational symposium) // J. Reprod. Med.-1971.-6.-5.-78-79.
16. Burnet F. The Clinical selection theory of acquired immunity // Nashville Vanderbilt University Press.-1959.
17. Caine M.E. Mueller-Heubach E. Kell sensitization in pregnancy // Am.J.Obstet. Gynecol.-1986.-154.-85-90.
18. Callender S., Race R. A serological and genetical study of multiple antibody formed in response of blood transfusion by a patient with lupus erythematosus diffuses // Ann. Eugen.-1946.-13.-102.
19. Calvin N., Evans B., Calvin G. Rh-antigen and hapten nature of antigen and its isolation from erythrocyte stroma // Proc. Soc. Exper. Biol. Mrd.-1946.-61.-4.-416-419.
20. Carton J. Rh-deficiency syndrome // INSERM U76. - 750-15.-1998.
21. Ceppellini R. L'antigene RhE<sup>u</sup> // Rew. d'Hemat. - 1950.-5.-285.
22. Chan F. et al. Prenatal RHD gene determination and dosage analysis by PCR: clinical evaluation Prenat. Diagn.-2001.-21(4).-321-326.
23. Cherif-Zahar B. et al. Localization of the human Rh-blood group gene structure



- to chromosome region 1p34.3-1p36.1 by in situ hybridization // *Hum. Genetic.*-1991.-86.-398-400.
24. Clarke C.A. Prevention of Rh-haemolytic disease // *Vox.Sang.*-1966.-11.-642.
  25. Colin Y., Cherif-Zahar B. et al. Genetic basis of the RhD-positive and RhD-negative blood group polymorphism as determined by Southern analysis // *Blood.*-1991.-78.-2747-2752.
  26. Crombach G. et al. Fetal RhD genotyping on amniocytes in alloimmunised pregnancies using fluorescence duplex polymerase chain reaction // *Br.J. Obstet. Gynecol.*-1997.-104.-15-19.
  27. Crombach G. et al. Reliability and clinical application of fetal RhD genotyping with two different fluorescent duplex polymerase chain reactions assay: three years experience // *Am.J.Obstet. Gynecol.*-1999.-V.180.-N2.-P435-440.
  28. Dodd B., Wilkinson P.A. A study on the distribution of incomplete rhesus antibodies among the serum immunoglobulin fractions // *J. Exp. Med.*-1964.-120-45.
  29. Dudor C., Borst-Ellers E. Failure of anti-D immunoglobulin injection to protect against rhesus immunization after massive Foetomaternal Haemorage // *Brit. Med.J.*-1967.-1.-5585.-152-154.
  30. Finn R., Harper D. Transplacental hemorrhages // *Transfusion.*-1963.-3.-114-124.
  31. Fisher R., Race R. An incomplete antibody in human serum // *Nature (London).*-1944.-153.-771.
  32. Freda V. Placental transfer of antibodies in man // *Am. J. Obstet. Gynecol.* - 1962.-84.-1756-1777.
  33. Furuhashi T., Iida T., Seki T. Ontogenetic development of blood group substances // *Proc. Japan. Acad.*-1954.-30.-6.-522-527.
  34. Gorman J., Pollack W., Freda V. An epidemiological and historical review of Rh-hemolytic disease implication for management and prevention // *Transfusion.*-1967.-7.-5.-374-375.
  35. Green F.A. Studies on the Rh(D) antigen // *Vox. Sang.*-1965.-10.-32-35.
  36. Greenwalt T., Sanger R. The Rh-antigen E<sup>w</sup> // *Brit.J. Haemat.*-1955.-1.-52.
  37. Haberman S., Hill J., Ford B. Comparative studies of methods with special reference to the capillary technic // *Clin. Pathol.*-1954.-24.-6.-725-734.
  38. Hanton-Lundbery K., Kirby R. Association of ABO-incomposibility with elevation of nucleated red blood cells counts in term neonates // *Am.J.obstet.Gynecol.*-2000.-V.183.-N6.
  39. Hindemann P., Modey T. Обмен крови между плодом и матерью во время родов и реуз-сенсбилизация новорожденных // *Тез. Докл. VII Между-народного Конгресса акуш. и гинек.М.,-1973.-С.233.*
  40. Hughes -Jones N., Mollison P. Failure of a relatively small dose of passively administered anti-Rh to suppress primary immunization by a relatively large dose of Rh-positive red cells // *Brit. Med. J.* - 1968.-N55-85.-150-151.
  41. Jouveuceaux A. Michand D. Problems poses par l'incompatibilite Rh foeto-maternelle // *Paris.*-1961.
  42. Landsteiner K., Wiener A. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*-1940.-43.-223.
  43. Lee S., Benuett Ph., Overton T. et al. Prenatal diagnosis of kell blood group genotypes: Kell 1 and Kell 2 // *Am. J. Obst. Gynec.*-1996.-vol.175.-N 2.-455-460.

44. Levine P. On the Hr-factor and the Rh-genetic theory // *Science*.-1945.-102.-2636.-1-4.
45. Levine P. Rh-factor: mechanism of isoimmunisation of red blood cells; standardization of anti-Rh serum // *Arch. Path.*-1944.-37.-83-90.
46. Levine P. Serological factor as possible causes in spontaneous abortion // *J. Hered.*-1943.-34.-71.
47. Loke Y., King A. Immunological aspects of human implantation // *J.Reprod.Fertil. Supplement.*-2000.-55.-83-90.
48. Luban N. Hemolytic disease of the newborn: progenitor cells and late effects // *N. Engl.J.Med.*-1998.-338.-830-831.
49. Mac-Geoch C. et al. Assignment of the chromosomal locus of the human locus of the human 30-kDal Rh (Rhesus) blood group antigen-related protein (Rh 30A) to chromosomes region 1p36.13-p34 // *Cytogenet. Cell. Genet.*-1992.-59.-261-263.
50. Mayne K., Bowell P., Pratt G. The significance of anti-Kell sensitization in pregnancy. // *Clin. Lab. Haematol.*-1990.-12.-379-385.
51. McConnell R. The prevention of Rh-haemolytic disease // *Ann. Rev. Med.*-1966.-17.-291.
52. Moise K. Non-anti-D antibodies in red-cell alloimmunization // *Europ. J. Obst. Gynec. and Reprod. Biology*-2000.-92(1).-75-81.
53. Mollison P. Blood transfusion in clinical medicine // *Oxford*.-1951.
54. Mollison P.L. Blood transfusion in clinical medicine // 4<sup>th</sup> ed. 1967 Ed. F.A. Davis Cc. Philadelphia.
55. Mourant A. A new human blood group antigen of frequent occurrence // *Nature*.-1946.-158.-237.
56. Mouro I., Colin Y. Molecular generic basis of the human Rhesus blood group system // *Nature Genet.*-1993.-5.-62-65.
57. Murray S., Barron S., Mc Nay R. Transplacental haemorrhage after abortion // *Lancet*.-1970.-1.-631-634.
58. Nevanlina H. Factors affecting maternal Rh immunization // *Ann. Med. Exp. Fenn.*-1953.-2.-31.
59. Owen R., Wood H. et al. Evidence for actively acquired tolerance to Rh-antigens // *Proc. Nat. Acad. Sc. USA.*-1954.-6.-420-424.
60. Papageorgiades G. Transplacental passage of fetal red cells into the maternal circulation // *Clin. Pediatr.*-1976.-15.-42-43.
61. Potter E.L. Its relations to congenital hemolytic disease and to intragroup transfusion reactions // *Chicago*.1947.
62. Race R., Sanger R. Blood groups in man // 57<sup>th</sup> ed 1968.
63. Race R., Sanger R. The Rh antigen C<sup>u</sup> // *Heredity*.-1951.-1.-5.-285.
64. Rochna E., Hughes-Jones N. The use of purified 125j-labelled anti-D globulin in the determination of the number of D-antigen sites on red cells of different phenotypes // *Vox. Sang.*-1965.-10.-675-686.
65. Shiokawa S., Sakai K et al/ Function of the small guanosine triphosphate-binding protein RhoA in the process of implantation // *Jorn. Clinic. Endocrin. And Metabolism* . - 2000.-85.-12.-4742.
66. Shurin S.B. Hematologic problems in the fetus and neonate // In Fanaroff A., Martin R. editors Neonatal-perinatal medicine disease of the fetus and infants 5-th ed. Chicago: Mosby-Year book. 1992.

67. Stanworth S., Fleetwood P., Silva M. Severe haemolytic disease of the newborn due to anti J<sup>s</sup><sub>b</sub> // *Vox. Sanginis.* 2001.-81.-134-135.
68. Stern K., Goodman H. et al. Experimental studies on Rh-immunization // *Am. J. Clin. Path.*-1959.-26.-833-843.
69. Stern K., Goodman H., Berger M. Experimental isoimmunisation to hemoantigens in man // *J. Immunol.*-1961.-87.-2.-189-198.
70. Stratton F., Reuton P. Haemolytic disease of the newborn caused by a new Rh antibody anti-C<sup>x</sup> // *Brit. Med.J.*-1954.-1.-962.
71. Stratton T. Demonstration of the Rh factor in the blood of a 48 mm 'embryo' // *Nature.*-1948.-152.-3859.-449.
72. Szekeres-Bartho J. Progesterone receptor-mediated immunomodulation and anti-abortive effects (I): The role of progesterone-induced blocking factor (PIBE) // 9-th world Congress of Gynecol. Endocrinol. Hong-Kong, December 2-5.-2001.
73. Van der Veyver I. et al. Molecular analysis of human platelet antigen system-1 antigen on single cells can be applied to preimplantation genetic diagnosis for prevention of alloimmune thrombocytopenia // *Am. J. Obstet. Gynecol.* - 1994.-170.-807-812.
74. Van der Veyver I. et al. Single-cell analysis of the RhD blood type for use in preimplantation diagnosis in the prevention of severe hemolytic disease of the newborn // *Am. J. Obstet. Gynecol.*-1995.-172.-2.-533-544.
75. Van Kim C. et al. Molecular cloning and primary structure of the human blood group RhD polypeptide // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*-1992.-89.-10925-10929.
76. Vaughan J. et al. Inhibition of erythroid progenitor cells by anti-Kell antibodies in fetal alloimmune anemia // *N. Engl. J. Med.*-1998.-338.-798-803.
77. Wiener A. Origin of naturally occurring haemagglutinin and haemolysins // A review. *J. Immunology.*-1951.-66.-287.
78. Wiener A.S. A new test (blocking test) for Rh-sensitisation // *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*-1944.-56.-173-176.
79. Winer A.S., Soon E. Pathogenesis of congenital hemolytic disease (Erythroblastosis fetalis) // *Am.J.Obstet.Child.*-1946.-71.-25-45.
80. Woodrow J., Donohoe W. Rh-immunisation by pregnancy: results of a survey and their relevance to prophylactic therapy // *Brit. Med. J.*-1968.-2.-139.

Гемолитическая болезнь плода и новорожденного (по старой классификации фетальный эритроblastоз) является сравнительно хорошо изученной формой патологии, которая этиологически связана с иммуноконфликтной реакцией между организмами матери и плода.

**Патогенез гемолитической болезни.** Патогенез гемолитической болезни представляется следующим. Гемолитическая болезнь развивается в результате проникновения материнских антител через плаценту к плоду. Резус-антитела вступают в реакцию с резус-положительными эритроцитами плода, что ведет к их гемолизу. Развивающаяся анемия вызывает компенсаторную реакцию организма, возникновение очагов экстрамедуллярного кроветворения с последующей гепатоспленомегалией. Продукты распада эритроцитов стимулируют костный мозг к образованию молодых, незрелых форм красной крови. В результате превалирования процесса разрушения эритроцитов над гемопоэзом у плода развивается анемия.

Появление и усиление желтухи при гемолитической болезни связано с увеличением в крови новорожденного содержания непрямого билирубина. При ограниченной возможности печени в отношении перевода непрямого билирубина в прямой, переработка продуктов распада эритроцитов оказывается для нее большой нагрузкой. В связи с этим наблюдается быстрое накопление непрямого билирубина. Последний обладает токсическими свойствами и не выводится почками (Таболин В. А., 1964; Talafant 1956). Токсичность его проявляется в нарушении тканевого метаболизма за счет выключения дыхательных ферментов и процессов фосфорилирования (Василевская Н. Л., 1963, Day 1956 и др.). В результате «перегрузки» печени железом, билирубиновыми пигментами и развивающегося фиброза (David et al., 1966) нарушается ее функция, особенно синтез белков, что ведет к гипопроteinемии, гипоальбуминемии, к гипертензии в

портальной и пуповинной венах, к усилению проницаемости сосудов. Возникающая сердечная недостаточность и увеличенная печень приводят к застою в большом круге кровообращения, к выпотеванию жидкости в ткани и полости — развивается анасарка.

В этой схеме патогенеза гемолитической болезни имеются неясные положения, объяснить которые до настоящего времени не представляется возможным. В частности, неясно, каким образом у плода развивается гемолитический процесс, так как «неполные» антитела, «ответственные» за развитие гемолитической болезни, не являются гемолизинами. Skrzypulec и Wawryk (1973) попытались ответить на этот вопрос, предложив теорию этиологии и патогенеза гемолитической болезни, которая состоит в следующем. Материнские анти-D антитела, проходя через плаценту, реагируют с ее антигеном-D, в результате чего образуются комплексы «антиген + антитело ( $D^k$ )». К ним вырабатываются анти- $D^k$  антитела, являющиеся иммуноглобулинами типа гемолизинов. Проникая через плаценту, анти- $D^k$  антитела вызывают гемолиз эритроцитов плода. Однако эта теория еще нуждается в экспериментальной и клинической проверке.

До настоящего времени отсутствуют убедительные данные о причине многообразия клинических форм гемолитической болезни. Возможно, что оно зависит от компетентности защитных механизмов, способствующих сохранению беременности, индивидуальных в каждом конкретном случае. Этот процесс может быть представлен в следующем виде. На пути проникновения антител к плоду находится плацента, антитела вступают в реакцию взаимодействия с ее резус-антигеном, который имеется в достаточном количестве (Волкова Л.С., 1970; Pozzi и Marzetti, 1962). Происходит связывание антител, этот процесс продолжается до тех пор, пока по закону действия масс не наступит равновесие, после чего избыток антител проникает к плоду и, возможно, в околоплодные воды (Волкова Л.С., 1970, Prokop et al., 1969). В околоплодных водах происходит связывание антител. В том случае, если плод является активным «выделителем» антигена, большое количество антител связывается в околоплодных водах и они в меньшем количестве поступают в кровоток плода. На этот процесс оказывает влияние реактивность материнского организма, его способность вырабатывать антитела большей или меньшей связывающей способности, степень проницаемости плаценты, срок беременности, при котором начали действовать антитела, генетические факторы.

**Классификация и клиническая характеристика основных форм гемолитической болезни.** Согласно наиболее применяемой классификации выделяются три основные формы гемолитической болезни:

- 1) гемолитическая анемия без желтухи и водянки;
- 2) гемолитическая анемия с желтухой;
- 3) гемолитическая анемия с желтухой и водянкой.

**Гемолитическая анемия без желтухи и водянки** — наименее распространенная и наиболее легкая форма заболевания. Основным ее симптомом является бледность кожных покровов в сочетании с низким количеством гемоглобина и эритроцитов. Отмечаются небольшое увеличение печени и селезенки, петехиальные высыпания. По мнению Schwenzer (1953), анемия развивается не столько за счет гемолиза, сколько в результате торможения функции костного мозга и задержки выхода из него незрелых и зрелых форм эритроцитов. Диагноз устанавливают на основании клинической картины и определения количества гемоглобина и эритроцитов в крови. Дети нередко выздоравливают без лечения. В случае более тяжелой анемии показаны переливания эритроцитарной массы.

**Гемолитическая анемия с желтухой** — более тяжелая и частая форма гемолитической болезни. Важнейшими симптомами ее являются анемия, желтуха, гепатоспленомегалия. В тяжелых случаях наблюдаются симптомы поражения центральной нервной системы. При рождении ребенка нередко обращает на себя внимание желтушное окрашивание околоплодных вод, первородной смазки, кожных покровов, пуповины. По данным Н.Л. Василевской и соавт. (1958), Potter (1947) и др., анемия чаще носит нормохромный или гиперхромный характер и обычно не достигает выраженной степени, возможно, за счет высокой репарационной активности костного мозга и очагов экстрамедуллярного кроветворения. Эритробластоз, не являясь постоянным признаком, служит показателем тяжести заболевания. Появление и усиление желтухи обусловлены повышением в крови уровня непрямого билирубина.

По мнению Polasek (1961), в развитии заболевания играет роль не количество билирубина в момент рождения, а интенсивность почасового прироста его содержания. При гемолитической желтухе он колеблется от 8,5–17,1 мкмоль/л (от 0,5 до 1,0 мг %); у здоровых детей — до 3,2 мкмоль/л (0,19 мг %). По мере нарастания желтухи состояние ребенка ухудшается, появляются симптомы, указывающие на поражение нервной системы. К ним относятся судорожные подергивания, нистагм, гипертонус

и др.; развиваются симптомы «ядерной желтухи». Критический уровень непрямого билирубина, при котором развивается ядерная желтуха, равен 307,8–342,0 мкмоль/л (18–20 мг %) (Персианинов Л.С., 1964, Таболин В.А., 1967). У недоношенных детей с гемолитической болезнью его величина составляет 153,9–205,2 мкмоль/л (9–12 мг%).

В работах В.А. Таболина установлено, что параллелизм между нарастанием содержания билирубина в крови и падением концентрации гемоглобина отсутствует. Это заставляет сделать предположение о том, что при гемолитической болезни увеличение содержания билирубина в крови происходит не только за счет гемолиза, но и в результате глубокого поражения печени.

**Гемолитическая анемия с желтухой и водянкой (универсальный отек)** — наиболее тяжелая форма гемолитической болезни. Дети с универсальным отеком обычно рождаются мертвыми или погибают вскоре после рождения. Лишь в последние годы появились сообщения об успешном лечении легких форм универсального отека (Айламазян Э.К. и соавт., 1993; Daffos A и соавт., 1985; Voto L. и соавт., 1999). Наиболее выраженными симптомами заболевания являются общий отек — анасарка, асцит, значительная анемия, менее резко выраженная желтуха, гепатоспленомегалия, гемодинамические нарушения (гиперволемия, повышение венозного давления, застой в малом и большом круге кровообращения, сердечно-легочная недостаточность). Часто при этой форме заболевания наблюдается геморрагический синдром. Несмотря на выраженность клинической картины, провести четкую грань между различными формами гемолитической болезни не представляется возможным. Л.С. Волкова по сочетанию и выраженности ведущих симптомов предлагает выделять пять ее клинических форм: универсальный отек, отечно-желтушную, отечно-желтушно-анемическую, желтушную и желтушно-анемическую. Многие авторы пришли к выводу, что деление на формы гемолитической болезни не позволяет выделить однородные группы наблюдения. Более целесообразно выделение не отдельных форм гемолитической болезни, а деление ее по степеням тяжести, рассматривая при этом различные формы как стадии одного процесса.

По мнению Tovey (1969), на основании определения концентрации гемоглобина в крови пуповины можно выделить 4 степени тяжести гемолитической болезни: легкую — содержание гемоглобина больше 110 г/л, среднюю — концентрация 80 г/л и мертворождение.

При сравнительных исследованиях эти классификации не удовлетворяют предъявляемым к ним требованиям, так как затрудняют выделение отдельных групп наблюдения. В клинике в одну и ту же группу попадают дети с тяжелыми и легкими проявлениями заболевания. Выделение степени тяжести гемолитической болезни только на основании содержания гемоглобина в крови пуповины также недостаточно, так как нередко анемия не является ведущим симптомом. Диагноз гемолитической болезни новорожденного мы ставили, учитывая данные клинической картины и комплексного исследования, включающего определение групповой и резус-принадлежности ребенка, уровня гемоглобина и непрямого билирубина в крови пуповины, степени эритроblastоза в периферической крови. При обследовании мы обращали внимание на окраску склер, кожных покровов, размеры печени, селезенки. Клиническое состояние новорожденных оценивали по шкале Апгар.

Считая различные формы гемолитической болезни стадиями одного процесса, мы выделили три степени тяжести заболевания: легкую, среднюю и тяжелую. Тяжесть гемолитической болезни определяется по совокупности степени выраженности основных симптомов — отечности, желтухи и анемии в момент рождения (табл. 6). Оценка состояния ребенка, равная 1–3 баллам, соответствует легкой форме гемолитической болезни, 4–6 баллам — средней тяжести, от 7 до 9 баллов — тяжелой форме заболевания.

Таблица 6

### Критерии степени тяжести гемолитической болезни

Основные клинические признаки	Степень тяжести гемолитической болезни		
	I	II	III
Анемия (содержание гемоглобина в крови пуповины, г/л)	≥150 (> 15 г %)	149–100 (15,1–10,0 г %)	≤100 (≤ 10 г %)
Желтуха (содержание билирубина в крови пуповины, мкмоль/л)	≤ 85,5 (≤ 5,0 мг %)	85,6–136,8 (5,1–8,0 мг %)	≥ 136,9 (≥ 8,1 мг %)
Отечный синдром	Пастозность подкожной клетчатки	Пастозность и асцит	Универсальный отек

Тяжесть гемолитической болезни определяется и степенью недоношенности ребенка, так как прогноз для его жизни в данной ситуации значительно ухудшается. Мы выделяем три степени недоношенности. У ребёнка, родившегося на сроке 37–38 нед беременности, имеет место I степень недоношенности, при



родоразрешении на сроке 35–36 нед — II степень, при родах на сроке 33–34 нед и раньше — III степень.

Мы понимаем, что это деление по степени тяжести отдельных симптомов гемолитической болезни в момент рождения ребенка в значительной степени условно, так как существует множество трудно учитываемых признаков, определяющих тяжесть заболевания и исход гемолитической болезни для плода. Это — реактивность организма ребенка, функциональная зрелость печени и гемопоэтической функции.

В значительной мере исход гемолитической болезни для ребенка зависит от правильности ведения родов, от преемственности между акушером и педиатром, от выбора методов лечения, от ухода за новорожденным. Тем не менее, предложенная схема позволяет сопоставлять результаты антенатального обследования плодов, выделяя их в примерно однородные группы.

**Патологоанатомические изменения при гемолитической болезни плода и новорожденного.** Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что при гемолитической болезни наибольшие изменения наблюдаются в плаценте и в паренхиматозных органах плода — печени и селезенке. Выраженные морфологические изменения в плаценте несомненно свидетельствуют о том, что реакция антител с антигеном происходит, в первую очередь, именно в ней. С другой стороны, З.Ф. Васильева (1972) выявила в крови женщин, родивших детей с тяжелой формой гемолитической болезни, противотканевые антитела, которые имели направленность на ткани печени и селезенки. По мнению автора, значение тканевых антител в патогенезе гемолитической болезни остается невыясненным, но, по-видимому, фиксированные и циркулирующие противотканевые антитела усиливают тяжесть заболевания.

Размеры плаценты при отечной форме гемолитической болезни обычно увеличены, ткань ее рыхлая, отношение массы тела ребенка к массе плаценты нередко равно 1:1 (в норме оно составляет 6:1). Диаметр ворсин плаценты увеличен в 3–3,5 раза, края их фестончатые, строма отечна. Сосуды в ворсинах расположены по периферии, стенки их утолщены. В результате отека ворсин, значительно уменьшается межворсинчатое пространство, что приводит к нарушению обмена веществ между матерью в плодом. Проницаемость сосудистой стенки обычно повышена, что способствует выходу плазмы, выпадению фибрина в межворсинчатое пространство и образованию тромбов. Во многих участках плаценты отмечаются очаги некроза, склероз отечных ворсин. При тяжелой гемолитической желтухе чаще наблюдается не отечный, а гиперпластический тип плаценты (Martius, 1956, и др.). В ворсинах содержится небольшое количество жидкости,

стромы склерозирована, клетки в строме расположены густо. Нередко имеет место сочетание патологических процессов как отечного, так и гиперпластического типа. Наблюдаются значительные изменения сосудистой сети и клеточного состава плацентарной ткани. В большом количестве появляются крупные клетки Кашченко-Гюфбауэра.

В печени отмечаются очаги экстрамедуллярного кроветворения. Характерный отек тканей, смазанность трабекулярного строения, резкое расширение капилляров. Печеночные клетки находятся в состоянии белково-липоидной дистрофии, нередко с очагами некроза и гиганто-клеточного метаморфоза. Часто наблюдаются гемосидероз, фиброз.

В селезенке также обнаруживаются очаги экстрамедуллярного кроветворения, гиперплазия пульпы с очагами гемосидероза.

Клубочки почек не изменены, в канальцах имеются явления белковой дистрофии вплоть до некробиоза и некроза клеток. Надпочечники могут быть несколько увеличены за счет отека и повышенного содержания липоидов. Нередко встречаются очаги экстрамедуллярного кроветворения и дистрофические изменения.

В сердце отмечаются картина резкого паренхиматозного перерождения миокарда и вакуолизации мышечных волокон, желтушное окрашивание эндокарда, клапанов сердца, перикарда. Наблюдаются изменения крупных сосудов: прокрашивание интимы в желтый цвет, наличие периваскулярного отека.

Наиболее выраженные изменения происходят в ткани мозга. Как показали исследования В.А. Таболина и Р.В. Громовой (1963), его поражение носит токсико-аллергический характер. В мозге отмечаются желтушное прокрашивание подкорковых ядерных образований, мозжечка и бульбарных ядер. При микроскопическом исследовании обнаруживаются изменения нервных клеток, набухание, перипеллюлярный отек, пикноз протоплазмы и ядра клетки. В ряде областей, особенно в подкорковых отделах, нередко встречаются группы клеток с резко выраженными изменениями, сопровождающимися кариоцитоллизом с образованием «клеток-тканей» и появлением полей опустошения в связи с полной гибелью нервных клеток. Наряду с изменениями нервных клеток имеют место изменения сосудов мозга. Они расширены, проницаемость сосудистой стенки повышена, что сопровождается периваскулярным отеком, встречаются околососудистые кровоизлияния.

Правильное понимание механизмов поражения различных органов и систем, развивающихся при гемолитической болезни плода и новорожденного, дает возможность лучше обосновать патогенетическую терапию, направленную на дезинтоксикацию и повышение функциональной способности различных органов и систем больного ребенка.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян Э.К., Михайлов А.В. и соавт. Кордоцентез: Четырехлетний опыт применения в целях пренатальной диагностики и лечения заболеваний плода // Ультразвуковая диагностика в акушерстве, гинекологии и перинатологии.-1993., 3.-С.33-39.
2. Василевская Н.Л. Билирубин крови новорожденных в норме и при гипоксических состояниях // Акуш. и гинек.-1963.-, 6.-49с.
3. Василевская Н.Л. , Кистинг М.Г. и соавт. Некоторые гематологические и обменные показатели при различных формах гемолитической болезни новорожденных // В кн. «Гемолитическая болезнь новорожденных» под ред. Тур А.Ф., Л. 1958.
4. Васильева З.Ф. Антигенно-несовместимая беременность и методы защиты плода и новорожденного при иммунологическом конфликте // Автореф. Дис...доктр. Мед наук. Л., 1972.
5. Персианинов Л.С. Эффективность обменных переливаний крови при лечении гемолитической болезни новорожденных // Проблемы гемат. переливания крови. 1964.-, 9.-5.-С.19-24.
6. Таболин В.А. Гемолитическая болезнь новорожденных //Автореф. Дисс. Докт.мед.наук.,М.1964.
7. Таболин В.А. Профилактика и лечение ГБП // В кн. «Пути снижения перинатальной смертности», М. 1967.
8. Таболин В.А., Громова Р.В. Клинико-морфологические параллели при гемолитической болезни новорожденных // Тр.Центр института усовершенствования врачей. 1963.-, 61.-С.133-140.
9. Daffos F. et al. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: a study of 606 consecutive cases // Am. J. Obstet. Gynecol.1985.-153.-655-660.
10. David G. et al. Physiopathologie et traitement de l'hydrops foetalis par incompatibilite sanguine Rh // Bibl. Gynecol. Fasc.1966.-38.-114-145.
11. Day R. Kernicterus. Further Observations of the toxicity of heme-pigment // *Pediats.* 1956.-17.-6.-926.
12. Martius G. Die Pathogenese des morbus Haemolyticus Neonatorum //Georg Thieme Verlag. Stuttgart. 1956.
13. Polacer K. Prognosticky vyznam dynaiky hladiny bilirubinu u hemolyticke nemoci novorozence //Cs. *Pediatr.*1961.-16.-3.-193-200.
14. Potter E.L. Its relations to congenital hemolytic disease and to intragroup transfusion reactions // *Chicago.*1947.
15. Pozzi V-, Marzetti J. Fattore Rh e placenta Nota preliminare // *Minerva Gynec.* 1962.-14.-20.-1007-1008.
16. Prokop O., Uhlenbruck G. Human blood and serum groups . 1969.
17. Talafant E. On the nature of direct and indirect bilirubin acid in the direct bile pigment // *Chem.J.*1956.-50.-817.
18. Tovey G.H. Antenatal diagnosis of rhesus incompatibility // В кн. «Perinatal medicine» 1-st European Congress Berlin.-1969.-44-47.
19. Voto L., Margulies M. Perinatal Rh hemolytic disease: screening, treatment and personal experience // В кн. «Fetal Medicine» ed. F.Chervenak, A. Kurjak ., Parthenon Publishing Group. New.York., London.1999.-279-287.
20. Schwenzer A. Dic Erythroblastose in Lichte der neuen Rh-forschung //Dteinkoff Darmstadt.-1953.
21. Skrrypulec Z. Wawryk R. Новые иммунологические и физико-химические проблемы гемолитической болезни новорожденных вследствие Rh-несовместимости // Тез. Докл. VII Международного Конгресса акуш. и гинек., М.-1973.-196.

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И  
ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В  
ДИАГНОСТИКЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ  
ПЛОДА**

Несмотря на развитие новых современных методов оценки состояния плода до настоящего времени большое значение в антенатальной диагностике гемолитической болезни имеют акушерский анамнез и динамика титра антител в крови матери. Многие исследователи в определении прогноза для плода при резус-конфликтной беременности придают большое значение акушерскому анамнезу. Наличие в анамнезе женщины выкидышей, антенатальной смерти плода, мертворождений при предыдущих беременностях, либо рождения ребенка с гемолитической болезнью должны насторожить врача. У некоторых женщин тяжесть гемолитической болезни плода (новоорожденного) усиливается с каждой последующей беременностью, у других — остается той же. С другой стороны, имеются наблюдения, когда при наличии резус-сенсibilизации рождались здоровые резус-положительные дети (Персианинов Л.С., 1973; Loghem et al., 1952 и др.). Рядом авторов показана возможность рождения детей с гемолитической болезнью при первой беременности без предшествующей изоиммунизации (Liley 1961, и др.).

Вопрос о связи титра антител у матери с тяжестью гемолитической болезни у плода является предметом дискуссии до настоящего времени. Работами Л.С. Персианинова (1959), З. Ф. Васильевой (1972), Allen и соавт. (1954), Tovey (1969) и др. выявлена определенная зависимость тяжести заболевания ребенка от характера и титра антител у матери. Особенно неблагоприятный исход наблюдается в тех случаях, когда антитела выявляются в начале беременности (Wiener, 1945).

По данным Agias F. и соавт. (1984), имеется хорошая корреляция между временем появления антител и их титром и тяжестью заболевания, только при первой беременности, при которой выявлена сенсibilизация. При повторных беременностях с резус-иммунизацией эта корреляция полностью отсутствует.

По данным Л. С. Волковой (1967), частая смена подъемов и спадов титра неполных антител («скачущий титр»), отмечаемая в первой половине беременности, является характерным признаком возникновения между матерью и плодом иммуноконфликтных реакций.

Большое число исследователей считают, что титр антител не может служить достоверным показателем тяжести заболевания плода, так как известно, что при низком титре антител могут рождаться мертвые или тяжело больные дети и, напротив, при высоком титре — здоровые. Судить о тяжести поражения плода при резус-конфликте на основании титра антител можно с некоторой уверенностью лишь во время беременности, при которой антитела появились впервые (Gandar и Schlaeder, 1968).

Прогностическое значение титра антител значительно снижается в связи с тем, что во многих случаях при выраженной сенсibilизации и даже при нарастании титра антител рождается ребенок с резус-отрицательной кровью (Волкова Л.С., 1967; Мордухович А.С., 1972; Freda et al., 1965, и др.). По мнению З.Ф. Васильевой (1972), активация продукции антител у резус-сенсibilизированных женщин происходит под влиянием беременности. Многократное сочетание беременности с резус-антигенным воздействием приводит к рефлекторному раздражению иммунокомпетентных систем организма женщины. В качестве стимулятора продукции антител может выступать уже не специфический антиген, а сам плод в целом, в том числе и плод, не имеющий этого специфического антигена.

У женщин с явлениями резус-сенсibilизации чаще выявляется повышенная чувствительность к другим антигенам крови человека (лейкоцитарным и тромбоцитарным). Как показали исследования З. Ф. Васильевой (1972), антилейкоцитарные антитела в большинстве случаев выявлялись у резус-сенсibilизированных женщин, родивших детей с тяжелой формой гемолитической болезни. Сочетанная сенсibilизация к эритроцитарным и лейкоцитарным антигенам оказывала неблагоприятное воздействие на плод в большей степени, чем сенсibilизация только к резус-фактору.

Таким образом, величина титра антител в крови матери имеет лишь относительное значение, как для прогноза исхода беременности, так и наличия резус конфликта между матерью и плодом.

Обнаружение в крови беременной антител позволяет лишь сделать вывод о вероятности заболевания плода и о необходимости применения лечебно-профилактических мероприятий.

По мнению П.Н. Косякова (1974), несоответствие между тяжестью гемолитической болезни и титром антител можно объяснить неодинаковой способностью плаценты осуществлять защитную функцию.

По данным исследователей, определение уровня антител необходимо осуществлять в одной и той же лаборатории. Существует такое понятие, как критический уровень антител — уровень антител в каждой конкретной лаборатории, при котором не было зарегистрировано гибели плода или новорожденного от гемолитической болезни. Критический уровень, по данным Freda V. (1965) — 1:16, по данным Queenan J. (1977) — 1:32, по данным Arias F. (1984) — 1:32. Многие исследователи также рекомендуют не только учитывать критический уровень антител, но при определении антител сохранять каждый образец сыворотки и исследовать его с последующим анализом крови, чтобы знать динамику титра, и это очень важно при прогнозировании исхода первой резус-конфликтной беременности

У наблюдаемых нами женщин иммунологический анализ крови в I половину беременности производили 1 раз в месяц, во II половину — каждые 2 нед (табл. 7).

Таблица 7

**Величина титра антирезус-антител в крови  
изоиммунизированных женщин и исход гемолитической  
болезни для плода**

Величина титра антител	Здоровые* дети	Гемолитическая болезнь			Умершие
		легкая	средняя	тяжелая	
1:2-1:4	16	22	5	1	1
1:8-1:16	27	26	19	5	4
1:32-1:64	19	29	41	7	5
1:128-1:256	6	9	13	4	4
1:512-1:1024	2	5	6	8	5
1:2048-1:4086	3	1	1	5	3
ВСЕГО	73	92	85	30	22

\* Из них 23 ребенка с резус-положительным типом крови.

Как видно из таблицы, между степенью изоиммунизации матери и тяжестью заболевания плода во многих случаях устанавливается прямая зависимость: при меньшем титре антител (от 1:2 до 1:16) чаще всего дети рождались здоровыми или с легкой

формой гемолитической болезни. Тяжелая форма заболевания и гибель новорожденных наблюдались заметно чаще при величине титра от 1:32 до 1:2048–4096. Однако в каждом конкретном случае судить о степени тяжести гемолитической болезни плода по величине титра антител в крови матери не представлялось возможным. Так, из 8 женщин с величиной титра 1:4096 у 3 родились здоровые дети, имеющие резус-отрицательную кровь. Из 22 женщин, дети которых погибли от тяжелой формы гемолитической болезни, у 5 титр антител в крови был низким (1:2–1:16).

По данным лаборатории Центра, мы не смогли определить критический уровень антител, по-видимому, в связи с тем, что мы не наблюдали женщин с первой резус-конфликтной беременностью, а только женщин с чрезвычайно отягощенным акушерским анамнезом.

Таким образом, величина титра антител в крови матери не имеет решающего значения при определении степени тяжести заболевания плода. Прогностическая ценность определения титра антител в крови снижается, в частности, в связи с возможностью рождения у резус-сенсibilизированных женщин детей с резус-отрицательной кровью. По нашим данным, из 280 сенсibilизированных женщин у 50 (17,8%) дети имели резус-отрицательный тип крови.

Сводные данные, характеризующие изменения титра антител во время беременности, представлены в табл. 8.

Таблица 8

**Характер изменения титра антител в крови  
изосенсibilизированных женщин и исход гемолитической  
болезни для плода**

Характер изменения титра антител	Здоровые дети	Гемолитическая болезнь				Всего
		Легкая	Средняя	Тяжелая		
				всего	умерло	
Постоянный	30	34	25	8	7	97
Снижающийся	8	12	10	3	3	33
Возрастающий	22	25	22	8	6	77
«Скачущий»	13	21	28	11	6	73
<b>ИТОГО</b>	<b>73</b>	<b>92</b>	<b>85</b>	<b>30</b>	<b>22</b>	<b>280</b>

Анализируя полученные данные, можно отметить, что по мере нарастания степени тяжести гемолитической болезни плода, отмечаются уменьшение числа женщин с постоянным титром анти-

тел и увеличение числа женщин со «скачущим» характером его. Относительно возрастающего и снижающегося титра какой-либо закономерности выявить не удалось.

Таким образом, по нашим данным, в каждом конкретном случае как характер изменения титра антител в динамике, так и его величина не имеют решающего значения при определении степени тяжести гемолитической болезни и исхода ее для плода. На величину изученных параметров титра антител, несомненно, оказало влияние и проводимое нами лечение. Тем не менее, мы полагаем, что иммунологический анализ крови у резус-отрицательных женщин является важнейшей частью клинических исследований. Он позволяет выявить резус-сенсibilизированных женщин и наметить предварительный план ведения беременности и лечения.

По данным ряда авторов (Умбрумянц Д.В., 1969; Васильева З.Ф., 1972; Gandar et al., 1968; Dellenbach et al., 1970, и др.), для прогноза гемолитической болезни плода определенное значение имеет генотип крови отца ребенка относительно антигена резус. Известно, что вероятность возникновения гемолитической болезни у плода в 4 раза больше при гомозиготном типе крови отца. Наличие антител в крови беременной и гомозиготный тип крови у отца позволяет, по мнению Д.В.Умбрумянц (1973) и Hindemann (1969), говорить о возможности развития у плода гемолитической болезни. По данным Freda (1965), определение генотипа крови родителей может иметь значение только до беременности. Во время беременности, как считает автор, определение генотипа не имеет большого значения в прогнозировании исхода родов для плода, так как не позволяет выявить степень тяжести заболевания.

Таблица 9

### Предполагаемый генотип крови отца и исход гемолитической болезни для плода

Генотип крови отца	Здоровые дети	Гемолитическая болезнь				Всего
		Легкая	Средняя	Тяжелая		
				всего	умерло	
Гомозиготный тип крови (фенотип CCDee, CcDEe, ccDEE)	7	13	15	18	11	53
Гетерозиготный тип крови (фенотип ccDee, CcDee, ccDEe)	9	6	5	6	5	26
ИТОГО	16	19	20	24	16	79



Возможный генотип крови по системе резус был определен нами у 79 отцов (табл. 9). Как видно из таблицы, по мере нарастания тяжести гемолитической болезни плода отмечается увеличение числа отцов с вероятно гомозиготным типом крови. Однако в каждом конкретном случае делать заключение о прогнозе для плода по определению предполагаемого генотипа крови отца нельзя. Так, из 16 отцов, дети которых умерли от гемолитической болезни, у 5 была кровь гетерозиготного типа.

В свете современных технологий определение генотипа отца чрезвычайно важно при некоторых клинических ситуациях: — при резус-сенсibilизации прогноз для плода лучше при гетерозиготном типе крови отца:

- в программе ЭКО возможна преимплантационная диагностика резус-положительного или отрицательного типа крови эмбриона;
- в программе антенатальной профилактики резус-сенсibilизация у неиммунизированных женщин иммуноглобулином анти-резус. При гомозиготном типе крови мужа необходима профилактика, при гетерозиготном — возможна диагностика резус-принадлежности плода по крови матери (ПЦР диагностика), так как в 50% плод может быть резус-отрицательным и тогда профилактика изосенсibilизации не нужна.

Полученные нами данные позволяют считать, что комплексный иммунологический анализ крови родителей является важнейшей составной частью обследования беременных женщин. Вместе с тем, результаты иммунологических исследований не позволяют во всех случаях достоверно устанавливать диагноз заболевания плода и прогнозировать исход беременности. При ведении беременности и родов у женщин с резус-отрицательной кровью и симптомами изоиммунизации, а также при назначении соответствующих средств терапии и профилактики иммунопатологии кроме иммунологических данных необходимо учитывать и другие, более точные и информативные показатели, особенно те из них, которые непосредственно позволяют судить о состоянии плода. Анализ этих показателей представлен в следующих разделах настоящей главы.

Среди неинвазивных методов оценки степени активности антител вызывать гемолиз привлекает метод определения цитотоксичности антител (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity assay AD-CC). Впервые этот тест был предложен Ouwehand W. в 1984 г. и с этого времени

внедрен в практику в Нидерландах, наряду с определением титра антител. Сущность метода по описанию Engelfriet и Ouweland (1990) состоит в следующем: резус-положительные эритроциты донора метятся радиоактивным хром-51 и смешиваются с неразведенной сывороткой матери. В качестве эффекторных клеток используются моноциты от пула (70–100) доноров, моноциты сохраняются в жидком азоте. Иммуноглобулин G-сенсibilизированные эритроциты и моноциты смешиваются, центрифугируются и инкубируются при 37<sup>0</sup>С в 5% диоксид углероде. После центрифугирования степень цитотоксического лизиса определяется путем подсчета хром-51 активности в супернатанте и выражается как процент степени лизиса поликлональными анти-D антителами по калибровочной кривой. В клиниках Нидерландов этот тест рутинно производится вместе с определением уровня антител. При уровне АДСС  $\leq 10\%$  — плод здоров и риска ГБ нет. При уровне АДСС  $< 30$  (Engelfriet), до  $< 50$  (Oerkes D., 2001) производить инвазивные тесты для оценки состояния плода необходимости нет. При показателях  $\geq 50\%$  необходимо использовать не только УЗИ и доплер, но и инвазивные тесты. Такой четкой корреляции с тяжестью ГБП при исследовании титра антител нет. Это объясняется тем, что тяжесть заболевания зависит не только от количества антител. IgG — антитела не комплемент-связывающего типа и не вызывают прямо разрушения эритроцитов плода. Полагают, что после воздействия антител на Rh-положительные эритроциты, IgG антитела вызывают адгезию их к Fc-рецепторам моноцитов. Моноциты выделяют цитотоксические субстанции, которые вызывают лизис эритроцитов или моноциты разрушают эритроциты путем фагоцитоза. Этот гемолитический процесс также зависит от типа и состава субклассов IgG. Наиболее важными субклассами являются антитела IgG1 и IgG3 (Taslimi M. et al., 1986, Weiner E. et al., 1987).

По результатам мультилабораторного исследования по данным Mollison P. (1991), АДСС тест является лучшим неинвазивным тестом в оценке тяжести гемолитической болезни.

Многие исследователи, тем не менее, отмечают, что при всех тестах по исследованию материнской сыворотки могут быть ложно-положительные результаты. Благодаря новым технологиям резус-принадлежность плода может быть определена по плодовой ДНК в материнской крови, и в связи с этим можно определить резус-отрицательных плодов и снизить число ложно-положительных ошибок. Использование дополнительно УЗИ, доплера и инвазивных методов позволяет избежать этих ошибок.

Гораздо более тяжелые последствия могут быть от ложно-негативных ошибок. Избежать, эти ошибки, можно путем централизации исследований в высоко профессиональной лаборатории, повторять регулярно анализы, параллельно с определением титра антител. Стоимость исследования невелика по сравнению с инвазивными методами исследования.

## ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПЛОДА

Концепция применения методов регистрации сердечной деятельности плода для оценки его состояния возникла более 30 лет назад и успешно применяется до настоящего времени. Было разработано много тестов в оценке состояния плода по его сердечной деятельности: стрессовый тест, нестрессовый тест, оценка биофизического профиля плода, оценка кровотока методом доплерометрии и др. Первичная цель дородовой оценки состояния плода, это возможность определить степень гипоксии плода (основная причина смерти), которая может возникать при различной патологии у матери и/или у плода. Вторая цель — оценка эффективности лечебных мероприятий; третья — при отсутствии эффекта от терапии определить оптимальное время для родоразрешения.

И хотя в настоящее время редко применяется прямая и непрямая запись ЭКГ плода в процессе беременности и в родах, но анализ данных, полученных в процессе работы этими методами, позволяет глубже понять патогенез формирования гипоксии при гемолитической болезни плода и увидеть эволюцию диагностических возможностей.

С целью определения состояния плода нами проводилось исследование его сердечной деятельности во время беременности и родов путем одновременной регистрации ЭКГ, ФКГ плода и ЭКГ матери. Регистрацию ЭКГ плода производили методом непрямой электрокардиографии. Для регистрации ФКГ плода микрофон устанавливали в месте наилучшего выслушивания сердцебиения плода. Запись ФКГ производили на различных диапазонах частот; запись ЭКГ матери осуществляли во II стандартном отведении.

Изучение сердечной деятельности у плодов с различными формами гемолитической болезни производили по методике, раз-

работанной Л.С.Персианиновым и соавт. (1967), с применением функциональных проб (задержка дыхания после глубокого выдоха, затем после вдоха, холодовая проба, окситоциновый тест). Пробы проводили для оценки реактивности плода и его способности адаптироваться к меняющимся условиям существования в зависимости от степени тяжести гемолитической болезни. Изучение ЭКГ и ФКГ, проведение фазового анализа с применением функциональных проб дают возможность объективно определить начальные изменения сердечной деятельности плода, не выявляемые обычными клиническими методами исследования.

С целью более бережного ведения родов у женщин с резус-иммунизацией мы проводили в родах мониторный контроль за состоянием плода с помощью следящей системы, позволяющей регистрировать его тахограмму и прямую ЭКГ, либо с помощью кардиографа, регистрирующего тахограмму плода и наружную гистерограмму. Для этих целей при вскрытии плодного пузыря на головку плода накладывали миниатюрный спиральный электрод для прямой записи ЭКГ и тахограммы.

Метод мониторного контроля позволяет объективно оценить состояние плода, вовремя применить и проконтролировать эффективность терапии угрожающей гипоксии плода.

Анализ сердечной деятельности плода при различных формах гемолитической болезни свидетельствует о наличии хронической гипоксии. Это состояние развивается, очевидно, вследствие анемии, интоксикации организма продуктами распада эритроцитов, особенно в связи с накоплением в тканях непрямого билирубина. Развивается анемическая гипоксия миокарда, которая, по Г. Ф.Лангу, относится к разряду миокардиодистрофии. При гемолитической болезни возникает ряд изменений сердечно-сосудистой системы плода, являющихся результатом как компенсаторных реакций, направленных на устранение гипоксии, так и патологических изменений миокарда (табл. 10).

Это, в свою очередь, недостаточно отражается на его кровяном давлении, а значит и на сердцебиении. Тахограмма плода в данном случае представляет собой почти прямую линию (рис. 1).

При сравнительном изучении сердечной деятельности плода обнаружено, что при различных формах гемолитической болезни частота сердцебиения довольно постоянна и лишь при тяжелой форме заболевания заметно урежается. Приспособительные реакции к меняющимся условиям существования выражаются в колебаниях частоты сердцебиения в короткие отрезки времени.

### Средние показатели ( $M \pm m$ ) сердечной деятельности плода при различных формах гемолитической болезни

Группы наблюдений	Частота сердцебиения плода в 1 мин	Колебания частоты сердцебиения за 5 с	Длительность сердечного цикла, (с)
До лечения			
Здоровые дети	144,8±0,59	4,26±0,16	0,413±0,002
Гемолитическая болезнь			
Легкая	145,2±0,82	3,62±0,13	0,412±0,002
Средняя	144,9±0,82	2,92±0,13	0,412±0,003
Тяжелая	137,9±1,5	1,92±0,19	0,429±0,002
После лечения			
Здоровые дети	144,7±0,5	4,3±0,15	0,414±0,002
Гемолитическая болезнь			
Легкая	145,2±0,7	4,2±0,6	0,413±0,003
Средняя	144,7±0,8	3,0±0,14	0,414±0,002
Тяжелая	137,8±0,9	1,9±0,17	0,430±0,002
Группы наблюдений	Длительность фазы асинхронного сокращения желудочков, (с)	Длительность механической систолы, (с)	Длительность общей систолы, (с)
До лечения			
Здоровые дети	0,034±0,0001	0,186±0,001	0,220±0,001
Гемолитическая болезнь			
Легкая	0,035±0,0001	0,186±0,001	0,221±0,001
Средняя	0,033±0,0001	0,185±0,001	0,218±0,001
Тяжелая	0,033±0,0001	0,186±0,001	0,217±0,001
После лечения			
Здоровые дети	0,033±0,0001	0,186±0,001	0,219±0,001
Гемолитическая болезнь			
Легкая	0,033±0,0001	0,185±0,001	0,218±0,001
Средняя	0,032±0,0001	0,186±0,001	0,218±0,001
Тяжелая	0,031±0,0001	0,186±0,001	0,217±0,001
Группы наблюдений	Длительность диастолы, (с)	Отношение общей систолы к диастоле	Длительность комплекса QRS, (с)
До лечения			
Здоровые дети	0,193±0,01	1,14±0,006	0,051±0,006
Гемолитическая болезнь			
Легкая	0,191±0,013	1,15±0,006	0,052±0,005
Средняя	0,194±0,013	1,12±0,005	1,059±0,005
Тяжелая	0,212±0,015	1,02±0,01	0,064±0,006
После лечения			
Здоровые дети	0,195±0,01	1,12±0,005	0,051±0,006
Гемолитическая болезнь			
Легкая	0,195±0,01	1,12±0,005	0,052±0,006
Средняя	0,196±0,013	1,11±0,005	0,059±0,005
Тяжелая	0,213±0,015	1,01±0,01	0,066±0,005

**Примечание:** Амплитуда зубца R (мВ): у здоровых детей 11,5±0,51; при гемолитической болезни: легкой 10,7±0,66; средней 6,3±0,21; тяжелой 4,72±0,27; после лечения у детей, совместимых по резус-фактору 11,6±0,5; при гемолитической болезни: легкой 11,0±0,6; средней 6,5±0,2; тяжелой 4,6±0,2.

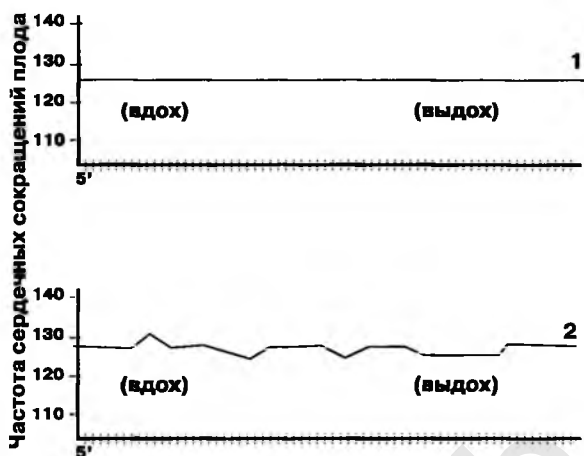


Рис. 1. Тахограмма плода с гемолитической болезнью; 1—тяжелая форма; 2— средней тяжести.

Степень этой реакции видна при анализе колебаний частоты сердцебиения плода при различных формах гемолитической болезни. Отсутствие увеличения числа колебаний при тяжелых формах заболевания после проведенного лечения следует рассматривать как неблагоприятный прогностический признак. Возможно, что уменьшение физиологических колебаний сердцебиения в короткие отрезки времени связано с анатомическими изменениями плаценты, которые нарушают и затрудняют передачу плоду быстрых и небольших изменений давления крови в материнской части плаценты.

При проведении фазового анализа было обнаружено, что как во время беременности, так и во время родов длительность сердечного цикла соответствует частоте сердцебиения плода. Фаза асинхронного сокращения желудочков является довольно постоянной величиной во всех группах. Длительность механической систолы соответствует таковой, вычисленной по формуле в соответствии с длительностью сердечного цикла. Длительность общей систолы и диастолы примерно одинакова во всех группах.

Исключением является тяжелая форма заболевания, при которой наблюдается удлинение диастолы, в связи с чем происходит уменьшение величины отношения общей систолы к диастоле — до 1,0. Это свидетельствует о некотором укорочении длительности механической систолы по отношению к длительности сердечного цикла.

По-видимому, это укорочение систолы и относительное удлинение диастолы являются компенсаторной реакцией, направленной на улучшение деятельности сердца плода с тяжелой формой гемолитической болезни.

Удлинение комплекса QRS при тяжелой форме заболевания свидетельствует о нарушении внутрижелудочковой проводимости, вплоть до развития картины неполной блокады сердца (рис. 2). Подобные нарушения выявлены у детей и взрослых больных, страдающих анемией.

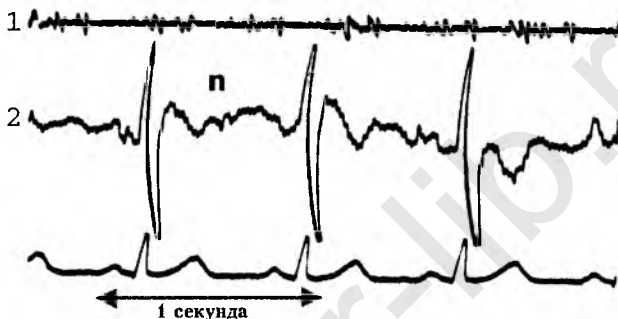


Рис. 2. ЭКГ и ФКГ плода с тяжелой формой гемолитической болезни:  
1— ФКГ плода ( стрелкой обозначен систолический шум); 2— ЭКГ плода  
(n — деформация комплекса QRS).

По мере нарастания степени тяжести гемолитической болезни наблюдается уменьшение амплитуды комплекса QRS. В экспериментальных исследованиях, проведенных Я.М. Бритваным и А.Г. Кудиным (1954), показано, что снижение амплитуды комплекса является характерным для гипоксии миокарда. В.Л. Таболин (1964) при исследовании ЭКГ детей с гемолитической болезнью обнаружил снижение вольтажа комплекса QRS. По мнению А.Д. Яновского (1962), снижение амплитуды и уширение комплекса QRS у больных анемией возникает в результате изменений в сердечной мышце, которые обусловлены недостаточностью кровообращения вследствие низкого содержания кислорода в крови при усиленной сердечной деятельности. Кислородное голодание вызывает биохимические сдвиги в мышечной ткани, влияющие на ее электрическую активность.

Анализ компонентов ФКГ плодов с различными формами гемолитической болезни позволил выявить некоторые особенности,

свойственные фонокардиографической картине при гипоксии плода. Тяжесть этих изменений нарастает параллельно тяжести гемолитической болезни. Характерной особенностью ФКГ при тяжелой форме заболевания являются сердечные шумы (рис.3). Возможно, что они обусловлены анемией, снижением вязкости крови и ускорением скорости кровотока, а также дистрофическими изменениями миокарда. Не исключено, что вследствие состояния гипоксии и интоксикации билирубином развивается функциональная недостаточность клапанов из-за снижения контрактильной способности сердечной мышцы.

Существенное значение для определения тяжести гемолитической болезни имеют не столько выраженные изменения ЭКГ и ФКГ, сколько улучшение показателей сердечной деятельности плода после проведенного лечения. Только при наиболее тяжелой форме гемолитической болезни улучшения сердечной деятельности под влиянием лечения не происходит.

Одновременно с появлением шумов на ФКГ нарастают изменения, свойственные хронической гипоксии миокарда: неравномерное звучание и неравномерный характер затухания тонов, появление дополнительных осцилляций между ними (рис. 4).

Таким образом, сердечно-сосудистая система плода обладает большими компенсаторными возможностями и даже при выраженных явлениях хронической гипоксии функционирует на высоком уровне, обеспечивая кровоснабжение организма. Изменению сердечной деятельности плода следует уделять особое внимание при определении тактики ведения беременности при резус-конфликте. Резкое ухудшение показателей ЭКГ и ФКГ должно рассматриваться в качестве показания к амниоцентезу либо к досрочному родоразрешению.

В настоящее время в Центре оценку сердечной деятельности плода путем исследования ЭКГ и ФКГ практически не прово-

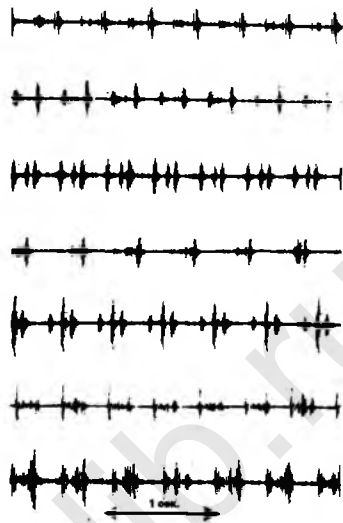


Рис.3. Разновидность шумов сердца при гемолитической болезни плода.



дят, так как это трудоемкая работа. Основным методом оценки является исследование кардиотокограммы (КТГ) с определением показателя состояния плода (ПСП) (Демидов В.Н.). ПСП определяется по формуле:

$$\text{ПСП} = 155 \times 10^{-4} \times (\text{Etcp}) + 87 \times 10^{-7} \times (\text{Ehma}^2) - (64 \times 10^{-4}) - (\text{Ehma}) + 0,33 / \text{Maxh ma/cp} + 0,95,$$

где Etcp - общая продолжительность стабильного ритма;

Ehma - общая продолжительность медленных акцелераций;

Maxh ma/cp - отношение амплитуды максимальных акцелераций к максимальному времени стабильного ритма.

ПСП=1,0 и менее свидетельствует о нормальном состоянии плода; при ПСП от 1,1 до 2,0 - у плода имеются начальные признаки страдания; при ПСП от 2,1 до 3,0 - у плода выраженное страдание и при ПСП более 3,1 - тяжелое страдание плода.

При исследовании показателя ПСП при гемолитической болезни следует отметить, что признаки страдания (монотонный ритм) появляется при средне-тяжелой и при тяжелой степени гемолитической болезни.

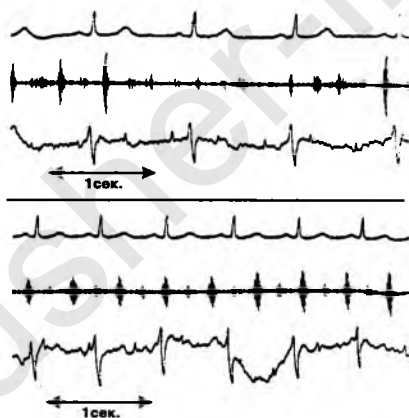


Рис. 4. ЭКГ и ФКГ плода с гемолитической болезнью средней тяжести до лечения: на ФКГ- неравномерное звучание тонов, систолический шум.

## УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ЭХОГРАФИЯ

Применение ультразвуковой эхографии открыло новые возможности в антенатальной диагностике гемолитической болезни. Особенно большую ценность имеет метод сложного сканирования, который позволяет в динамике следить за ростом и развитием плода. Как показали многочисленные исследования, применяемые с диагностической целью дозы ультразвука не оказывают неблагоприятного действия на организм человека.

По данным Демидова В.Н. (1981), увеличение размеров плаценты — один из наиболее ранних признаков гемолитической болезни плода. В конце неосложненной беременности толщина плаценты не превышает 5 см. При ее толщине, равной 7–8 см, у плода, как правило, наблюдается отечная форма ГБ (рис. 5).

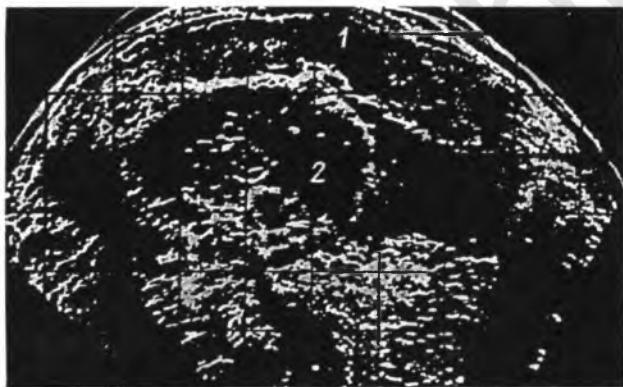


Рис. 5. Отечная форма гемолитической болезни плода, по данным ультразвукового сканирования: 1—утолщенная плацента на передней стенке матки; 2— асцит у плода.

Вторым признаком, характерным для ГПБ, является увеличение размеров печени.

Для диагностики болезни легкой или средней степени тяжести данные ультразвукового сканирования менее информативны, чем при тяжелой форме. О величине печени при трудностях ее визуализации, по предложению Демидова В.Н., можно судить по косвенным признакам — изменению формы и смещению желудка плода. В норме при поперечном сканировании желудок плода имеет овоидную или ретортообразную форму и располагается в середине

между мечевидным отростком и позвоночником. По мере ухудшения состояния плода и увеличения размеров печени желудок принимает все более округлую форму и постепенно смещается к позвоночнику. При выраженной гепатомегалии он изображается в виде округлого образования, примыкающего к позвоночнику.

Оригинальная методика оценки объема печени по данным УЗИ предложена Михайловым А.В. (1990) и им же представлены объемы печени в процессе беременности при неосложненном ее течении (табл. 11). Пользуясь этой методикой при ГБП можно судить о степени выраженности гепатомегалии. Для вычисления объема печени автор предложил формулу:

$$V = 0,4112A_1 \times B_1 \times C_1 + 0,4399A_2 \times B_2 \times C_2 - 0,3804A_3 \times B_3 \times C_3,$$

где V — объем печени ( в см<sup>3</sup>);

1, 2, 3 — индексы соответственно правой доли печени, медиального и латерального сегментов левой доли;

A, B, C — соответственно поперечный, переднезадний и продольный размеры.

Таблица 11

**Объем печени плода и ее долей, вычисленный на основе их ультразвукового измерения, с 20-й по 40-ю неделю беременности (Михайлов А.В., 1990)**

Срок беременности, нед	Общий объем печени, см <sup>3</sup>	Объем правой доли, см <sup>3</sup>	Объем левой доли, см <sup>3</sup>
	M±m		
20-22	13,2±0,7	6,9±0,3	6,3±0,4
23-25	21,4±0,9	11,2±0,5	10,3±0,4
26-28	35,8±1,3	18,4±0,7	17,4±0,7
29-31	48,1±1,5	25,2±0,9	22,4±0,7
32-34	68,5±2,3	36,4±1,3	32,1±1,1
35-37	90,6±2,5	47,2±1,2	43,5±1,3
38-40	137,4±6,7	72,4±3,3	65,1±3,4

По данным Сичинава Л.Г. и соавт. (1989), Паниной О.Б. (1989), большое значение в диагностике тяжести ГБП имеет не толщина плаценты, а ее объем, так как толщина плаценты превышает норму лишь у 1/3 пациенток, а при среднетяжелой и тяжелой форме заболевания у 2/3 больных. Объем плаценты измеряется с помощью ультразвуковых параметров по разработанным математическим формулам с учетом локализации плаценты в матке и формы ее плодовой поверхности. При исследовании плаценты на сонограммах измеряют следующие параметры: длину матки

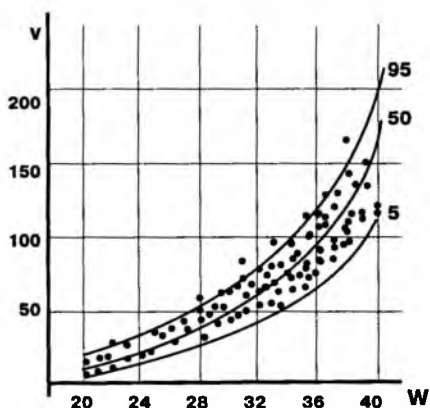


Рис. 6. Графическое выражение зависимости объема печени плода от срока беременности при ее неосложненном течении с 20-й по 40-ю неделю для 5-й, 50-й и 95-й перцентили. V- объем печени плода ( см<sup>3</sup>); W- срок беременности, нед (Михайлов А.В., 1990).

(2с), ширину матки (2в), глубину матки (2d), расстояние между краями плаценты, измеренное при поперечном сканировании (2f), расстояние от верхней точки материнской поверхности плаценты до воображаемой линии, соединяющей края плаценты при продольном сканировании (Н), толщину плаценты (h).

Дополнительно вычисляется параметр  $h' = H - h$ , равный максимальному расстоянию от плодовой поверхности плаценты до воображаемой линии, соединяющей края плаценты при продольном сканировании. При вычислении объема плаценты предложены три формулы в зависимости от формы плодовой поверхности при ее расположении на передней или задней стенках матки.

При наличии прямой плодовой поверхности объем плаценты определяется по формуле:

$$V = Pc^2 (H^2/v - H^3/3v^2).$$

При выпуклой поверхности плаценты ее объем вычисляют по формуле:

$$V = Pc^2 (H^2/v - H^3/3v^2 + \Pi/6h' (3a^2 + h^2)).$$

При вогнутой поверхности плодовой стороны плаценты объем ее вычисляют по формуле:

$$V = Pc^2 (H^2/v - H^3/3v^2 - \Pi/6h' (3a^2 + h^2)).$$

Для расчета объема плаценты, расположенной в дне матки и имеющей вогнутую плодовую поверхность, используют формулу:

$$V = \Pi v^2 (H^2/c - H^3/3c^2) - \Pi/6h' (3a^2 + h^2).$$

Если при расположении плаценты, в дне ее плодовая поверхность прямая или выпуклая ее объем вычисляют по формулам:

$$V = \Pi v^2 (H^2/c - H^3/3c^2) \text{ и } V = \pi v^2 (H^2/c - H^3/3c^2) + \pi/6h' (3a^2 + h^2).$$

Плодовая поверхность плацент, расположенных на боковых стенках матки, имеют вогнутую поверхность, и объем плаценты может быть рассчитан по формуле:

$$V = \pi cd (H^2/b - H^3/3b^2 - \pi(6h' (3af + h^2)).$$

Установлено, что при ГБП объем плаценты увеличен по сравнению с неосложненной беременностью при всех степенях тяжести, но наибольшей прирост объема плаценты наблюдается при тяжелой форме заболевания. По данным Паниной О.Б. (1989), при легкой форме ГБП увеличение объема плаценты составляет в среднем — на  $69,03 \pm 6,01 \text{ см}^3$  у 75% беременных, при средней степени тяжести — на  $221,12 \pm 19,26 \text{ см}^3$  у 84% пациенток и при тяжелой форме заболевания — на  $421,05 \pm 39,59 \text{ см}^3$  у 95% беременных.

Увеличение объема плаценты при легкой форме заболевания представляется важным, так как по другим неинвазивным методам исследования определить эту форму заболевания чрезвычайно затруднительно.

Наряду с объемом плаценты важно учитывать недельный прирост ее объема. Если в норме прирост объема за неделю составляет до 34 недель  $20-30 \text{ см}^3$  и  $30-50 \text{ см}^3$  при сроках больше 34 нед, то при ГБП при легкой форме еженедельный прирост составляет  $89,03 \pm 6,01 \text{ см}^3$ , при средней —  $221,12 \pm 19,26 \text{ см}^3$ , при тяжелой  $412,05 \pm 39,59 \text{ см}^3$ , что позволяет в динамике прогнозировать степень тяжести заболевания.

Федорова М.В., Калашникова Е.П. (1986) отметили, что у ряда беременных с тяжелой формой заболевания объем плаценты может быть снижен, если гемолитическая болезнь развивается на фоне плацентарной недостаточности. Сниженный объем плаценты при реус-сенсбилизации наряду с увеличенным объемом является неблагоприятным прогностическим признаком.

**Нормативные показатели объема плацент при физиологически протекающей беременности (Панина О.Б., 1989)**

Сроки беременности, нед	Объем плаценты
20	128,03±14,10
21	152,83±13,29
22	172,47±5,55
23	208,97±14,90
24	227,48±17,65
25	242,61±14,01
26	277,48±9,76
27	296,48±14,04
28	316,50±7,84
29	340,82±11,16
30	368,12±14,65
31	397,51±10,50
32	414,57±17,64
33	435,17±14,57
34	468,92±22,40
35	500,44±25,69
36	535,86±26,86
37	551,23±23,77
38	579,01±27,5
39	613,12±31,70
40	649,98±28,34

При легких проявлениях ГБП этих ультразвуковых признаков практически нет, а при тяжелых проявлениях ГБП, особенно при отечной форме заболевания УЗИ позволяет с высокой степенью точности поставить этот диагноз: увеличение размеров живота по сравнению с размерами головки и грудной клетки; появление асцита разной степени выраженности; увеличение печени (увеличение селезенки на УЗИ выявляется редко); выявление двойного контура головки, обусловленное скоплением жидкости между кожными покровами и костями черепа плода; увеличение толщины и объема плаценты. При тяжелых формах ГБП площадь плаценты составляет от 1/2 до 1/4 площади матки. Наряду с этим изменяется структурность плаценты, отмечено появление шаровидных пустых зон на эхограмме.

Еще одной отличительной особенностью ГБП, определяемой с помощью УЗИ, является оценка дыхательных движений плода, которые определяются на экране как смещения грудной клетки

и передней брюшной стенки, которые чередуются с периодами апноэ — отсутствием дыхательных движений (Сичинава Л.Г. и соавт., 1984; Маджадж Н., 1986). Оцениваются такие параметры как частота дыхательных движений (ЧДД) — число дыханий в 1 минуту и индекс дыхательных движений (ДД) — процентное отношение времени дыхательных движений к общей продолжительности исследования. При легкой форме ГБП частота дыхательных движений (ЧДД) снижена в 2 раза по сравнению с нормативными параметрами, а индекс ДД в 1,98 по сравнению с нормативными параметрами. При тяжелой форме заболевания ЧДД и ДД снижены в 3 и 3,5 раза по сравнению с нормативными параметрами. При отечной форме заболевания — дыхательные движения плода практически отсутствуют.

Таким образом, методы ультразвуковой диагностики высоко информативны для тяжелых форм ГБ, в основном для отечной формы заболевания. При отсутствии тяжелой формы ни один из изученных параметров фето- и плацентометрии не является достоверным критерием оценки степени тяжести ГБП (Nicolaides и соавт., 1988). Тем не менее, безопасность метода для матери и плода, его высокая информативность позволяют считать ультразвуковую эхографию одним из основных методов исследования в акушерской практике.

## ДОППЛЕРОМЕТРИЯ ПЛОДОВО-ПЛАЦЕНТАРНОГО И МАТОЧНО-ПЛАЦЕНТАРНОГО КРОВОТОКА

Одним из неинвазивных методов оценки состояния плода является доплерометрический метод оценки скорости кровотока в пуповине, сосудах плода, маточных артериях. Оценка кривых скоростей кровотока проводится путем анализа максимальной систолической (МССК) и конечной диастолической скорости кровотока (КДСК) с расчетом уголнезависимых параметров: систоло-диастолического отношения — С/Д; индекса резистентности (ИР) определяемого по формуле:

$$\text{ИР} = \frac{\text{МССК} - \text{КДСК}}{\text{МССК}}$$

Индекс резистентности является наиболее информативным показателем, характеризующим периферическое сопротивление исследуемой сосудистой системы.

Для одновременного учета изменений кровотока в маточно-плацентарном и плодово-плацентарном звеньях Стрижаков А.Н.

и соавт. (1989) предложили расчет плацентарного коэффициента (ПК) по формуле:

$$ПК = \frac{1}{C/Дап \times C/Дма}$$

где C/Дап и C/Дма — систоло-диастолическое отношение в артерии пуповины и маточной артерии соответственно.

Допплерометрическую оценку степени тяжести гемодинамических нарушений необходимо учитывать при выборе акушерской тактики и прежде всего метода родоразрешения. При наличии II и тем более III степени нарушения кровообращения в маточно-плацентарном и плодово-плацентарном звеньях оптимальным в интересах плода является родоразрешение путем кесарева сечения. Так, при нарушениях кровообращения III степени перинатальные потери при родоразрешении через естественные родовые пути составили более 50%; в то же время родоразрешение путем операции кесарева сечения при данных критических состояниях плодово-плацентарного кровообращения позволило избежать перинатальных потерь.

Таблица 13

**Показатели кровотока в маточной артерии, в артерии пуповины при неосложненном течении беременности (M±m)  
(Стрижаков А.Н. и соавт., 1989)**

Показатели кровотока	Срок беременности, нед							
	16-19	20-22	23-25	26-28	29-31	32-34	35-37	38-41
Маточная артерия								
C/Д	2,08± 0,03	1,95± 0,03	1,91± 0,02	1,83± 0,02	1,78± 0,02	1,73± 0,03	1,68± 0,02	1,69± 0,02
ИР	0,51± 0,007	0,48± 0,008	0,47± 0,007	0,45± 0,006	0,43± 0,006	0,42± 0,008	0,39± 0,008	0,40± 0,009
Артерия пуповины								
C/Д	4,56± 0,11	3,86± 0,09	3,51± 0,10	3,19± 0,08	2,88± 0,06	2,52± 0,04	2,27± 0,05	2,09± 0,05
ИР	0,78± 0,05	0,74± 0,05	0,71± 0,01	0,68± 0,01	0,65± 0,01	0,60± 0,01	0,56± 0,01	0,52± 0,01
ПК	0,110± 0,003	0,135± 0,003	0,155± 0,003	0,203± 0,003	0,135± 0,005	0,238± 0,006	0,261± 0,006	0,292± 0,006



Сравнительный анализ исходов беременности и родов при тяжелых гемодинамических нарушениях в системе мать—плацента—плод показал значительное снижение перинатальной заболеваемости и смертности при расширении показаний к операции кесарева сечения в данной акушерской ситуации. Авторами предложена классификация степени тяжести нарушений гемодинамики в системе мать—плацента—плод. При I степени отмечается нарушение только маточного (А) или только плодового (Б) кровотока; II степень характеризуется нарушениями как маточного так и плодового кровотока, не достигающими критических значений; III степень — нарушения кровотока в артерии пуповины достигают критических, выражающихся наличием нулевых и отрицательных значений диастолического компонента кровотока (Стрижаков А.И., Игнатко И.В., 1997).

По данным ряда исследователей, при гемолитической болезни плода вследствие анемии и гемолиза, изменяется вязкость крови и поэтому гемодинамические нарушения — не такие, как при гипоксии другого генеза (задержка внутриутробного развития, преэклампсия и др.), а данные доплерометрии не информативны для оценки тяжести гемолитической болезни (Kirkinen и соавт., 1983; Rightmire., 1986). В то же время ряд авторов для оценки степени тяжести анемии при ГБП используют доплерометрический метод. Так, Бадалян С.С. и соавт. (1990) отмечают повышение доплерометрических показателей С/Д и ИР в артерии пуповины при возрастании тяжести ГБП, в связи с повышением сосудистого сопротивления плодовой части плаценты, что может быть обусловлено изменениями в плаценте и/или изменениями сосудод-суживающих и сосудод-расширяющих систем плодово-плацентарного комплекса. Авторы нашли повышение активности системы ренин-ангиотензин-альдостерон плодово-плацентарного комплекса при нарастании тяжести ГБП, и эти изменения сочетались со снижением плодово-плацентарного объема крови, снижением часового диуреза у плодов и с повышением сосудистого сопротивления в плодовой части плаценты.

По данным исследователей, наибольшую диагностическую ценность имеет доплерометрическая оценка кровотока в средней мозговой артерии плода, и именно она является решающей в тактике перехода от неинвазивных методов оценки степени тяжести ГБП к инвазивным (Mari, 1995; Gottvall T., и соавт., 1994). При анемии отмечается значительное повышение скорости кровотока в средней мозговой артерии плода, которая коррелирует с тяжестью анемии при ГБП.

По данным Whitecar P и соавт. (2000) и Detti L. и соавт. (2001), при анемии у плода скорость кровотока в средней мозговой артерии выше, чем у плода того же срока гестации, и степень изменения скорости кровотока обратно коррелирует, с уровнем гематокрита. Чувствительность метода 100% и ложно-положительные результаты составили 12%. Авторами было показано, что даже при переливании плоду взрослой крови интраперитонеально или путем кордоцентеза, вязкость которой отличается от плодовой крови, этот метод является ведущим в тактике ведения этих больных и в выборе времени второго переливания, если в этом возникает необходимость. Скорость кровотока 1,69 МоМ указывает на тяжелую анемию у плода. При показателях 1,32 МоМ у плода определяется анемия средней степени и нет необходимости в переливании крови.

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЛОДА**

Околоплодные воды являются сложной, биологически активной средой, обеспечивающей наряду с другими факторами нормальную жизнедеятельность плода. В свою очередь, состояние плода не может не отразиться на составе и качестве амниотической жидкости, являющейся для плода внешней средой. Таким образом, околоплодные воды являются важнейшим источником информации о состоянии плода. В 1952 г. Bevis предложил метод амниоцентеза для получения амниотической жидкости и определения на основании ее анализа степени тяжести гемолитической болезни. В 1957 г. Walker предложил проводить спектрофотометрическое исследование околоплодных вод, показав, что на волне, равной 450 нм, возникает абсорбционный горб, который изменяется в зависимости от выраженности гемолитической болезни у плода. В дальнейшем этот метод антенатальной диагностики получил широкое признание, особенно после внедрения в практику методов определения локализации плаценты, которые снизили риск ранения последней при амниоцентезе.

#### **Трансабдоминальный амниоцентез**

Амниоцентез — операция вхождения в полость амниона иглой для отсасывания небольшого количества амниотической жидкости и последующего ее исследования с диагностической целью (рис. 7). Впервые для диагностики гемолитической болезни новорожден-

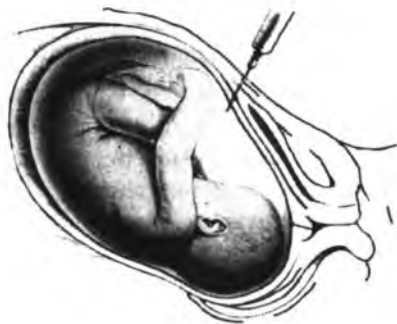


Рис. 7. Амниоцентез.

ных, как уже указывалось, эта операция была предложена Vevis в 1952 г.

Показаниями для амниоцентеза являются:

1. Титр антител выше критического уровня для данной лаборатории или увеличение на 2 разведения титра антител при отсутствии отягощенного анамнеза.

2. Антитела вне зависимости от

их титра при наличии в анамнезе мертворождения или тяжело больного ребенка с ГБП.

3. Данные неинвазивных методов исследования (УЗИ, доплер, АССД), свидетельствующие о наличии у плода средне-тяжелой или тяжелой формы ГБ.

Время амниоцентеза определяется появлением при неинвазивных тестах исследования признаков ГБ, а также временем заболевания плода в предшествующих беременностях, но обычно это более 24 недель. Если имеются признаки отечной формы заболевания до 24 недель, то прогноз обычно плохой, так как при этих сроках велика смертность при внутриутробном переливании крови. Время повторного амниоцентеза определяется по результатам первого анализа.

Противопоказаниями к операции мы считаем наличие признаков угрожающих преждевременных родов, лихорадочное состояние матери, наличие местных очагов инфекции на коже жи-

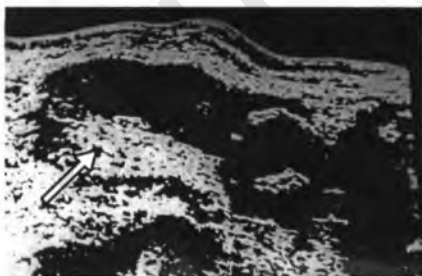


Рис. 8. Продольное сканирование. Плацента расположена на задней стенке матки.



Рис. 9. Продольное сканирование. Плацента расположена на передней стенке матки.

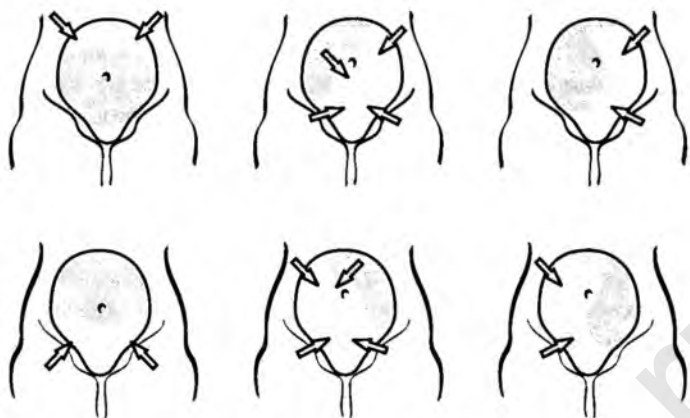


Рис. 10. Выбор места для амниоцентеза в зависимости от расположения плаценты.

вота, врожденные аномалии матки, большие узлы фибромиомы матки, расположение плаценты на передней стенке матки. Предварительное определение места расположения плаценты, методом ультразвукового сложного сканирования плаценты снижает риск повреждения ее сосудов, уменьшает возможность плодово-материнского кровотечения (рис. 8, 9).

Операцию производят в условиях стационара с соблюдением всех правил асептики и антисептики, в положении женщины, лежа на спине с чуть согнутыми в коленях и тазобедренных суставах ногами. Место пункции выбирают в зависимости от локализации плаценты и положения плода, по возможности в стороне от его головки (рис. 10).

Кожу передней брюшной стенки обрабатывают спиртом, производят местную инфильтрационную анестезию 0,25% раствором новокаина места пункции по типу «лимонной корки». Для амниоцентеза лучше использовать иглу для люмбальной пункции; при ее отсутствии можно применить обычную иглу для внутривенных вливаний. Выбор длины иглы зависит от толщины передней брюшной стенки, но, как правило, она не должна превышать 8–10 см. Иглу вводят под прямым углом к поверхности матки. При введении иглы ощущается небольшая резистентность во время ее прохождения через апоневроз, амниотические оболочки и ощущение «провала» при попадании иглы в околоплодные воды. У большинства женщин сокращений матки при амниоцентезе нет.

В том случае, если возникла схватка, продвижение иглы следует приостановить, оттянуть ее чуть назад и подождать пока

закончится схватка, так как тактильные ощущения во время сокращения матки теряются и трудно определить, где находится игла. При попадании иглы в амнион после извлечения мандрена обычно появляется капелька амниотической жидкости. По характеру вытекания жидкости из иглы можно приблизительно судить об объеме амниотической жидкости, при тенденции к многоводию амниотическая жидкость вытекает стружкой.

Для анализа околоплодные воды отсасывали медленно шприцем в количестве 15–20 мл. После того, как материал набирали, иглу быстро извлекали, место пункции смазывали йодинол.

При многоплодной беременности необходимо исследовать околоплодные воды каждого плода. Arias F. (1984) рекомендует после получения вод из одного плодного мешка ввести небольшое количество индигокармина, чтобы при пункции второго плодного пузыря не получить образец околоплодных вод одного и того же плода. При появлении голубоватой окраски это означает, что игла находится в том же плодном мешке.

Околоплодные воды для анализа помещали в темную посуду, так как билирубин разлагается под действием света. До и после амниоцентеза выслушивали сердцебиение плода.

Тяжелых осложнений при операции амниоцентеза не наблюдали. Однако это инвазивная процедура, и многие авторы отмечают, что могут быть осложнения как со стороны матери (эмболия околоплодными водами), так и со стороны плода, вплоть до тампонады сердца плода в результате гемоперикарда (Bernier и соавт., 1972). По данным литературы, наиболее частым осложнением амниоцентеза является: получение крови или околоплодных вод, окрашенных кровью; увеличение титра антител в крови матери, как результат микротрансфузий от плода к матери и за счет этого увеличение тяжести ГБП. При грубо проведенном амниоцентезе, либо амниоцентезе при угрозе прерывания, может быть прерывание беременности. Инфекционные осложнения наблюдаются редко, если операция проводится с соблюдением правил асептики.

Из 521 проведенной нами операции амниоцентеза мы не получили воды у 6 (1,1%) женщин за счет маловодия и длительного интенсивного сокращения матки, у 4-х (0,7%) женщин при амниоцентезе получена кровь из-за недостаточно четкого определения места расположения плаценты, у 16 (3,0%) женщин после амниоцентеза наблюдали увеличение титра антител на одно-два разведения и у 12 (2,3%) после амниоцентеза наблюдали увеличение уровня плодовых эритроцитов в кровотоке матери по методу Kleihauer,

очевидно за счет микротрансфузий от плода, хотя воды были получены без видимой примеси крови.

Мы полагаем, что небольшое число осложнений при амниоцентезе в наших наблюдениях связано, во-первых, с обязательным определением места расположения плаценты и положения плода при ультразвуковом исследовании, и, во-вторых, мы не упорствуем в получении вод, если это не удастся сразу. В таких случаях мы повторяем амниоцентез через 1–2 дня, после уточнения места расположения плаценты и положения плода и расслабления матки.

### **Определение содержания билирубина в околоплодных водах**

Механизм появления билирубина в околоплодных водах окончательно не выяснен. Он обнаруживается в незначительных количествах и при неосложненной беременности, и его концентрация к концу беременности снижается (Lilley, 1961). По данным Pigeaud и соавт. (1965), билирубин в водах происходит не из мочи плода, так как большая часть его находится в водах в несвязанном состоянии, которую почки плода не в состоянии выводить. Кроме того, в моче плода при ГБ не наблюдается повышенного содержания билирубина. Кореcky и соавт. (1973) во всех случаях гемолитической болезни нашли повышение уровня связанного билирубина — соединение билирубина с кислыми дисахаридами. Полагают, что билирубин в водах появляется за счет транссудации через Вартонов студень пуповины (Кореcky, 1970), либо путем диффузии через плаценту или стенку матки (Fort, 1971). Freda (1966) считает, что при тяжелой форме гемолитической болезни, вследствие появления у плода сердечной недостаточности, билирубин фильтруется через плаценту не только в кровоток матери, но и в околоплодные воды.

По данным Chergu и соавт. (1970), билирубин в амниотической жидкости не конъюгирован и связан с альбумином, который составляет 65% от общего содержания белка в жидкости. Сатурация молекул альбумина, даже в тяжелых случаях ГБП всегда ниже способности белков связывать билирубин в околоплодных водах. Содержание билирубина в плодовой плазме и в околоплодных водах показывает преимущественный переход через оболочки от плода в амниотическую жидкость.

Специфичность спектрофотометрического метода исследования околоплодных вод была подтверждена работами Mandelbaum и

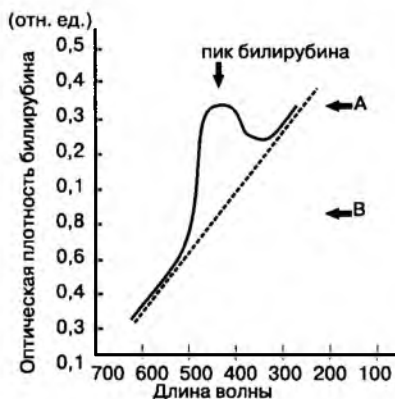


Рис. 11. Расчет пика оптической плотности билирубина по методу Liley. ОПБ — разница между A (пик билирубина испытуемой жидкости при длине волны 450 нм) и B (уровень билирубина в нормальной амниотической жидкости).

Robinson (1966). Ими проведена сравнительная спектрофотометрия околоплодных вод, содержащих билирубин, в нормальной амниотической жидкости, в которой был растворен билирубин и последовательно увеличена концентрация. Одновременно производили спектрофотометрическое исследование суспензии из бычьего билирубина, содового раствора и дистиллированной воды с билирубином в тех же концентрациях. При сравнении указанных жидкостей с дистиллированной водой и околоплодными водами получены идентичные спектрофотометрические кривые.

Единая классификация критериев оценки тяжести гемолитической болезни в зависимости от полученных спектрофотометрических кривых отсутствует. Это объясняется, прежде всего, различными методиками исследования и различной степенью чувствительности применяемой аппаратуры. Практически для каждой лаборатории должен быть свой критерий оценки спектрофотограмм, устанавливаемый на основании сопоставления результатов исследования со степенью тяжести гемолитической болезни плода.

Наиболее распространенными схемами оценки спектрофотограмм является метод Liley (1961), Freda V. (1965), Whitfield (1969).

При интерпретации данных спектрофотометрического исследования вод Liley предлагает сопоставлять величину билирубинового пика со сроками беременности. После спектрофотометрического исследования производят расчет оптической плотности билирубина



Рис. 12. Карта Liley для определения степени тяжести гемолитической болезни у плода.

для лучей, имеющих длину волны 450 нм ( $\Delta\text{ОПБ}_{450}$ ).  $\Delta\text{ОПБ}_{450}$  вычисляются путем построения треугольника — соединяют точки показателей оптической плотности амниотической жидкости для лучей длиной волн 375 нм, 450 нм и 525 нм.  $\Delta\text{ОПБ}_{450}$  определяют путем вычитания показателей ОПБ на вертикали, соединяющей вершину патологической кривой и основание треугольника (рис. 11).

Полученные данные переносят на карту Liley (рис. 12), на которой выделены три зоны: нижняя соответствует отсутствию гемолитической болезни, средняя — гемолитической болезни легкой и средне-тяжелой форм, верхняя — тяжелой форме гемолитической болезни.

По однократному исследованию судить о степени тяжести гемолитической болезни у плода по методу Liley не представляется возможным. С этой целью необходимо определять тенденцию изменения ОПБ. Продолжение линии, соединяющей результаты двух исследований, позволяет определить предполагаемую степень тяжести заболевания при дальнейшем течении беременности. При анализе спектрофотограмм по методу Liley встречаются определенные трудности, так как карта разработана в конце 50-х годов на основании результатов исследований с помощью спектрофотометра низкой чувствительности. При исследовании на современной аппаратуре все показатели  $\Delta\text{ОПБ}_{450}$  оказываются в верхней зоне карты Liley. Чтобы избежать ошибок в интерпретации  $\Delta\text{ОПБ}_{450}$  по методу Liley необходимо получить в каждой конкретной лабора-



тории свои нормативные параметры уровня билирубина с учетом сроков гестации. Тогда целесообразно использовать методику Liley, так как она определяет прогноз течения ГБП.

Кроме того, даже при незначительной примеси крови или мекония расчет  $\Delta\text{ОПБ}_{450}$  чрезвычайно затруднен из-за отсутствия характерного горба. Интерпретировать подобную кривую по  $\Delta\text{ОПБ}_{450}$  не представляется возможным.

Многие исследователи с целью улучшения результатов диагностики пользуются различными модификациями карты Liley. Так, Karnicki (1969) выделяет в средней зоне дополнительно две области. По ее данным при оптической плотности билирубина выше линии AA все дети родились с отечной формой гемолитической болезни (рис. 13).

Freda (1965) предложил производить динамическое исследование околоплодных вод с интервалом в 2 нед с тем, чтобы судить о возможных фактических (а не предполагаемых по методу Liley) изменениях состояния плода. По его классификации на спектрофотограмме выделяют 4 зоны, которые оценивают от 1+ до 4+ в зависимости от отклонения оптической плотности билирубина на волне 450 нм. По величине оптической плотности билирубина судят о степени тяжести гемолитической болезни у плода. Мауег и соавт. (1963) выделяют 5 категорий соответственно тяжести поражения плода в зависимости от вида кривой.

Большинство исследователей считают, что для более точной диагностики околоплодные воды должны быть исследованы в

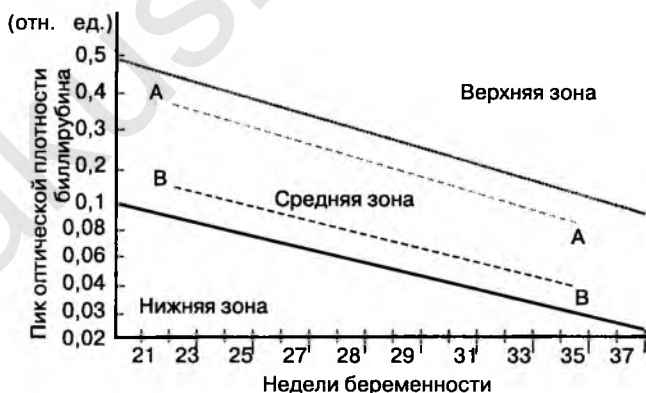


Рис. 13. Модификация карты Liley (Karnicki, 1969).

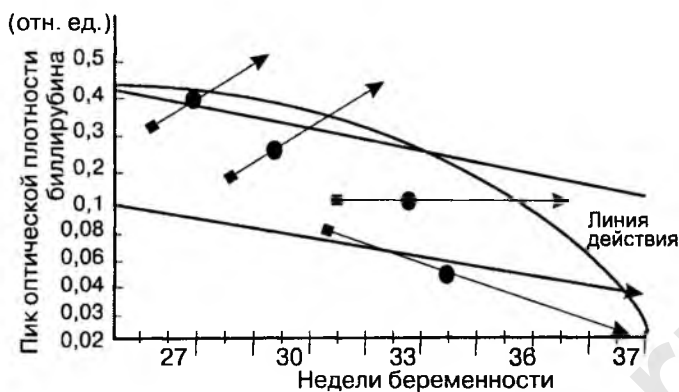


Рис. 14. Линия действия Whitfield.

динамике (Персианинов Л. С. и соавт., 1971; Садаускас В. М. и соавт., 1973, Holman., 1968; Karnicki, 1969, и др.).

Whitfield (1969) при ведении беременности у женщин с реуз-сенсублизацией предлагает руководствоваться так называемой «линией действия». Последняя построена с учетом показателей оптической плотности билирубина в каждую неделю беременности (рис. 14).

Спектрофотометрический метод определения оптической плотности билирубина в околоплодных водах основан на поглощении желчными пигментами, образующимися в результате гемолиза крови, пучка монохроматического света в диапазоне волн от 350 до 700 нм при прохождении его через околоплодные воды. Сумма поглощения этих пигментов при графическом изображении образует характерный изгиб, называемый «пиком» или «горбом».

Методика определения оптической плотности билирубина состоит в следующем: амниотическую жидкость центрифугируют при температуре — 2°С в течение 20 мин со скоростью 8000 об/мин, фильтруют, после чего исследуют на спектрофотометре МОМ-202 или СФ-4А.

Оптическую плотность околоплодных вод определяют в стеклянной кювете по отношению к дистиллированной воде (в качестве контроля) при длинах волн от 350 до 700 нм с интервалом в 25 нм. Оптическую плотность, соответствующую специфической абсорбции различных пигментов на данной длине волны, наносят на миллиметровую бумагу и вычерчивают график. На оси абсцисс откладывают длину волны, на оси ординат — оптическую плотность амниотической жидкости. Максимальную абсорбцию билирубина при длине волны 450 нм принято называть «билирубиновым пиком» абсорбции амниотической жидкости ниже и выше волны 450 нм.

На длинах волн от 350 до 700 нм в амниотической жидкости кроме билирубина определяют оптическую плотность и других пигментов. Несмотря на это, получаемые данные условно принято называть «оптическая плотность билирубина».

При оценке спектрофотометрических кривых мы пользовались следующими критериями (табл. 14).

Таблица 14

**Критерии оценки спектрофотометрических кривых  
оптической плотности билирубина и степени тяжести  
гемолитической болезни плода**

Величина «билирубинового пика» (отн.ед.)	Характеристика спектрофотограмм	Степень тяжести гемолитической болезни	Повторность амниоцентеза
От 0,10 до 0,15	Нормальная кривая	Отсутствует	Через 14 дней
От 0,16 до 0,22	1+ патологическая	Легкая	Через 10 дней
От 0,23 до 0,34	2+ патологическая	Средняя	Через 7 дней
От 0,35 до 0,7	3+ патологическая	Тяжелая	Через 3—4 дня
Свыше 0,7	4+ патологическая	Гибель плода	---

При показателях оптической плотности билирубина при длине волны 450 нм, соответствующих нормальной кривой, считали, что ребенок здоров, хотя он мог быть как с резус-отрицательной, так и с резус-положительной кровью; амниоцентез повторяли через 2 нед.

При наличии околоплодных вод с 1+ патологическим отклонением в спектрофотограмме у ребенка наблюдалась легкая форма гемолитической болезни. При сроке беременности 37—38 нед в этом случае вызывали роды. При меньшем сроке амниоцентез повторяли через 10 дней. При наличии 2+ патологической кривой у плода отмечались проявления гемолитической болезни средней тяжести. При сроке беременности 36 нед и более вызывали роды, при меньшем сроке амниоцентез повторяли через 7 дней. При 3+ патологической кривой состояние плода считали тяжелым.

В подобных случаях мы вызывали роды при сроке беременности 35—36 нед. 4+ патологическая кривая свидетельствовала о неизбежной гибели плода в ближайшие дни, роды вызывали в тот срок, когда получали данные исследования вод.

Применяемая нами оценка оптической плотности билирубина с учетом общего вида кривой предполагает необходимость повторных амниоцентезов, что позволяет выработать тактику ведения беременности в каждом конкретном случае на основе фактического ухудшения состояния плода, а не предсказанного (по методу Liley).

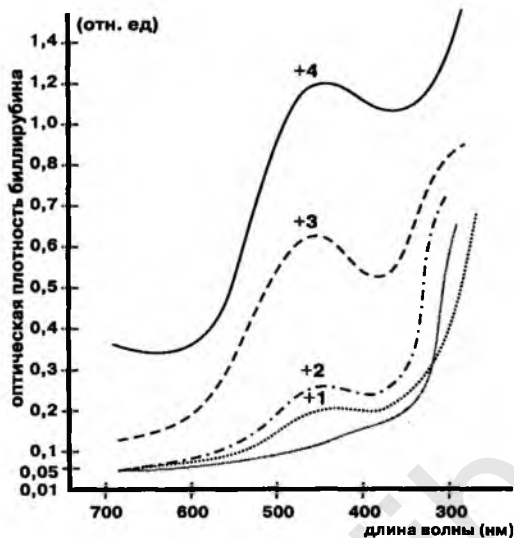


Рис. 15. Различные виды спектрофотограмм.

Это дает возможность при легких формах заболевания и при отсутствии гемолитической болезни у плода сохранить беременность до срока своевременных родов.

Таблица 15

### Результаты спектрофотометрического исследования околоплодных вод при различных формах гемолитической болезни

Группа наблюдения	Число женщин	Число исследованных проб	Типы спектрофотограммы	Показатели оптической плотности билирубина на волне 450 нм (отн. ед.) при сроках беременности		
				30-34 нед	35-37 нед	38-40 нед
I группа (здоровые)	93*	148		0,145±0,013	0,140±0,009	0,125±0,007
Гемолитическая болезнь						
II группа (легкая форма)	92	156	+1	0,174±0,010	0,171±0,006	0,188±0,007
III группа (форма средней тяжести)	85	154	+2	0,225±0,017	0,252±0,017	0,254±0,016
IV группа (тяжелая форма)	27	57	+3, +4	0,650±0,104	0,819±0,120	
ВСЕГО	297	515				

\* Из них 17 женщин без сенсибилизации (контрольная группа).

У женщин, родивших здоровых детей, проведено 148 исследований околоплодных вод, из них в 30–34 нед беременности — 38 исследований, в 35–37 нед — 70, в 38–40 нед — 40. Амниоцентез проведен у 40 женщин однократно, у 51 — два раза, у 2 — три раза. Интервал между амниоцентезами составлял, как правило, 14 дней. Во всех исследованиях у несенсибилизированных женщин с резус-отрицательной кровью показатели оптической плотности билирубина на волне 450 нм находились в пределах 0,07–0,140 относительных единиц, что соответствовало «нормальной» спектрофотометрической кривой.

В полученных пробах околоплодных вод у резус-сенсибилизированных женщин показатели оптической плотности билирубина при длине волны 450 нм зависели от срока беременности; по мере прогрессирования беременности отмечено снижение оптической плотности билирубина  $0,145 \pm 0,013$  отн. ед. в 30–34 нед беременности до  $0,125 \pm 0,007$  отн. ед. в 38–40 нед.

Почти у всех женщин в данной группе спектрофотометрическая кривая имела вид пологой линии, и максимальные показатели оптической плотности билирубина не превышали 0,140 отн. ед.; полученные данные позволили у 68 из 73 резус-сенсибилизированных женщин избежать досрочного родоразрешения.

В качестве иллюстрации приведем историю родов.

**Беременная Н.В.**, 21 год — группа крови O(I), муж O (I) Rh-положительный, фенотип крови мужа CcDEe. Настоящая беременность вторая, первая закончилась преждевременными родами, ребенок умер от недоношенности.

Находилась под наблюдением с 16 недель беременности, когда впервые выявлены антитела. Беременность протекала с явлениями угрозы прерывания, дважды находилась на стационарном лечении. Титр антител 1:8–1:128–1:256–1:128–1:256.

В 34 недели беременности произведен первый амниоцентез, оптическая плотность билирубина (ОПБ) — 0,120 отн.ед., свидетельствовала об отсутствии у плода ГБ. Через 2 недели повторный амниоцентез, ОПБ — 0,114 отн. ед. В 38 недель, третий амниоцентез, ОПБ — 0,127 отн.ед. В 39 недель самопроизвольные роды без осложнений.

Родилась девочка, массой 3000 г, длиной 50 см, группа крови O(I), Rh — положительный. Гемоглобин в крови

пуловины 17,02 г%, билирубин 1,5 мг%, реакция Кумбса — отрицательная. Гемолитической болезни у ребенка нет. Период новорожденности протекал без осложнений.

У 5 резус-сенсibilизированных женщин (6,8%) при спектрометрическом анализе околоплодных вод получены данные, свидетельствующие о наличии у плода ГБ, отмечено повышение пика билирубина от 0,228 до 0,340 отн.ед. при наличии у плода резус-отрицательной крови.

**Беременная Р., 33 лет** — группа А(II), у мужа кровь В(III) группы, резус-положительная. В анамнезе многократные переливания крови без учета резус-принадлежности. Первая беременность — внутриутробная гибель плода от ГБ, вторая и третья — самопроизвольные выкидыши в 21 нед беременности, титр антител — 1 : 256; четвертая — искусственный аборт в 8 нед беременности. Последняя беременность (пятая) протекала без осложнений. Титр антител—1:512—1:1024—1:4096—1:1024—1:2048. Проведено 4 курса десенсибилизирующей терапии, дважды произведена пересадка кожного лоскута от мужа. Первый амниоцентез осуществлен в 31 нед беременности—ОПБ — 0,175 отн. ед. Повторный амниоцентез в 33—34 нед; ОПБ — 0,220 отн. ед. В 35 нед — третий амниоцентез; ОПБ — 0,340 отн. ед. В 35 нед проведено родовозбуждение. Роды протекали без осложнений. Родилась живая недоношенная девочка, масса тела 2800 г, рост 48 см. Группа крови В (III) резус-отрицательная. Период новорожденности протекал без осложнений.

Все женщины, у которых отмечено повышение ОПБ в водах, а дети были с резус-отрицательной кровью, имели отягощенный акушерский анамнез и переливание крови без учета резус-принадлежности. По мнению Bevis (1969), повышение ОПБ при наличии плода с резус-отрицательной кровью связано с «анамнестической» или «следовой» реакцией организма.

Учитывая эти немногочисленные наблюдения, наличие «ложноположительных» результатов по оценке ОПБ, мы полагаем, что не следует ограничиваться только спектрофотометрическим исследованием околоплодных вод, обследование должно быть с использованием других методов антенатальной диагностики и пожалуй, самое главное определение резус-принадлежности плода неинвазивными методами.

В группе резус-сенсibilизированных женщин, родивших детей с легкой формой ГБ (92 женщины), было произведено 156 спек-

трофотометрических исследований околоплодных вод: в 30–34 нед беременности — 56, в 35–37 нед — 80, в 38–40 нед — 20. У 34 женщин амниоцентез проведен однократно, у 53 — дважды и у 4 — трижды и у одной — четыре раза. Интервал между амниоцентезами колебался от 8 до 14 дней.

В 30–34 нед беременности ОПБ была в среднем  $0,174 \pm 0,01$  отн. ед., в 35–37 нед ОПБ —  $0,171 \pm 0,006$  отн. ед. и в 38–40 нед —  $0,188 \pm 0,007$  отн. ед.

При легкой форме ГБП показатели ОПБ в 35–37 нед и 38–40 нед отличались от ОПБ при рождении здоровых детей (разница статистически достоверна). Общий вид спектрофотометрической кривой при легкой форме ГБП отличался от спектрофотограммы при наличии здорового плода появлением небольшого «билирубинового пика» на волне 450 нм и общей приподнятости кривой над вогнутой пологой.

В качестве иллюстрации приводим историю родов:

**Беременная В.**, 26 лет, группа крови А(II); муж — группа крови А(II), резус — положительный, фенотип CcDDe. В анамнезе переливания крови без учета резус-принадлежности. Настоящая беременность 6-ая. Первая беременность — искусственный аборт, вторая — самопроизвольный выкидыш в 27 нед, третья — неразвивающаяся беременность в 12 нед, 4-ая — самопроизвольный выкидыш в 24 нед, титр антител 1:256. Настоящая беременность протекала с явлениями угрожающего выкидыша; три курса десенсибилизирующей терапии, зашивание шейки матки в связи с истмико-цервикальной недостаточностью. Титр антител 1:32—1:128—1:64—1:32—1:512—1:32—1:64—1:256.

Первый амниоцентез произведен в 33 нед беременности, ОПБ —  $0,191$  отн. ед., у плода заподозрена легкая форма гемолитической болезни. Повторный амниоцентез в 35 нед, ОПБ —  $0,190$  отн. ед; третий в 37 нед ОПБ —  $0,187$  отн. ед.

В 39 нед беременности родовозбуждение путем амниотомии. Роды протекали без осложнений. Родился живой мальчик, масса тела 3300 г, рост 54 см. Гемоглобин крови пуповины 163 г/л (16,3 г %), билирубин 68,4 мкмоль/л (4,0 мг%), группа крови А(II), резус-положительная. У ребенка диагностирована легкая форма гемолитической болезни, произведено заменное переливание крови. Ребенок выписан в удовлетворительном состоянии.

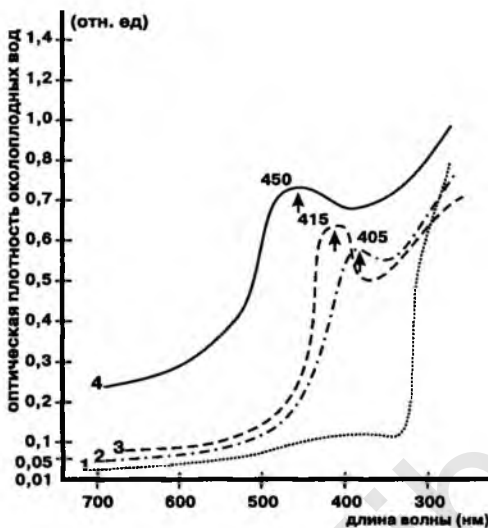


Рис. 16. Спектрофотометрические кривые: 1 — в норме; 2 — при примеси крови к водам; 3 — при примеси мекония; 4 — при тяжелой форме гемолитической болезни.

У 11 женщин данной группы спектрофотометрическое исследование околоплодных вод не отражало степени тяжести заболевания у плода: у 4 — она была переоценена, в том числе у 2 — в связи с примесью мекония к водам. В этих случаях наблюдалось значительное повышение оптической плотности вод. Общий вид кривой менялся (рис. 16). Отмечалось наибольшее поглощение лучей с длиной волны 405 нм, соответствующее спектру поглощения мекония, и лучей с длиной волны 415 нм, соответствующее спектру поглощения оксигемоглобина. За счет наложения спектров поглощения крови и мекония повышались показатели оптической плотности билирубина и для волны 450 нм, соответствующей максимальному поглощению лучей билирубином. Таким образом, примесь крови или мекония к околоплодным водам извращает результат спектрофотометрического исследования и не позволяет точно судить о степени тяжести заболевания у плода.

**Беременная Б.**, 33 лет, группа крови 0(I), муж 0(I) группа крови, резус-положительная. Женщина болела ревматизмом, имеется недостаточность митрального клапана без нарушения кровообращения. Последняя беременность пятая. Первая беременность закончилась искусственным абортom,



вторая — своевременными родами без осложнений, ребенок здоров; третья и четвертая беременности — искусственные аборты. Данная беременность протекала без осложнений, дважды госпитализирована в стационар в связи с пороком сердца. Антитела впервые появились в 20 нед, титр 1:16 — 1:8 — 1:8. Амниоцентез произведен на 39-й неделе беременности, околоплодные воды с примесью мекония, ОПБ — 0,415. После создания гормонального фона развилась родовая деятельность. Роды протекали без осложнений. Родился живой мальчик, масса тела 3500 г, рост 51 см, в состоянии легкой асфиксии, группа крови 0(1), резус-положительная, гемоглобин крови пуповины 173 г/л (17,3 г %), билирубин — 68,4 мкмоль/л (4,0 мг %). У ребенка диагностирована легкая форма гемолитической болезни. Произведено заменное переливание крови. Ребенок выписан в удовлетворительном состоянии.

У 7 женщин на основании данных спектрофотометрического исследования вод была недооценена степень тяжести гемолитической болезни плода в связи с умеренно выраженным многоводием. Следует подчеркнуть, что у 10 из 11 женщин, у которых спектрофотометрическое исследование не отражало степени тяжести гемолитической болезни, было произведено только по одному амниоцентезу при сроке беременности 37—39 нед. Это лишний раз подчеркивает необходимость динамического исследования околоплодных вод для улучшения показателей антенатальной диагностики.

В группе женщин, родивших детей с гемолитической болезнью средней тяжести, было произведено 154 спектрофотометрических исследования околоплодных вод: при сроке беременности 30–34 нед — 48 исследований, 35–37 нед — 96, 38–40 нед — 10 исследований. У 34 женщин амниоцентез произведен однократно, у 37 — два раза, у 10 — три раза, у 4 — четыре раза. Интервал между амниоцентезами составил 5–10 дней. При сроке беременности 30–34 нед величина ОПБ вод у женщин данной группы колебалась от 0,460 до 0,142 отн. ед., в 35–37 нед беременности — от 0,510 до 0,138 отн. ед. В 38–39 нед она была равна 0,450–0,136 отн. ед. Показатели билирубинового пика в данной группе были значительно выше, чем в двух предыдущих (для всех сроков беременности разница статистически достоверна).

Из 85 женщин у 82 на основании данных спектрофотометрического исследования была правильно определена степень тяжести гемолитической болезни плода и произведено досрочное родоразрешение.

**Беременная А.**, 26 лет, группа крови А(II), муж — В (III) группа крови, резус-положительная, фенотип CcDde. Последняя беременность — четвертая. Первая беременность — своевременные роды, у ребенка спинномозговая грыжа, умер в родах. Гипотоническое кровотечение в родах, переливание крови без учета резус-принадлежности. Вторая беременность — своевременные роды, у ребенка тяжелая форма гемолитической болезни, умер через несколько минут после рождения. Кровотечение в родах, ручное обследование полости матки и переливание крови без учета резус-принадлежности. На переливание крови тяжелая реакция — озноб, высокая температура тела, гематурия. Третья беременность — искусственный аборт. Данная беременность протекала без осложнений. Проведено 4 курса десенсибилизирующей терапии. Первый амниоцентез в 34 нед беременности, ОПБ — 0,142. Данных за гемолитическую болезнь нет. Повторный амниоцентез в 36 нед, ОПБ — 0,350. У плода имеется гемолитическая болезнь средней тяжести. Проведено родовозбуждение. Родилась живая девочка, масса тела 4100 г, рост 53 см. Оценка состояния по шкале Апгар 8 баллов, группа крови В (III), резус-положительная, гемоглобин в крови пуповины 150 г/л (15,0 г %), билирубин 123,9 мкмоль/л (7,25 мг %). У ребенка гемолитическая болезнь средней тяжести. Произведено два заменных переливания крови. Ребенок выписан в удовлетворительном состоянии.

У 3 (3,5%) женщин в связи с многоводием тяжесть гемолитической болезни была недооценена.

**Беременная С.**, 31 год, группа крови В(III), муж-В(III) группа крови, резус-положительная. Последняя беременность восьмая. Первые три беременности закончились своевременными родами — дети живы. В 1965 г. в связи с анемией произведено переливание крови без учета резус-принадлежности, была тяжелая посттрансфузионная реакция с потерей сознания. Следующие четыре беременности закончились гибелью плодов от гемолитической болезни.

Данная беременность протекала без осложнений. В 33 нед отмечено умеренное многоводие. Титр антител — 1:128 — 1:256 — 1:128. Получила 4 курса десенсибилизирующей терапии. Первый амниоцентез в 35 нед, ОПБ—0,168, повторный в 37 нед, ОПБ— 0,136, третий — в 39 нед,

ОПБ — 0,162. Предполагалось рождение ребенка с легкой формой гемолитической болезни. Родоразрешение в 40 нед беременности. Роды протекали без осложнений. Родилась живая девочка, масса тела 3450 г, рост 49 см, оценка по шкале Апгар 9 баллов, группа крови В(III), резус-положительная, гемоглобин в крови пуповины 150 г/л (15 г%), билирубин 99,1 мкмоль/л (5,8 мг%). У ребенка гемолитическая болезнь средней тяжести. Произведено два заменных переливания крови. Ребенок выписан в удовлетворительном состоянии.

В группе женщин, родивших детей с тяжелой формой гемолитической болезни, произведено 57 спектрофотометрических исследований амниотической жидкости, из них до 34 нед беременности — 30, после 35 нед — 27. У 6 сделан один амниоцентез, у 12 — два, у 9 — три. Интервал между амниоцентезами — 4–6 дней. Величина билирубинового пика до 34 нед беременности была равна 1,300–0,270 отн. ед. В 35–37 нед беременности величины ОПБ в водах варьировали от 2,000 до 0,512 отн. ед., что намного превышало величину ОПБ в водах у женщин первых групп (разница статистически достоверна). Высокий исходный и увеличивающийся в динамике билирубиновый пик свидетельствовал о тяжелой форме гемолитической болезни у плода.

**Беременная Ф.**, 29 лет, группа крови 0(I), муж — А(II) группа крови, резус-положительная. Фенотип ССDee. Данная беременность шестая. Первая беременность — своевременные роды, ребенок жив. Вторая — своевременные роды, плод погиб в родах от отечной формы гемолитической болезни. Третья беременность — преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты — кесарево сечение; ребенок мертвый, отечная форма гемолитической болезни. Четвертая беременность — искусственный аборт. Пятая — внематочная беременность.

Данная беременность протекала без осложнений. Проведен 1 курс десенсибилизирующей терапии, в течение месяца получала преднизолон по 5 мг. Титр антител — 1:4096 — 1:2048. В 33–34 нед беременности — первый амниоцентез, ОПБ — 0,639, что свидетельствовало о тяжелой форме гемолитической болезни у плода. В 34 нед начато родовозбуждение, но в связи с угрозой разрыва матки по рубцу роды закончены операцией кесарева сечения. Родился живой мальчик, масса тела 2600 г, рост 45 см, группа крови 0(I), резус-положительная. Гемоглобин в

крови пуловины 80 г/л (8 г%), билирубин 153,9 мкмоль/л (9,0 мг%), имеется асцит, гепатоспленомегалия. У ребенка тяжелая форма гемолитической болезни. Проведено 3 заменных переливания крови. Ребенок переведен для долечивания в клинику детских болезней.

При показателях оптической плотности билирубина в околоплодных водах выше 0,700 отн. ед., как правило, имели место внутриутробная гибель плода, либо смерть в родах от универсального отека. При величине ОПБ выше 0,700 отн. ед. сохранение беременности нецелесообразно в интересах здоровья матери, так как спасти ребенка не представляется возможным даже при внутриутробном переливании крови. Показатели спектрофотометрического исследования околоплодных вод у 26 женщин из 27 свидетельствовали о наличии у плода тяжелой формы заболевания. У одной женщины, по данным спектрофотометрического анализа, определить степень тяжести заболевания не удалось в связи с выраженным многоводием.

Наши данные свидетельствуют о том, что спектрофотометрическое исследование околоплодных вод является одним из ведущих методов, позволяющих в 93,3% случаев в антенатальном периоде поставить правильный диагноз гемолитической болезни, определить степень ее тяжести и прогноз для плода. Точность определения степени тяжести гемолитической болезни на основании спектрофотометрического анализа повышается, если исследование проводится повторно. Точность диагностики гемолитической болезни плода на основании спектрофотометрического исследования представлена в табл. 16.

Таблица 16

### Точность диагностики гемолитической болезни плода на основании спектрофотометрического исследования

Группы наблюдения	Число наблюдений	Аntenatalно диагноз установлен		Характер диагностической ошибки	
		верно	ошибочно	Недооценка степени тяжести гемолитической болезни	Переоценка степени тяжести гемолитической болезни
I группа (здоровые)	93	88	5	-	5
Гемолитическая болезнь					
II группа (легкая форма)	92	81	11	7	4
III группа (форма средней тяжести)	85	82	3	3	-
IV группа (тяжелая форма)	27	26	1	1	-
ВСЕГО	297	277; 93,2%	20; 6,8%	11; 3,6%	9; 3,2%

Из представленной таблицы видно, что наибольшее количество ошибок имело место при определении диагноза легкой и средней степени тяжести гемолитической болезни. Необходимо подчеркнуть, однако, что ни один случай неверного предсказания не привел к неблагоприятному исходу для плода.

На основании спектрофотометрического исследования околоплодных вод точность антенатального предсказания тяжести гемолитической болезни составляет 80% (Pallier и соавт., 1967) — 91 % (Bevis, 1969). При учете только данных спектрофотометрического исследования могут иметь место как переоценка, так и недооценка степени тяжести заболевания плода. Эти ошибки могут быть, на наш взгляд, обусловлены рядом причин. К ним относятся технические погрешности при выполнении исследования; примесь к околоплодным водам мекония или крови; значительные колебания объема амниотической жидкости в норме; случайное получение при амниоцентезе других жидкостей (моча матери, асцитическая жидкость из брюшной полости плода при универсальном отеке).

Учитывая некоторые трудности в интерпретации спектрофотометрических данных исследования околоплодных вод, ряд авторов (Филина Е.И. и соавт., 1971; Reil и соавт., 1969) используют для диагностики химическое определение билирубина, считая его более специфичным. Black и соавт. (1969) применили метод определения билирубина после экстракции его хлороформом. Lewi (1967) предлагает определять концентрацию билирубина в околоплодных водах путем добавления их к жидкости, заведомо содержащей билирубин. Количество билирубина определяют до и после добавления околоплодных вод. Получаемая разница отражает содержание билирубина в околоплодных водах. Метод ценен при наличии в водах крови и мекония. Автор приходит к выводу о том, что спектрофотометрический и химический методы не следует противопоставлять друг другу, нужно использовать их параллельно.

В настоящее время отдается предпочтение спектрофотометрическому методу исследования околоплодных вод.

### **Содержание общего белка в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни плода**

Трудности интерпретации изменения уровня билирубина заставляют искать дополнительные тесты для улучшения антенатальной диагностики. По выражению Misenhimer (1964), при тяжелой форме гемолитической болезни плод находится в со-

стоянии «метаболического инсульта». Несомненно, что изменение его состояния должно отразиться на основных биохимических компонентах околоплодных вод.

Одним из тестов является определение общего белка в околоплодных водах. По данным А. М. Созанского (1961), количество белка в околоплодных водах увеличивается независимо от его содержания в сыворотке крови матери и в конце беременности составляет 3,10 г/л (0,310 г%). Белки в воды поступают от плода, и по мере его созревания содержание их уменьшается (Schulman, 1970).

Вопрос о состоянии белкового обмена у матери и плода при изоиммунизации до настоящего времени освещен недостаточно. По мнению Н. А. Ведерман (1965), концентрация белка в околоплодных водах при резус-конфликте значительно снижена. По данным Queenan и соавт. (1970, 1972), отмечается значительное увеличение содержания белка при тяжелой форме заболевания. Аналогичные данные получены Jonasson (1972). Авторы считают, что определение содержания белка очень важно для установления тяжести гемолитической болезни у плода и может быть использовано как прогностический тест. В связи с этим интересно отметить исследования А. И. Егоровой и Н. М. Аксеновой (1972) о нарушении белково-синтезирующей функции печени у ребенка с гемолитической болезнью. Очевидно, что исследование белка в водах может служить дополнительным тестом для оценки функции печени плода.

Определение общего белка в околоплодных водах мы производили по методу Lowry. Он представляет собой комбинацию биуретового метода, основанного на образовании окрашенного комплекса пептидов, связанных с  $\text{Cu}(\text{NH}-\text{CO})$  с методом Фолина, при котором реактив дает с ароматическими аминокислотами синее окрашивание.

*Используемые реактивы: реактив А — 2% раствор углекислого натрия в 0,1 N растворе NaOH. Реактив В — 0,5% раствор кристаллического сульфата меди в 1% растворе виннокислого натрия. Реактив С - 15 мл реактива А + 0,3 мл реактива В (готовится перед анализом). Реактив Фолина — 100 г вольфрамата натрия + 25 г молибдата натрия + 50 мл 85% фосфорной кислоты + 700 мл дистиллированной воды. Смесь кипятят в течение 10 ч, затем добавляют 150 г сульфата лития, 5–10 капель бромной воды, 3 капли 0,1% раствора фенолфталеина. Ход определения представлен в табл. 17.*

### Определение концентрации общего белка по методу Lowry (1951)

Разведенная амниотическая жидкость	Дистиллированная вода, мл	Реактив С, мл	Экспозиция, мин	Реактив Фолина, мл	Экспозиция, мин
0,1 мл	0,3	2,0	0	0,2	30
0,2 мл	0,2	2,0	10	0,2	30
контроль	0,4	2,0	10	0,2	30

Исходное разведение: к 1 мл околоплодных вод после центрифугирования добавляют 0,9 мл дистиллированной воды (разведение в 10 раз). Из разведенной амниотической жидкости берут 0,1 мл и добавляют 0,3 мл дистиллированной воды (разведение в 4 раза) в две пробирки. В две другие пробирки берут по 0,2 мл разведенной амниотической жидкости и добавляют по 0,2 мл дистиллированной воды. Контроль — 0,4 мл дистиллированной воды. В каждую пробирку добавляют по 2 мл реактива С, смешивают, выдерживают 10 мин при комнатной температуре. Затем во все пробирки добавляют по 0,2 мл реактива Фолина. Через 30 мин пребывания пробирок при комнатной температуре измеряют интенсивность окраски растворов по отношению к дистиллированной воде на аппарате ФЭК-56, светофильтр 9 (длина волны 750 нм) в кюветках с толщиной слоя 0,5 см. Количество общего белка вычисляют по калибровочной кривой, построенной по раствору белка известной концентрации, на оси абсцисс откладывают показатели, полученные на аппарате ФЭК, на оси ординат — концентрацию белка в мкг. В расчет принимают показатели ФЭК в пределах от 0,095 до 0,17. Пересчет производят на 1 мл амниотической жидкости.

Пример расчета: при фотометрировании окрашенных растворов с содержанием 0,1 мл разведенной амниотической жидкости показатели ФЭК соответствовали 0,150 и 0,152; контроль — 0,026. Из среднего показателя испытуемой пробы (0,151) вычитают контроль (0,026), получают показатель, которому на калибровочной кривой соответствует концентрация белка 38,5 мкг. В 0,1 мл околоплодных вод его содержится в 10 раз больше, т. е.  $38,5 \text{ мкг} \times 10$ , в 1 мл —  $38,5 \times 10 \times 10 = 3850 \text{ мкг}$ , или 0,385 г% (или 3,85 г/л).

Определение содержания общего белка в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни представляет большой интерес, так как при физиологически протекающей беременности содержание общего белка в околоплодных водах тесно связано с содержанием билирубина и подобно изменению

его уровня снижается по мере прогрессирования беременности. Подобные данные получены нами у женщин, родивших здоровых детей (табл. 18).

Таблица 18

**Содержание общего белка в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни**

Группы наблюдения	Число наблюдений	Содержание общего белка в водах (г/л)		
		30-34 нед	35-37 нед	38-40 нед
I группа (здоровые)	93	2,58±0,21 (0,258±0,021 г%)	2,48±0,13 (0,248±0,013 г%)	2,31±,13 (0,231±0,013 г%)
Гемолитическая болезнь				
II группа (легкая форма)	92	3,01±0,21 (0,301±0,021 г%)	2,49±0,12 (0,249±0,012 г%)	2,42±0,16 (0,242±0,016 г%)
III группа (форма средней тяжести)	85	3,08±0,21 (0,308±0,021 г%)	3,17±0,18 (0,317±0,012 г%)	3,67±0,23 (0,367±0,023 г%)
IV группа (тяжелая форма)	27	7,69±1,32 (0,769±0,132 г%)	7,70±1,40 (0,770±0,140 г%)	-

В группе женщин, родивших здоровых детей, содержание общего белка в околоплодных водах колебалось в 30–34 нед беременности от 4,15 г/л до 1,63 г/л (0,415–0,163 г%). В 35–37 нед беременности оно варьировало от 4,60 до 1,06 г/л (0,460–0,106 г%). В 38–40 нед беременности содержание общего белка в водах составило 4,50–1,06 г/л (0,450–0,106 г%).

На основании наших данных мы не смогли выявить зависимости между содержанием белка в околоплодных водах и массой плода. Однако почти в половине исследований в этой группе меньшее содержание белка в водах перед родами соответствовало большей массе плода при рождении. Интересно отметить, что при повышении величины ОПБ при резус-отрицательной крови у плода содержание общего белка в водах находилось в пределах величин, характерных для здоровых детей.

У женщин, родивших детей с легкой формой гемолитической болезни, в 30–34 нед беременности содержание общего белка в околоплодных водах колебалось от 5,75 до 1,40 г/л (0,575–0,140 г%), в 35–37 нед — от 5,0 до 1,6 г/л (0,5–0,16 г%), в 38–40 нед концентрация белка в околоплодных водах не отличалась от показателей в первой группе и колебалась от 4,50 до 1,20 г/л (0,450–0,120 г%). Примесь мекония и крови не оказывала влияния на содержание белка.



При гемолитической болезни средней тяжести содержание общего белка в водах на сроке 30–34 нед беременности колебалось от 5,35 до 1,93 г/л (0,535–0,193 г%), что превышало его уровень при рождении здоровых детей (разница статистически достоверна.) В 35–37 нед беременности отмечено увеличение содержания белка по сравнению с предыдущими группами; оно колебалось от 5,00 до 1,6 г/л (0,500–0,160 г%). В 38–40 нед беременности концентрация белка в водах равнялась 5,80–2,75 г/л, (0,580–0,275 г%).

У женщин, родивших детей с тяжелой формой гемолитической болезни, во все сроки беременности содержание белка в водах было чрезвычайно высоким. Так, на сроке 30–34 нед беременности оно колебалось от 16,10 до 3,88 г/л, (1,61–0,388 г%), 35–37 нед — от 22,5 до 3,80 г/л (2,250–0,380 г%), равнясь в среднем 7,70–1,47 г/л (0,770–0,147 г%), что более чем в 2,9 раз превышало содержание белка в водах при рождении здоровых детей. Высокий уровень белка в околоплодных водах, как правило, отмечался при отечной форме гемолитической болезни плода. При содержании белка в водах, превышавшем 8,00 г/л (0,800 г%), не выжил ни один ребенок. Такие же данные приводит Cherry и соавт. (1970).

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что при отечной форме у плода имеется выраженная гипопротейнемия, способствующая развитию генерализованного отека. По мнению Gordon (1971), гипопротейнемия связана, с одной стороны, с нарушением способности печени синтезировать белок, с другой — с потерей его плодом. Исходя из этого предположения, высокий уровень белка в водах при отечной форме заболевания, по-видимому, является следствием потери его плодом и свидетельствует о наступлении у него необратимых изменений в печени. Содержание белка в водах в какой-то степени отражает и функциональную способность печени плода. Проведенные исследования указывают на тесную связь между содержанием белка в околоплодных водах и данными спектрофотометрического исследования вод, особенно при тяжелой форме гемолитической болезни (рис. 17).

По нашим данным, определение белка в околоплодных водах является не только важным диагностическим, но и прогностическим тестом для оценки степени тяжести гемолитической болезни у плода. Тем не менее, мы должны отметить, что определение содержания белка в водах как диагностический тест намного уступает спектрофотометрическому методу, так как индивидуальные колебания содержания белка в околоплодных водах довольно велики. Более четкие результаты получены только при тяжелой форме гемоли-

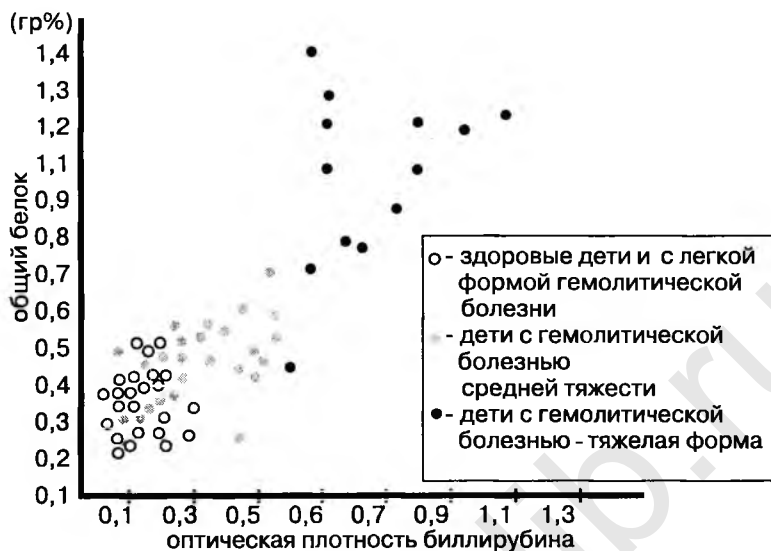


Рис. 17. Зависимость между концентрацией общего белка и оптической плотностью билирубина.

тической болезни плода. Поэтому определение содержания белка в водах является тестом, дополняющим спектрофотометрический метод в оценке степени тяжести гемолитической болезни.

По данным Cherry S. и соавт. (1970), одним из методов оценки анемии при ГБП является расчет отношения билирубин/протеин. По мнению исследователей, в III триместре беременности несколько увеличивается объем околоплодных вод, и концентрация билирубина в водах может быть неправильно интерпретирована. Чтобы избежать ошибок, целесообразно определить оптическую плотность билирубина на волнах 450 нм и 600 нм и разницу между этими величинами делить на содержание белка в околоплодных водах:

$$\text{ОПБ} = \frac{\text{ОП } 450 \text{ нм} - 600 \text{ нм}}{\text{Общее содержание белка в г/100 мл}}$$

При отношении ниже 0,35 у плода наблюдается легкая анемия, при увеличении отношения от 0,65 до 0,55 — у плода анемия средней тяжести, при соотношении более 0,55 — тяжелая анемия у плода.

Авторами получена четкая корреляция между уровнем билирубин/протеин отношение и уровнем анемии у плода (рис. 18).

Примесь крови и мекония ведет к неправильной интерпретации данных. Для исследования следует брать только чистые околоплодные воды.

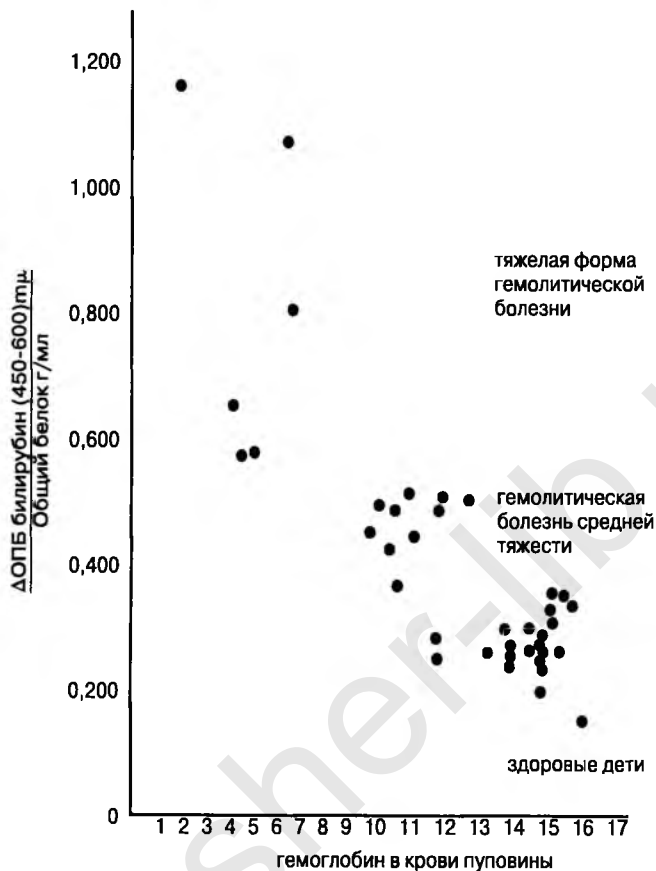


Рис. 18. Тяжесть гемолитической болезни новорожденного как отражение отношения гемоглобина в пуповинной крови и отношения оптической плотности билирубина и содержания белка в околоплодных водах (Cherry S.).

При исследовании околоплодных вод в динамике отношение между этими компонентами околоплодных вод изменяется однонаправленно и является более точным прогностическим тестом, чем определение только билирубина.

#### Изменение содержания глюкозы в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни плода

Несомненный интерес представляет изучение углеводного обмена околоплодных вод, так как углеводы являются наиболее важным

источником энергии для плода. По данным Shreiner, Schmid (1969), при неосложненной беременности концентрация глюкозы в водах снижается с 537 г/л (53,7 мг %) в 14–16 нед до 222 г/л (22,2 мг%) в 35–40 нед. По их мнению, неспособность печени плода сохранять гликоген и регулировать концентрацию сахара в крови до 12–15 нед беременности приводит к увеличению его содержания в околоплодных водах. Как только печень плода начинает активно накапливать гликоген, уровень глюкозы в околоплодных водах снижается.

Таким образом, определение ее концентрации в околоплодных водах представляет большой интерес, так как в какой-то степени может отражать функциональное состояние печени плода, что особенно важно при реузс-конфликте.

Данные об изменении содержания глюкозы в водах при иммунизации немногочисленны и противоречивы. По данным Palliez и Biserte (1970), четкое различие между концентрацией глюкозы в норме и при гемолитической болезни отсутствует. В то же время Kittrich (1968) обнаружил, что изменение обмена у плода с гемолитической болезнью отражается на содержании глюкозы в околоплодных водах и результаты исследования должны приниматься во внимание в комплексе с другими биохимическими показателями.

Для определения глюкозы в околоплодных водах мы применили набор реактивов БИО-Тест глюкоза, Лахема (ЧССР). Набор содержит: стабилизированный раствор 0-толуидина в уксусной кислоте, трихлоруксусную кислоту, эталонный раствор глюкозы.

*Принцип метода основан на образовании глюкозой с 0-толуидином в кислой среде при нагревании комплекса зелено-синего цвета. Этим методом определяют так называемую истинную глюкозу.*

*Ход определения: в пробирку для центрифугирования наливают 1 мл амниотической жидкости и добавляют 0,25 мл 40% раствора трихлоруксусной кислоты. Содержимое центрифугируют в течение 20 мин. В две пробирки наливают по 0,5 мл прозрачного супернатанта и добавляют по 4,5 мл 0-толуидинового раствора. Пробирку выдерживают на кипящей бане точно 8 мин. Затем охлаждают до комнатной температуры и фотометрируют по отношению к дистиллированной воде при длине волны 630 нм (светофильтр 9), применяя кюветы с толщиной слоя в 1 см и объемом 5 мл. Раствор для контроля приготавливают из 0,5 мл 40% раствора трихлоруксусной кислоты и 4,5 мл 0-толуидина. Смесь не центрифугируют, а обрабатывают так же, как раствор испытуемой пробы. Эталонный*

раствор глюкозы готовят следующим образом: к 1 мл эталонного раствора глюкозы (200 мг/100 мл) добавляют 4,0 мл дистиллированной воды. Расчет глюкозы производят по формуле:

$$X = \frac{E_{\text{анн}}}{E_{\text{эт}}} \times 20,$$

где  $E_{\text{анн}}$  — экстинкция испытуемой пробы,  
 $E_{\text{эт}}$  — экстинкция разбавленного эталонного раствора глюкозы,  
 20 — содержание глюкозы в эталонном растворе,  
 $X$  — концентрация глюкозы в мг %.

*Пример расчета: при фотометрировании пробы по отношению к дистиллированной воде была найдена экстинкция 0,320 и 0,318 (средняя 0,319). При фотометрировании параллельно анализируемому эталонному раствору получена экстинкция 0,265 и 0,266 (средняя 0,265).*

$$X = \frac{0,320 \times 20}{0,265} = 24,07 \text{ мг \% глюкозы, или } 1,20 \text{ ммоль/л}$$

Исследование содержания глюкозы при различных формах гемолитической болезни проведено нами при сроке беременности от 35 до 37 нед, т. е. в период, когда чаще всего решается вопрос о времени родоразрешения при резус-конфликте (табл. 19).

При легкой и средней тяжести гемолитической болезни у плода содержание глюкозы в околоплодных водах существенно не отличается от такового при рождении здоровых детей. У женщин, родивших детей с тяжелой формой гемолитической болезни, концентрация глюкозы в околоплодных водах заметно выше, чем в других группах ( $P < 0,001$ ).

Таблица 19

### Содержание глюкозы в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни плода

Группы наблюдения	Число наблюдений	Содержание глюкозы в околоплодных водах в 35-37 нед беременности, ммоль/л
I группа (здоровые)	40	1,225±0,04 (24,5±0,8 мг%)
Гемолитическая болезнь		
II группа (легкая форма)	38	1,312±0,05 (26,24±1,06 мг%)
III группа (форма средней тяжести)	39	1,362±0,09 (27,25±1,8 мг%)
IV группа (тяжелая форма)	14	1,655±0,11 (33,1±2,3 мг%)

Таким образом, при легкой и средней тяжести гемолитической болезни плода содержание глюкозы в околоплодных водах отража-

ет достаточную функциональную способность печени превращать глюкозу в гликоген. При тяжелой форме заболевания увеличение содержания глюкозы в околоплодных водах свидетельствует о снижении гликогенообразовательной функции печени и является дополнительным подтверждением степени тяжести гемолитической болезни. Исследование содержания глюкозы в околоплодных водах является дополнительным тестом для антенатальной диагностики гемолитической болезни плода.

### **Концентрация креатинина в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни плода**

При решении вопроса о сроке преждевременного родоразрешения несомненный интерес представляет установление степени зрелости плода. Одним из компонентов околоплодных вод, определение которого может помочь решить эту задачу, является креатинин. С прогрессированием беременности происходит увеличение его концентрации (Giraud, 1970; Delecour и соавт., 1970; Issaac и соавт. 1973, и др.).

По мнению Schulman (1969), повышение содержания креатинина в водах связано либо с поступлением его из мочи плода, либо за счет уменьшения объема амниотической жидкости. По мере прогрессирования беременности увеличиваются клубочки почек плода, улучшается функция канальцев. Креатинин, фильтруемый в клубочках, не всасывается в канальцах и обнаруживается в околоплодных водах в возрастающем количестве.

Повышение его содержания с увеличением срока беременности связано, по данным Pitkin и соавт. (1967), с увеличивающимся диурезом плода, а по мнению Gard (1966), со сравнительным уменьшением объема амниотической жидкости.

Каким образом изменяется концентрация креатинина в водах при различных формах гемолитической болезни и может ли этот показатель отражать степень зрелости плода с гемолитической болезнью — неизвестно. Имеются единичные работы, данные которых противоречивы. Donnal и соавт. (1971) показали, что содержание креатинина при изоиммунизации мало отличается от такового при неосложненной беременности, а с увеличением сроков беременности и его уровень повышается. В то же время Hinkley и соавт. (1973) отметили, что при резус-сенсбилизации концентрация креатинина ниже, чем при несложненной беременности. Снижение его уровня коррелировало с ухудшением состояния плода. Авторы считают, что содержание креатинина

в амниотической жидкости можно использовать в качестве показателя состояния плода при резус-конфликте.

Креатинин в околоплодных водах мы определяли колориметрическим методом, основанным на образовании цветной реакции при взаимодействии креатинина с пикриновой кислотой. Используемые реактивы: 10% раствор трихлоруксусной кислоты, 1,2% раствор пикриновой кислоты, 3–10% раствор NaOH.

Ход определения: к 1 мл амниотической жидкости после центрифугирования добавляют 1 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты, тщательно перемешивают и центрифугируют 10 мин. Для контроля берут 1 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты, в опыт и в контроль добавляют по 0,2 мл 10% раствора NaOH, 0,2 мл пикриновой кислоты, вновь перемешивают. Оставляют на 10 мин при комнатной температуре, затем доливают в контроль 3,6 мл дистиллированной воды, в опыт — 4,1 мл. Измерение интенсивности окраски растворов производят на аппарате ФЭК-56, при 4-м светофильтре и толщине слоя в 1 см. Концентрацию креатинина в мг%, соответствующую показателям ФЭК, определяют по калибровочной (табл. 20).

Таблица 20

Показатели ФЭК	Креатинин в мг %	Показатели ФЭК	Креатинин в мг%
0,011	0,25	0,060	1,25
0,025	0,5	0,070	1,50
0,035	0,557	0,085	1,55
0,050	1,0	0,100	2,00 и т.д.

Определение содержания креатинина в околоплодных водах проведено нами у 50 женщин при неосложненной беременности в сроки 30–40 нед. Всего произведено 105 анализов. Результаты исследования показали, что с прогрессированием беременности содержание креатинина в водах увеличивается. Средняя концентрация креатинина, равная 0,16 ммоль/л (2,0 мг%), соответствовала, по нашим наблюдениям, сроку беременности 36 нед. Из 105 исследований только в 4 (3,8%) его уровень превышал 2,02 мг% (рис. 19). Концентрация креатинина, определяемая в конце беременности и равная 0,20 ммоль/л (2,5 мг%), соответствовала средней величине массы тела ребенка, равной 3300 г. Если использовать как критерий зрелости массу тела ребенка 2500 г, то в качестве нижней границы показателя достаточной зрелости плода, определяемой по концентрации креатинина в околоплодных водах, следует принять

величину 0,14 ммоль/л (1,8 мг%). В наших наблюдениях только у 5 (4,7%) женщин при содержании креатинина ниже 0,14 ммоль/л родились дети с массой тела более 2500 г (рис. 20).

Таким образом, наши данные подтверждают положение о том, что при неосложненной беременности содержание креатинина в околоплодных водах является достаточно достоверным показателем зрелости плода.

При сравнительном изучении содержания креатинина в водах у резус-сенситизированных женщин при различных формах гемолитической болезни плода получены данные, представленные в таблице 21.

Таблица 21

**Содержание креатинина в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни у плода (ммоль/л)**

Группы наблюдения	Число наблюдений	Содержание креатинина в околоплодных водах при различных сроках беременности		
		30-34 нед	35-37 нед	38-40 нед
Неосложненная беременность	105	0,151±0,01 (1,89±0,16 мг%)	0,180±0,01 (2,26±0,08 мг%)	0,200±0,005 (2,51±0,07 мг%)
I группа (здоровые)	80	0,152±0,01 (1,90±0,16 мг%)	0,180±0,04 (2,25±0,07 мг%)	0,201±0,005 (2,52±0,07 мг%)
Гемолитическая болезнь плода				
II группа (легкая форма)	120	0,144±0,01 (1,8±0,15 мг%)	0,180±0,04 (2,25±0,07 мг%)	0,204±0,007 (2,55±0,09 мг%)
III группа (форма средней тяжести)	126	0,145±0,009 (1,82±0,12 мг%)	0,174±0,08 (2,18±0,1 мг%)	0,204±0,09 (2,55±0,11 мг%)
IV группа (тяжелая форма)	50	0,119±0,008 (1,49±0,10 мг%)	0,125±0,01 (1,57±0,15 мг%)	—

Представленные данные показывают, что у женщин, родивших здоровых детей (I группа), содержание креатинина в околоплодных водах не отличается от соответствующих показателей при неосложненной беременности при всех указанных сроках проводимого анализа. В 3 исследованиях из 80 уровень креатинина был низким при достаточно большой массе плода; таким образом, в данной группе процент диагностических ошибок составил 3,7.

Содержание креатинина при рождении детей с ГБ легкой формы также было сходно. Однако у 6 из 92 женщин содержание креатинина в водах не соответствовало зрелости плода (процент ошибок — 6,5).

При гемолитической болезни средней тяжести содержание креатинина в околоплодных водах также мало отличалось от соответствующих показателей предыдущих групп. Однако процент диагностических ошибок был выше (8,2).



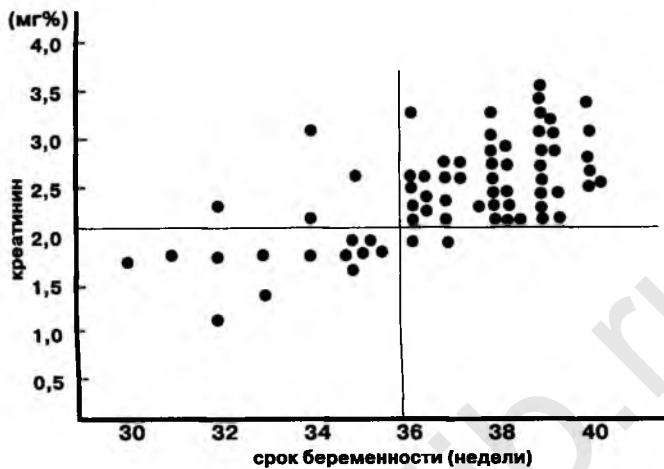


Рис. 19. Концентрация креатинина в околоплодных водах в зависимости от срока беременности.

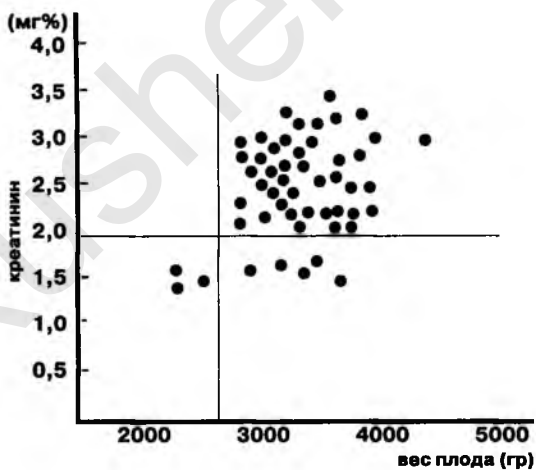


Рис.20. Концентрация креатинина в околоплодных водах в зависимости от массы плода.

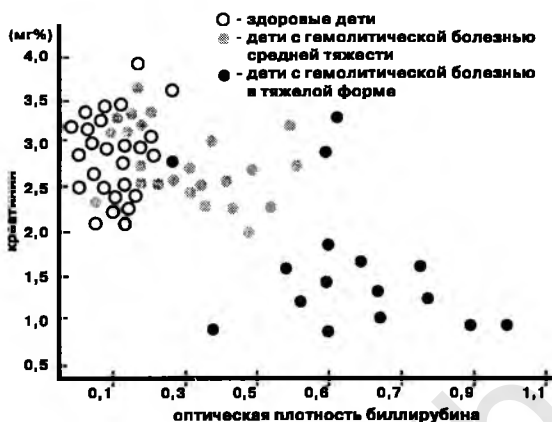


Рис. 21. Зависимость между концентрацией креатинина и оптической плотностью билирубина в околоплодных водах при различных формах гемолитической болезни.

Таким образом, по мере нарастания степени тяжести гемолитической болезни у плода процент ошибок возрастает. Это еще более заметно по данным исследования, проведенного при рождении детей с тяжелой формой гемолитической болезни. Было выявлено, что содержание креатинина в околоплодных водах резко снижается до цифр, не соответствующих ни массе тела плода, ни сроку беременности. Смертность детей была наибольшей в тех случаях, когда при сроке беременности 35–37 нед уровень креатинина в водах находился в пределах 0,04–0,08 ммоль/л (0,5–1,0 мг%).

Низкая концентрация креатинина в околоплодных водах при тяжелой форме гемолитической болезни, особенно при универсальном отеке, обусловлена, по-видимому, выраженным нарушением азотистого обмена, функциональной недостаточностью печени и затрудненным выведением креатинина почками плода из-за их отека. Таким образом, при тяжелой форме гемолитической болезни плода содержание креатинина в околоплодных водах не отражает степени зрелости плода, но является еще одним показателем тяжести его заболевания. Нами выявлена тесная корреляция между оптической плотностью билирубина в околоплодных водах и уровнем креатинина (рис. 21).

В заключение следует подчеркнуть, что ведущим методом в антенатальной диагностике гемолитической болезни плода является спектрофотометрическое определение оптической плотности

билирубина. Проведение одного этого исследования позволяет в 93,3% случаев не только установить наличие гемолитической болезни у плода, но и определить степень ее тяжести.

Однократное исследование околоплодных вод, особенно в поздние сроки беременности, не всегда позволяет поставить правильный диагноз, поэтому исследование целесообразно начинать с 24–26 нед беременности и повторять по мере необходимости с учетом предшествующих данных. Клинические наблюдения показывают, что при «нормальной» или 1+ спектрофотограмме досрочное родоразрешение нецелесообразно. Оптическая плотность билирубина на волне 450 нм, равная 0,35 отн. ед., или 2+ спектрофотограмма является показанием к досрочному родоразрешению после 35 нед беременности. При спектрофотограмме, оцениваемой тремя или четырьмя плюсами (3+, 4+), необходимо немедленное родоразрешение во избежание внутриутробной гибели плода, если позволяет срок беременности, либо нужно проводить внутриутробное переливание крови. Примесь мекония и крови в амниотической жидкости, а также резкие колебания объема околоплодных вод (многоводие, маловодие), большое количество хлопьев сыровидной смазки затрудняют спектрофотометрический анализ и нередко приводят к неправильной интерпретации полученных данных.

В большинстве случаев ошибки спектрофотометрического анализа могут быть скорректированы другими биохимическими исследованиями, а именно: определением содержания общего белка, глюкозы, креатинина в околоплодных водах. В отдельности каждый из этих показателей не может дать четкого представления о степени тяжести гемолитической болезни у плода, но учет их всех вместе существенно дополняет спектрофотометрический метод исследования и позволяет получить достаточно полную информацию о состоянии плода.

### **КИСЛОТНО-ОСНОВНОЕ СОСТОЯНИЕ ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМАХ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЛОДА**

В работах Л. С. Персианинова и соавт. (1967), Freda (1966), Gwojdznski (1973) и др. показано, что у плодов с гемолитической болезнью отмечаются выраженная гипоксия и метаболический ацидоз.

Можно полагать, что изменение состояния плода, в частности, вызванное хронической гипоксией, не может не отразиться на

показателях кислотно-основного состояния вод. Нами проведено изучение кислотно-основного состояния крови матери, околоплодных вод, крови из артерии и вены пуповины у 50 женщин и их детей при неосложненной беременности и у 200 резус-сенсibilизированных женщин и их детей с различными формами болезни. Динамическое изучение кислотно-основного состояния и газового состава околоплодных вод и параллельно крови матери проводили на аппарате микро-Аstrup. Амниотическую жидкость для исследования получали в анаэробных условиях. У беременных кровь брали из ногтевой фаланги пальца кисти в стеклянный гепаринизированный капилляр после создания местной гиперемии сразу после амниоцентеза.

В крови беременных, в околоплодных водах, а также в крови артерии и вены пуповины сразу после родов определяли концентрацию водородных ионов (рН), парциальное давление углекислого газа (рСО<sub>2</sub>), величину буферных оснований (ВВ), избыток кислот или дефицит оснований (ВЕ), величину стандартных (SB) и истинных (AB) бикарбонатов, парциальное напряжение кислорода определяли с помощью микро-электрода оксимонитора, вмонтированного в аппарат микро-Аstrup, насыщение кислородом определяли геморефлектометром Бринкмана. Все определения были сделаны в течение 30 минут после забора околоплодных вод и крови.

Данные исследования кислотно-основного состояния крови матери представлены в таблице 22.

Таблица 22

**Кислотно-основное состояние крови матери при неосложненной беременности и при различных формах гемолитической болезни плода**

Группы наблюдения	Число наблюдений	рН	рСО <sub>2</sub> , мм рт.ст (кПа)	ВЕ, моль/л крови	ВВ, моль/л крови	SB, моль/л крови	AB, моль/л крови
Неосложненная беременность	100	7,43±0,006	29,4±0,30 (3,82±0,03 кПа)	-4,4±0,36	38,9±0,6	20,3±0,3	18,7±0,3
I группа (здоровые)	80	7,43±0,0067	29,47±0,49 (3,83±0,06 кПа)	-4,6±0,40	38,97±0,35	20,28±0,35	18,65±0,35
Гемолитическая болезнь плода							
II группа (легкая форма)	85	7,43±0,004	28,6±0,36 (3,71±0,04 кПа)	-5,52±0,3	36,77±0,8	19,3±0,38	18,05±0,29
III группа (форма средней тяжести)	84	7,43±0,004	28,85±0,512 (3,75±0,07 кПа)	-5,59±0,54	39,54±1,13	20,57±0,49	18,85±0,46
IV группа (тяжелая форма)	26	7,41±0,007	29,06±0,79 (3,77±0,10 кПа)	-6,04±0,36	35,75±1,5	18,67±0,5	17,94±0,29

Как видно из таблицы, при неосложненной беременности в крови женщин имеет место метаболический компенсированный ацидоз в сочетании с дыхательным алкалозом, что соответствует данным литературы.

Аналогичные результаты получены при исследовании крови реуз-сенсibilизированных женщин, родивших здоровых детей. В крови матерей, родивших детей с легкой формой гемолитической болезни, отмечается некоторое увеличение степени метаболического ацидоза, что проявляется повышением количества недоокисленных продуктов обмена ( $BE = -5,52 \pm 0,3$  ммоль/л крови,  $P < 0,01$ ). Вместе с тем, ацидоз остается компенсированным, наблюдается гипокапния и примерно то же количество бикарбонатов. В крови матерей, родивших детей с гемолитической болезнью средней тяжести, показатели кислотно-основного состояния крови мало чем отличаются от таковых у женщин I группы. Однако у 1/3 женщин отмечено увеличение дефицита оснований в крови. При тяжелой форме гемолитической болезни у плода в крови матери отмечено дальнейшее нарастание степени метаболического ацидоза и снижение щелочных резервов. По сравнению с I и II группами выявлен сдвиг pH в сторону кислой реакции ( $P < 0,05$ ). Однако декомпенсации кислотно-основного состояния не было ни у одной женщины.

Таким образом, проведенные исследования показали, что в крови беременных наблюдается метаболический компенсированный ацидоз в сочетании с дыхательным алкалозом. По мере нарастания тяжести гемолитической болезни плода в крови матери отмечаются увеличение количества недоокисленных продуктов обмена и некоторое снижение щелочных резервов. Значительных сдвигов концентрации водородных ионов и парциального давления углекислого газа не происходит. Это указывает на огромные компенсаторные возможности организма беременной женщины. Постоянство концентрации водородных ионов в крови матери обеспечивается буферной системой крови, доказательством чему служит снижение щелочных резервов при тяжелой форме гемолитической болезни плода. Вместе с тем, имеющиеся изменения кислотно-основного состояния крови матери не могут оказать существенного влияния на показатели кислотно-основного состояния околоплодных вод при различных формах гемолитической болезни плода.

Исследование кислотно-основного состояния околоплодных вод при неосложненной беременности показало, что по мере прогрессирования беременности происходит снижение концентрации

водородных ионов (табл. 23). Одновременно наблюдаются некоторое увеличение количества недоокисленных продуктов обмена и снижение содержания всех буферных оснований.

Таблица 23

**Кислотно-основное состояние околоплодных вод и крови плода при неосложненной беременности**

Срок беременности и материал исследования	pH	pCO <sub>2</sub> мм рт.ст. (кПа)	BE, моль/л крови	BB, моль/л крови	SB, моль/л плазмы	AB, моль/л плазмы	pO <sub>2</sub> , мм рт.ст. (кПа)	Насыщение крови кисло- родом, %	Венозно-ар- териальная разница, %
Околоплодные воды									
30-34 нед	7,28±0,02	32,5±2,20 (4,22±0,28)	-9,9±0,5	31,7±1,8	7,9±0,4	7,1±0,25	-	-	-
35-37 нед	7,22±0,01	35,9±1,0 (4,66±0,13)	11,2±0,3	29,3±0,6	7,25±0,15	6,5±0,15	-	-	-
38-40 нед	7,19±0,01	38,37±1,4 (4,99±0,18)	11,9±0,5	29,0±0,7	7,25±0,15	6,6±0,25	-	-	-
Кровь пуповины									
Артерия (А)	7,21±0,009	38,3±0,9 (4,972±0,11)	11,8±0,4	34,9±0,6	7,5±0,1	7,35±0,2	19,9±0,8 (2,58±0,10)	28,4±2,2 (2,58±0,10)	-
Вена (В)	7,27±0,009	33,26±0,8 (4,32±0,10)	10,1±0,3	35,7±0,6	8,2±0,15	7,45±0,15	29,8±1,1 (3,87±0,14)	50,6±2,8 (3,87±0,14)	22,2±1,6

Таким образом, по мере прогрессирования неосложненной беременности в околоплодных водах наблюдаются усиление метаболического ацидоза, некоторое повышение парциального давления углекислого газа, увеличение количества недоокисленных продуктов обмена и снижение щелочных резервов. Отмеченные изменения при неосложненной беременности являются, очевидно, отражением физиологических условий, необходимых для нормального развития плода. Это подтверждается клиническим состоянием детей при рождении и результатами исследования дыхательной функции и кислотно-основного состояния крови здоровых детей, бравшейся у них до первого вдоха, т. е. в условиях, приближающихся к внутриутробным.

Из представленных данных видно, что плод, даже при физиологически протекающей беременности, находится в условиях сниженного кислородного снабжения, что, по-видимому, связано с ухудшением оксигенации организма матери в конце беременности, и особенно в родах. Венозно-артериальная разница указывает на достаточное поглощение кислорода тканями. Концентрация водородных ионов остается на достаточно высоком уровне, однако имеется значительный дефицит оснований.

Сопоставление полученных данных свидетельствует о том, что показатели кислотно-основного состояния околоплодных вод в конце неосложненной

беременности адекватны соответствующим показателям венозной крови плода, отражающей газообмен в его тканях. В связи с этим исследование кислотно-основного состояния околоплодных вод у резус-сенсibilизированных женщин может дать существенную информацию о состоянии плода при различных формах гемолитической болезни.

У резус-сенсibilизированных женщин, родивших здоровых детей, все показатели кислотно-основного состояния околоплодных вод мало отличались от таковых при неосложненной беременности (табл. 24).

Таблица 24

**Кислотно-основное состояние околоплодных вод и крови плода у резус-сенсibilизированных женщин, родивших здоровых детей**

Срок беременности и материал исследования	pH	pCO <sub>2</sub> , мм рт.ст (кПа)	BE, моль/л крови	BB, моль/л крови	SB, моль/л плазмы	AB, моль/л плазмы	pO <sub>2</sub> , мм рт.ст. (кПа)	Насыщение крови кислородом, %	Венозно-артериальная разница, %	Кислородная емкость крови, л/л
Околоплодные воды										
30-34 нед	7,28±0,2	32,5±2,27 (4,22±0,29)	-9,96±0,5 (4,22±0,29)	30,7±1,8	7,4±0,4	7,3±0,25				
35-37 нед	7,21±0,013	36,0±1,0 (4,68±0,13)	-11,3±0,36 (4,68±0,13)	29,5±0,7	7,15±0,15	6,9±0,15				
38-40 нед	7,18±0,016	38,4±1,3 (4,99±0,10)	-11,9±0,4 (4,99±0,10)	28,87±0,6	6,75±0,25	6,4±0,25				
Кровь пуповины										
Артерия (А)	7,21±0,008	38,4±0,8 (4,99±0,10)	-11,9±0,4 (4,99±0,10)	34,8±0,15	7,5±0,1	7,3±0,1	19,9±0,8 (2,58±0,10)	28,2±2,2 (2,58±0,10)		
Вена (В)	7,27±0,007	34,0±0,7 (4,42±0,09)	-10,2±0,3 (4,42±0,09)	35,9±0,5	8,05±0,15	7,45±0,1	27,29±1,3 (3,58±0,14)	50,4±1,8 (3,58±0,14)	22,2±1,6	0,246±0,0041

При легкой форме гемолитической болезни плода кислотно-основное состояние околоплодных вод не отличается от такового в указанной выше группе (табл. 25).

Отсутствие различий можно объяснить тем, что кислотно-основное состояние крови плода при легкой форме гемолитической болезни мало чем отличается от соответствующих показателей крови у здоровых плодов. Отмечается небольшое снижение щелочных резервов и кислородной емкости крови. Однако ее насыщение кислородом выше, чем у здоровых детей (P<0,001), что, вероятно, связано с некоторым напряжением компенсаторных механизмов организма ребенка. Несмотря на небольшое увеличение насыщения крови кислородом, венозно-артериальная разница крови в этой группе ниже, чем у здоровых детей.

### Кисотно-основное состояние околоплодных вод и крови плода при легкой форме гемолитической болезни

Срок беременности и материал исследования	pH	pCO <sub>2</sub> , мм рт.ст. (кПа)	BE, моль/л крови	BB, моль/л крови	SB, моль/л плазмы	AB, моль/л плазмы	pO <sub>2</sub> , мм рт.ст. (кПа)	Насыщение крови кислородом, %	Венозно-артериальная разница, %	Кислородная емкость крови, л/л
Околоплодные воды										
30-34 нед	7,26±0,025	34,3±1,4 (4,45±0,18)	-10,4±0,5	30,9±2,2	7,8±0,45	7,4±0,25				
35-37 нед	7,21±0,013	34,8±0,5 (4,52±0,06)	-11,9±0,3	29,1±0,8	7,4±0,25	7,0±0,2				
38-40 нед	7,18±0,014	37,5±1,3 (4,87±0,16)	11,9±0,5	28,8±0,7	7,015± 0,15	6,23±0,25				
Кровь пуповины										
Артерия (А)	7,21±0,014	36,3±0,9 (4,71±0,11)	-12,6±0,5	32,6±0,8	7,5±0,1	6,8±0,2	19,9±1,14 (2,58±0,14)	33,12±3,9		
Вена (В)	7,27±0,013	33,0±1,2 (4,29±0,15)	-10,9±0,4	35,4±0,9	8,2±0,15	7,09±0,15	29,5±1,3 (3,83±0,16)	53,6±3,1	19,8±2,9	0,2216± 0,003

При рождении плода с гемолитической болезнью средней тяжести по мере прогрессирования беременности также отмечено снижение концентрации водородных ионов в околоплодных водах, однако в большей степени, чем в I и II группах: величина pH в 30–34 нед составила 7,21±0,014, в 35–37 нед — 7,18±0,013, в 38–40 нед — 7,17±0,017. Других изменений не выявлено (рис. 22).

При исследовании кислотно-основного состояния крови плода с гемолитической болезнью средней тяжести обнаружено усиление гипоксии, снижение кислородной емкости крови, падение парциального давления кислорода в крови артерии и вены пуповины, снижение насыщения крови кислородом. Выявлено уменьшение венозно-артериальной разницы до 16,7± 3,1%, свидетельствующее о некотором ухудшении усвоения кислорода тканями.

При рождении ребенка с тяжелой формой гемолитической болезни наблюдаются наибольшие изменения кислотно-основного состояния околоплодных вод (табл. 26). Имеются значительный сдвиг pH в сторону кислой реакции, увеличение количества недоокисленных продуктов обмена и выраженное снижение щелочных резервов.



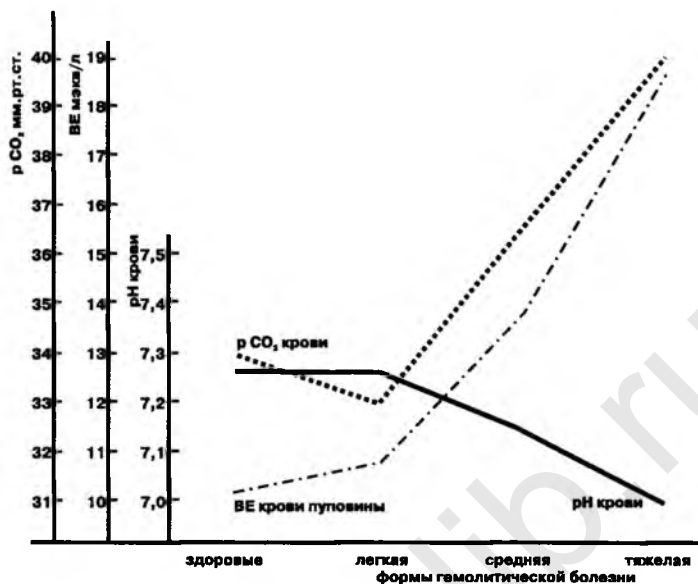


Рис. 22. Изменение показателей кислотно-основного состояния крови (рН, ВЕ, рСО<sub>2</sub>) плода по мере нарастания тяжести гемолитической болезни.

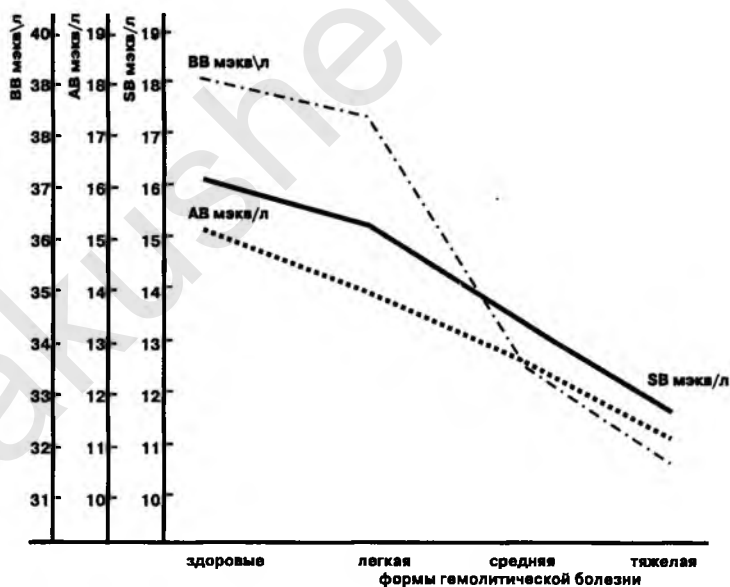


Рис. 23. Изменение показателей кислотно-основного состояния крови (SB, BB, AB) плода по мере нарастания тяжести ГБ.

### Кислотно-основное состояние околоплодных вод и крови плода при тяжелой форме гемолитической болезни

Срок беременности и материал исследования	pH	pCO <sub>2</sub> , мм рт.ст. (кПа)	BE, моль/л крови	BB, моль/л крови	SB, моль/л плазмы	AB, моль/л плазмы	pO <sub>2</sub> , мм рт.ст. (кПа)	Насыщение крови кислородом, %	Венозно-артериальная разница, %	Кислородная емкость крови, л/л
Околоплодные воды										
30-34 нед	7,18±0,02	34,8±1,5 (4,52±0,19)	14,06±0,6	29,7±1,9	7,1±0,6	6,33±0,3				
35-37 нед	7,14±0,025	34,2±0,2 (4,44±0,02)	14,14±0,8	27,4±1,3	6,65±0,35	6,31±0,25				
38-40 нед										
Кровь пуповины										
Артерия (А)	6,9±0,03	42,45±2,6 (5,5±0,30)	20,5±0,8	25,09±0,4	4,9±0,25	4,8±0,2	14,0±1,9 (1,82±0,24)	23,5±1,9		
Вена (В)	7,01±0,003	40,2±1,6 (5,2±0,20)	18,83±0,6	28,6±1,0	5,6±0,25	5,7±0,2	21,8±1,9 (2,83±0,24)	29,4±3,3	5,5±1,6	0,1007± 0,007

Эти изменения являются отражением серьезных нарушений кислотно-основного состояния крови плода и нарастающей гипоксии. В связи с падением содержания гемоглобина у плода значительно снижается кислородная емкость крови, отмечаются дальнейшее снижение парциального давления кислорода и уменьшение насыщения крови кислородом (рис. 24). Выраженное снижение венозно-артериальной разницы свидетельствует о нарушении тканевого дыхания и измененной способности тканей усваивать кислород. В крови плодов с тяжелой формой гемолитической болезни имеют место выраженный патологический метаболический ацидоз, уменьшение щелочных резервов при одновременном увеличении парциального давления углекислого газа, что свидетельствует о крайне тяжелой степени нарушения обменных процессов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при гемолитической болезни плода происходят резкие изменения дыхательной функции и кислотно-основного состояния крови, а степень этих изменений увеличивается по мере нарастания тяжести заболевания. В частности, отмечаются снижение кислородной емкости крови, некоторое увеличение, а затем падение, парциального давления и насыщения крови кислородом, значительное уменьшение венозно-артериальной разницы, что указывает на тяжелое кислородное голодание плода, обусловленное анемией и интоксикацией непрямым билирубином.

В результате нарушения окислительных процессов развивается патологический метаболический ацидоз, который по мере увеличения тяжести заболевания из компенсированного переходит в декомпенсированный. Отмечается значительное снижение щелочных резервов крови при одновременном увеличении парциального давления углекислого газа.

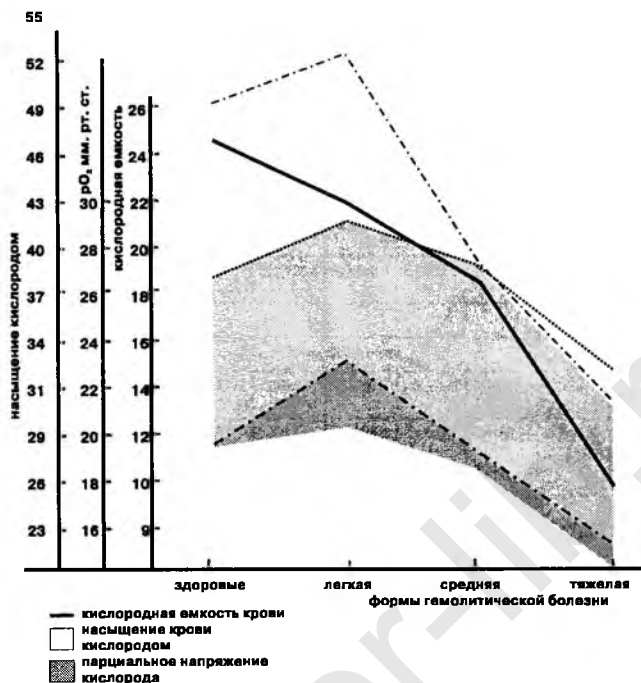


Рис. 24. Кислородная емкость крови, насыщение крови кислородом и  $pO_2$  в крови пуповины при различных формах гемолитической болезни.

Сравнительные исследования показали, что кислотно-основное состояние околоплодных вод при гемолитической болезни изменяется в том же направлении, что и кислотно-основное состояние крови плода.

Таким образом, его изучение может дать чрезвычайно важную информацию о состоянии плода.

### Содержание эстриола в амниотической жидкости при гемолитической болезни плода

Определение содержания эстриола в моче является одним из наиболее надежных и точных тестов, позволяющих диагностировать различные нарушения развития плода, поскольку синтез эстриола во время беременности протекает при активном участии плода, а сам гормон является продуктом единой фетоплацентарной системы (Diczfalusy, 1968). К сожалению, этот тест малопригоден для диагностики состояния плода при гемолитической болезни. В связи со значительным увеличением плаценты при этом заболевании, особенно при тяжелой форме, экскреция эстриола часто бывает

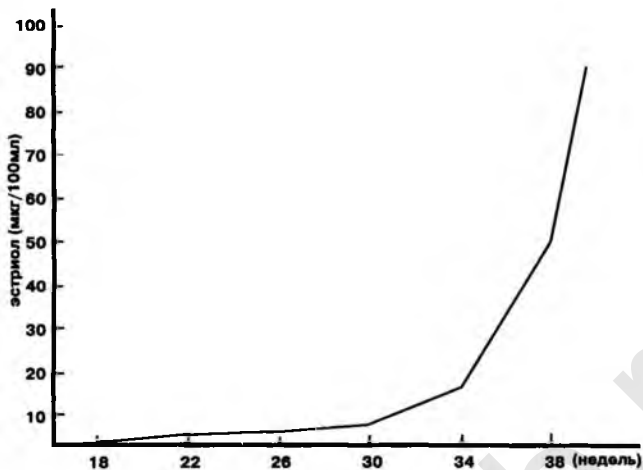


Рис. 25. Содержание эстриола в амниотической жидкости при неосложненной беременности.

нормальной или даже повышенной, несмотря на угрожаемое состояние плода (Schindler и Ratanasara 1968). Более точное представление о состоянии плода при гемолитической болезни может дать определение уровня эстриола непосредственно в амниотической жидкости. Эстриол поступает в околоплодные воды в основном из мочи плода, а также непосредственно из его сосудистой системы. Таким образом, количество гормона в водах зависит в основном от состояния плодового фактора фетоплацентарной системы.

В качестве контрольного исследования мы провели определение эстриола в амниотической жидкости у 50 женщин с неосложненным течением беременности при сроках от 17 до 40 нед. Околоплодные воды получали при амниоцентезе перед прерыванием беременности по медицинским показаниям или при вскрытии плодного пузыря. Эстриол в амниотической жидкости определяли по методу Brown.

Результаты исследования представлены на рисунке 25. Как видно, по мере прогрессирования беременности наблюдается увеличение концентрации эстриола с  $0,46 \pm 0,015$  мкг в 17–18 нед беременности до  $87,1 \pm 13,0$  мкг в 100 мл амниотической жидкости в конце неосложненной беременности. Этот процесс до 30 нед происходит медленно. После 30 нед беременности содержание эстриола в околоплодных водах быстро увеличивается. Подобную закономерность отметили также Michil и соавт. (1971).

Определение эстриола в амниотической жидкости проведено у 48 резус-сенсibilизированных женщин с целью выявления диагностической значимости этого теста в комплексе антенатальной диагностики гемолитической болезни плода. Исследование проведено в сроки беременности от 29 до 40 нед (табл. 27).

Уровень эстриола в амниотической жидкости у резус-сенсibilизированных женщин, родивших здоровых детей, за период наблюдения с 30 до 40 нед беременности мало чем отличался от содержания гормона при неосложненной беременности. Его уровень у женщин, родивших детей с легкой формой гемолитической болезни, был несколько ниже. Наиболее выраженным снижением содержания эстриола в водах было у женщин, родивших детей с тяжелой формой гемолитической болезни.

Таблица 27

### Содержание эстриола в амниотической жидкости при различных формах гемолитической болезни

Группа наблюдений	Число женщин	Число исследованных проб	Содержание эстриола, мкг/100 мл
I группа (здоровые)	8	12	39,7±7,3
Гемолитическая болезнь			
II группа (легкая форма)	16	17	24,1±6,2
III группа (форма средней тяжести)	16	19	20,1±5,2
IV группа (тяжелая форма)	8	10	8,1±1,7
ВСЕГО	48	58	

При одновременном определении содержания эстриола в моче и в плазме крови (рис. 26) обнаружено, что тяжелая форма гемолитической болезни плода сопровождается снижением его уровня в крови.

Наоборот, экскреция эстриола с мочой в этой группе женщин была значительно повышена, несмотря на тяжелое состояние плода, достигая 435 мг/сут при норме около 20 мг/сут (Орлова В. Г. и соавт., 1973).

Снижение уровня эстриола в амниотической жидкости при гемолитической болезни объясняется, по-видимому, несколькими факторами. По мнению Schindler и Ratanasara (1968), при гемолитической болезни происходит нарушение биосинтеза эстриола в фетоплацентарной системе из-за недостатка  $16\alpha$  ОН-гидроксилирования. Однако Klopffer (1973) считает, что в биосинтезе эстриола более важную роль играет количество его предшественников, вырабатываемых надпочечниками плода. В связи с этим

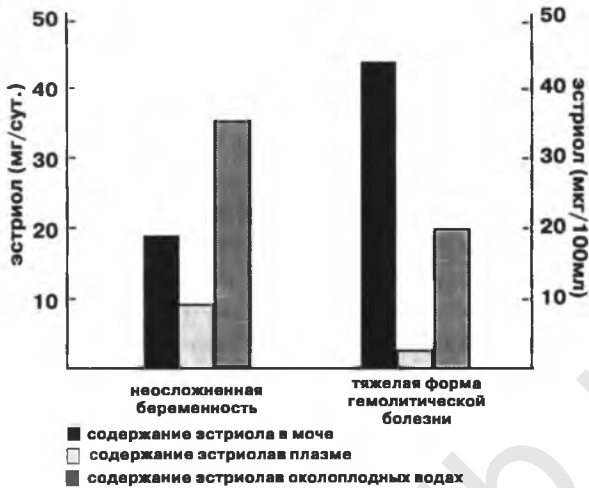


Рис. 26. Содержание эстриола в моче, плазме крови и в околоплодных водах при неосложненной беременности и при тяжелой форме гемолитической болезни.

он полагает, что при гемолитической болезни в надпочечниках плода нарушается образование промежуточных продуктов биосинтеза эстриола.

Проведенные нами исследования показали, что определение содержания эстриола в амниотической жидкости при резус-конфликте является важным дополнительным диагностическим тестом в оценке состояния плода. По мере нарастания тяжести заболевания наблюдается значительное снижение содержания эстриола в околоплодных водах, особенно ярко выраженное при развитии у плода универсального отека. Снижение содержания эстриола в крови матери также может служить показателем ухудшения состояния плода. Определение содержания эстриола в моче матери при резус-конфликте не имеет большого диагностического значения в оценке состояния плода.

### Иммунологический анализ околоплодных вод при гемолитической болезни

Большой интерес представляет иммунологический анализ околоплодных вод. По данным Hoffbauer (1969), присутствие антител в околоплодных водах является критерием тяжести гемолитической болезни. При наличии антител в водах 99% детей с резус-положительной кровью страдали гемолитической болезнью; смертность в

этой группе составила 30%. При отсутствии антител у 25% детей была обнаружена резус-отрицательная кровь, у 50% — резус-положительная с легкой формой гемолитической болезни и у 25% — средней тяжести и тяжелая форма гемолитической болезни. Смертность в этой группе составила 1%. По данным З.Ф. Васильевой (1972), антитела в водах были выявлены в 25,4% случаев, и их присутствие всегда наблюдалось при тяжелой форме гемолитической болезни.

В противоположность этим данным Л. С. Волкова (1970) наблюдала противорезусные антитела в водах чаще при рождении детей с резус-отрицательной кровью. По мнению автора, при резус-конфликтной беременности в водах происходит взаимное связывание резус-фактора и поступающих от матери противорезусных антител, что мешает выявлению как тех, так и других.

Поскольку качественная АВО-дифференцировка амниотической жидкости во всех случаях соответствует группе крови ребенка, определение последней также можно рассматривать в качестве одного из прогностических признаков. Согласно наблюдениям Миггау и соавт. (1965) АВО-несовместимость крови матери и плода при резус-иммунизации является защитным механизмом против тяжелого поражения плода. По данным Clarke (1958), в случае одновременной несовместимости крови матери и плода по АВО- и резус-антигенам имеется один шанс из 500 для развития гемолитической болезни.

Определение группы крови плода по водам мы производили методом задержки гемагглютинации с использованием стандартных сывороток анти-А и анти-В в титре 1:128–1:256 и тест-эритроцитов в виде 2–3% суспензии в разведении физиологическим раствором.

*Техника исследования:*

1. Околоплодные воды центрифугируют в течение 10 мин со скоростью 2500 об./мин. для реакции используется супернатант, свободный от эритроцитов и других частиц.
2. Приготавливают 4 ряда пробирок с последовательным двойным разведением сывороток анти-А и анти-В (по 1 капле в каждой пробирке).
3. В каждую пробирку двух рядов добавляют по 1 капле околоплодных вод, в другие 2 ряда пробирок (контрольные) — по 1 капле физиологического раствора.
4. Пробирки встряхивают и оставляют при комнатной температуре в течение 1 ч.
5. В пробирки с разведенной сывороткой анти-А добавляют по 1 капле тест-эритроцитов группы А(II), с сывороткой анти-В — по 1 капле тест-эритроциты группы В(III).

6. Пробирки встряхивают и оставляют при комнатной температуре на 1,5 ч.
7. Результаты реакции агглютинации регистрируют знаком + (табл. 28).

Таблица 28

### Пример регистрации результатов реакции агглютинации

Ряд пробирок	Анти-сыворотка	Тест-эритроциты	Результат реакции при разделениях сыворотки					
			1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Контроль 1 2	Анти-А	А (II)	+++	+++	++	+	±	-
	Анти-В	В (III)	+++	+++	++	+	±	-
Опыт 1 2	Анти-А	А (II)	-	-	-	-	-	-
	Анти-В	В (III)	+++	+++	++	+	±	-

В данном примере у плода А (II) группа крови, так как в водах присутствует антиген А, который «связал» антитела анти-А стандартной сыворотки; добавление в пробирку тест-эритроцитов группы А (II) не дало реакции агглютинации.

Определение антирезус-антител проводили по общепринятой методике (Соловьева Т.Г., 1963); вместо сыворотки крови для исследования брали околоплодные воды.

Определение титра антител в околоплодных водах и группы крови плода произведено у 102 резус-сенсibilизированных женщин. Из них у 22 родились здоровые дети (у 12 выявлена резус-отрицательная, у 10 — резус-положительная кровь). У остальных женщин родились дети с гемолитической болезнью.

13 детей погибли от отечной формы гемолитической болезни. Всего проведено 116 исследований околоплодных вод. Результаты иммунологического анализа вод представлены в табл. 29.

Таблица 29

### Результаты иммунологического анализа околоплодных вод и исход гемолитической болезни для плода

Антитела в околоплодных водах и их титр	Здоровые с Rh- кровью	Здоровые с Rh+ кровью	Гемолитическая болезнь				ВСЕГО
			легкая	средней тяжести	тяжелая		
					всего	умерло	
Не обнаружены	4	9	23	14	6	3	56
Обнаружены:	8	1	9	15	13	10	46
Титр 1:1-1:2	4	1	6	4	3	2	
Титр 1:4-1:8	1	-	3	7	7	5	
Титр 1:16-1:32 и выше	3	-	4	4	3	3	



Как видно из представленных данных, при рождении ребенка с резус-отрицательной кровью у sensibilizированных женщин антитела в водах выявлялись чаще (у 8 из 12), чем при рождении детей с резус-положительной кровью (у 38 из 91). Ранее это явление было описано Л. С. Волковой (1970).

Между исходом гемолитической болезни для плода и результатами иммунологического анализа вод выявлена определенная связь. В частности, при более тяжелой форме гемолитической болезни антитела в водах определялись чаще и в более высоком титре. Из 13 женщин, дети которых умерли, антитела в околоплодных водах обнаружены у 10, титр их колебался от 1:2 до 1:32.

Закономерной связи между величиной титра антител в крови матери и в околоплодных водах выявить не удалось. При обнаружении в амниотической жидкости антител у резус-сенibilizированных женщин при отсутствии каких-либо других данных, свидетельствующих о внутриутробном страдании плода, можно думать, что плод совместим с матерью по резус-фактору. В случае обнаружения в водах высокого титра антирезус-антител одновременно с симптомами поражения плода прогноз для ребенка с резус-положительным типом крови скорее всего будет неблагоприятным.

Как уже указывалось, гемолитическая болезнь протекает гораздо легче у плодов, кровь которых не совместима с кровью матери по системе АВО. В связи с этим антенатальное определение группы крови плода может явиться дополнительным тестом, важным в прогнозировании исхода беременности для ребенка.

Мы проанализировали результаты определения группы крови плода по данным иммунологического исследования амниотической жидкости у 102 беременных женщин (табл. 30).

Таблица 30

### Результаты определения группы крови плода по изучению околоплодных вод

Совместимость крови матери и плода	Достоверность анализа	Здоровые дети	Гемолитическая болезнь		
			Легкая форма	Форма средней тяжести	Тяжелая форма
АВО-совместимы	Верно	17	29	24	18
	Ошибочно	-	-	2	1
АВО-несовместимы	Верно	5	3	3	-
	Ошибочно	-	-	-	-
ВСЕГО		22	32	29	19

Как видно, процент ошибок составляет 2,9. Они были допущены в группах с выраженными явлениями гемолитической болезни у

плода. Возможно, что в данном случае в околоплодные воды выделяется мало антигенов группы крови плода, т. е. он является слабым «секретором».

Накопленный опыт свидетельствует о том, что антенатальное определение группы крови плода имеет прогностическую ценность при иммуноконфликтной беременности, обусловленной несовместимостью крови матери и плода не только по системе АВО, но и по резус-антигенам. Определение группы крови плода по околоплодным водам обладает высокой точностью (97,1%) и специфичностью. Оно позволяет еще до рождения ребенка подобрать необходимую группу крови для планируемого заменного переливания.

### Кордоцентез

Среди инвазивных методов оценки состояния плода при гемолитической болезни наибольшую информативность имеет исследование плодовой крови, полученной путем кордоцентеза — внутриматочная пункция сосудов пуповины под ультразвуковым контролем (Daffos F. и соавт., 1983; Каретникова Н.А., Стыгар А.М., 2002).

Диагностический кордоцентез осуществляется под ультразвуковым контролем с применением пункционного адаптера для иглы к ультразвуковому секторному датчику. После тщательного определения места локализации плаценты, положения плода и оптимального места пункции под местной анестезией, в асептических условиях специальной иглой делают пункцию передней брюшной стенки матки. Конец иглы под контролем УЗИ сопоставляют с проекцией пуповины и затем производят пункцию вены пуповины. Набирается 2–3 мл крови плода, в которой определяется: уровень гемоглобина, гематокрита, билирубина, непрямого проба Кумбса, группа крови и резус-принадлежность плода и при необходимости кариотип плода и другие биохимические, иммунологические параметры. После забора крови игла удаляется и проводится кардиомониторный контроль состояния плода.

Кордоцентез является инвазивным методом и нередко сопровождается целым рядом осложнений, вплоть до гибели плода вследствие самой процедуры кордоцентеза. Так, по данным Nicolaides и соавт. (1992), даже в руках опытного оператора смерть плода наблюдалась в 1% случаев.

По данным Daffos F. и соавт. (1985), смерть плода в связи с кордоцентезом составляет 0,8–4,3%, по данным Chidini и соавт. (1993)

– 1,4%, Айламазяна Э.К. (1998) – 1,62%. Риск гибели плода связан не только с тяжестью гемолитической болезни, но и со сроком беременности и состоянием плода, обусловленным такой патологией, как хроническая гипоксия плода, задержка внутриутробного развития, внутриутробное инфицирование, пороки развития плода и др. Частота неблагоприятных исходов намного выше, чем при проведении амниоцентеза (Maxwell D. И соавт., 1991).

Наиболее распространенным осложнением кордоцентеза является кровотечение из места пункции сосуда пуповины, которое, по данным многочисленных исследований, наблюдается в 40% наблюдений и продолжается не более 1 мин. При пункции артерии пуповины частота, интенсивность и длительность кровотечения больше, чем при пункции вены (Айламазян Э.К., Михайлов А.В. и др. 1993).

Вторым по распространенности осложнением является образование гематом пуповины в месте пункции. По данным Jaupiaux E. и соавт. (1989), гематомы наблюдали в 17% кордоцентезов.

Кордоцентез нередко ведет к увеличению титра антирезус-антител в связи с плодово-материнской трансфузией, что ведет к утяжелению ГБП (Mari G. и соавт. 2000). По данным Nicolini и соавт. (1988), в 65,6% наблюдений при расположении плаценты на передней стенке наблюдаются плодово-материнские трансфузии, при расположении плаценты на задней стенке — в 16,6% наблюдений. По данным авторов, повышение уровня альфа-фетопротеина более чем на 50% указывает на значительную плодово-материнскую трансфузию.

Инфицирование наблюдается в 1% случаев диагностического кордоцентеза (Dormer C. и соавт., 1992; Chidini A. и соавт., 1993).

Преждевременные роды наблюдаются в 5-8% после кордоцентеза (Daffos F. 1985; Айламазян Э.К. 1998).

Несмотря на достаточно широкий спектр осложнений от этой инвазивной операции, тем не менее в тяжелых случаях это наиболее эффективный метод оценки состояния плода и степени тяжести гемолитической болезни, он позволяет перейти от инвазивного диагностического кордоцентеза к оперативному лечению ГБП путем переливания крови — наиболее эффективному методу лечения тяжелейших форм гемолитической болезни.

### Определение генотипа плода по амниоцитам

Из современных методов с использованием новых технологий привлекает внимание определение генотипа плода неинвазивными

методами (из крови матери, слизи цервикального канала) и путем исследования околоплодных вод в ранние сроки беременности, полученные путем амниоцентеза — менее травматичная операция, чем кордоцентез.

В настоящее время применение полимеразной цепной реакции (ПЦР), либо двойной ПЦР с флуоресцентной или лазерной оценкой результатов возможно с высокой степенью точности диагностировать RhDген RhCE ген. При использовании праймеров это определение может быть проведено на Аксонах 10,4,5,7 (Crombach G., Bennett P., и соавт., 1998; Spence W.C., 1995; Crombach G. и соавт., 1999).

Методика определения генотипа плода по околоплодным водам состоит в следующем: амниотическая жидкость (2–5 мл) центрифугируется со скоростью 10000 g, осадок клеток суспендируется в фосфатный буффер, после 3 центрифугирований и отмываний клетки инкубируются с протеиназой K в течение 2 часов при температуре 55<sup>0</sup>C. Протеиназа инактивируется нагреванием, затем проводится ПЦР.

По данным исследователей, точность генотипирования по амницитам соответствует серотипированию крови и составляет 99,42% (Crombach G,1999). Чувствительность метода — 99,5%, специфичность — 98,8%, положительная верная оценка составляет 99,5% и отрицательная — 98,8%.

Редкие случаи ложно-положительных результатов генотипирования связаны с редкими вариантами RhD гена (делеции и реорганизации между различными аксонами RhD (Carrit B., и соавт., 1994), полиморфизмом связывающих сторон праймеров (Spence W., 1994), с загрязнением полученного образца и ошибочными интерпретациями.

Использование нескольких праймеров, повторное тестирование позволяет избежать ошибок, связанных с вариабельностью и сложностью RhDгена. Ошибки можно также уменьшить за счет предварительного генотипирования отца.

У нас нет опыта генотипирования амниоцитов, мы наладили только методику определения генотипа плода по крови матери, но имеем это исследование в перспективе.

Во многих центрах Германии (Crombach и соавт., 1999) генотипирование амниоцитов является рутинным тестом при ведении женщин с Rh-сенсбилизацией.

## Значение определения пола плода при гемолитической болезни

Walker и Mollison (1957) показали, что неблагоприятный исход гемолитической болезни у мальчиков наблюдается в 2 раза чаще, чем у девочек. По мнению Woodrow и Donohoe (1968), это связано с тем, что при беременности плодом мужского пола наблюдается больший трансплацентарный переход эритроцитов плода в кровь матери и, возможно, в связи с этим большая сенсбилизация и проницаемость плаценты для резус-антител. На основании исследования полового хроматина в клеточном составе амниотической жидкости можно определить пол плода, что является еще одним тестом в антенатальной диагностике гемолитической болезни плода.

Как показали результаты клинического обследования наблюдаемых нами женщин и их новорожденных, определение пола плода является важным прогностическим тестом, так как у мальчиков тяжелая форма гемолитической болезни наблюдалась в 4 раза чаще, чем у девочек. Исследование было проведено у 66 резус-сенсбилизированных женщин; у 6 из них вследствие малого содержания клеток эпидермиса плода в полученных пробах околоплодных вод определить пол плода не представилось возможным.

Амниотическую жидкость исследовали сразу после амниоцентеза. Из осадка, получаемого после центрифугирования при 800 об./мин в течение 5 мин и содержащего эмбриональные эпителиальные клетки, готовили мазки для определения X- и Y-хроматина. Мазки фиксировали уксусной кислотой и метиловым спиртом в соотношении 3:1 и окрашивали вначале 0,05% раствором акрихина, затем 2% раствором ацеторсеина. Подсчет X-хроматина производили не менее 3-4 раз при анализе 100 клеток и брали среднее значение для каждой пробы околоплодных вод. Женский пол устанавливали в тех случаях, когда X-хроматин был в пределах 15-26%, мужской — 0-5%. Y-хроматин подсчитывали в 100 ядрах клеток. При наличии плода женского пола Y-хроматин не обнаруживали, при наличии плода мужского пола он находился в пределах 40-100%.

Из 60 женщин у 30, по данным исследования вод, предполагалось рождение мальчика, у 26 — девочек. У 4 женщин результат исследования был сомнительным (число клеток с половым хроматином — 6-14%). Родилось 36 мальчиков и 24 девочки.

Таким образом, точность метода определения пола плода, по данным исследования клеток околоплодных вод, составила 90%. Этот метод может являться одним из прогностических тестов при

определении тактики ведения беременности и родов у женщин с реузс-сенсбилизацией. Точность прогноза при реузс-конфликте для плода возрастает по мере увеличения числа параметров, определяемых в околоплодных водах.

### **Оценка степени зрелости легких плода по околоплодным водам**

В связи с тем, что при ГБП нередко приходится прибегать к досрочному прерыванию беременности, большое значение имеет определение степени зрелости легких плода по околоплодным водам.

В околоплодных водах содержится до 0,193 ммоль/л (15 мг%) фосфолипидов, происходящих из легких плода, так как при его дыхательных движениях происходит постоянный обмен между альвеолярной и амниотической жидкостью. Две фракции фосфолипидов (сфингомиелин и лецитин) присутствуют в околоплодных водах в равных количествах до 32 нед беременности. По мере созревания легких плода количество лецитина увеличивается почти в 4 раза, в то время как содержание сфингомиелина остается на том же уровне. На основании этих данных предложен тест для определения степени зрелости легких плода по соотношению лецитина и сфингомиелина в околоплодных водах (Л/С).

При исследовании новорожденных с синдромом дыхательных расстройств установлено, что критическая граница содержания лецитина в околоплодных водах (0,004 ммоль/л, или 3,5 мг%) наблюдается в 34–35 нед беременности. При соотношении Л/С более 2 легкие плода можно считать зрелыми.

Метод определения соотношения Л/С довольно сложен. В настоящее время в практике акушерства используются более простые экспресс-методы, которые позволяют быстро определить степень зрелости легких плода. Наиболее простым из них является этаноловый пенный тест, предложенный J. Clements в 1972 г. и основанный на определении титра сурфактанта в амниотической жидкости.

1. Амниотическую жидкость разводят следующим образом:  
амниотическая жидкость, мл — 1,0; 0,5; 0,25; 0,2.  
Изотонический раствор хлорида натрия, мл — 0; 0,5; 0,75; 0,8.
2. В каждую пробирку добавляют 1 мл 95% этилового спирта.
3. Пробирку встряхивают в течение 15 с, затем оставляют на 5 мин в вертикальном положении и повторно встряхивают в течение 15 мин. Через 15 мин исследуются устойчивые пузырьки и результат теста оценивается следующим образом: 1) положительный — наличие пузырьков в 3 и

более пробирках; 2) сомнительный — наличие пузырьков в 2 разведениях; 3) отрицательный в первом разведении.

При определении оптической плотности околоплодных вод на волне 650 нм выявлена тесная корреляция между оптической плотностью околоплодных вод и показателем Л/С. При оптической плотности околоплодных вод 0,15 и выше и Л/С-2 легкие плода являются зрелыми. При оптической плотности околоплодных вод на волне 650 нм от 0,05 до 0,15 отношение Л/С составляет менее 1,5 и легкие плода являются недостаточно зрелыми, при оптической плотности вод менее 0,05 (Л/С менее 1,3) легкие плода незрелые.

Оптическую плотность определяют при длине волны 650 нм после предварительного центрифугирования вод со скоростью 2000 об/мин в течение 10 мин. Для проведения пробы достаточно 5–6 мл околоплодной жидкости. Используют спектрофотометр. Контролем служит дистиллированная вода.

В наших исследованиях использовались фотоэлектрокалориметр и спектрофотометр. Данные, полученные на фотоэлектрокалориметре при длине волны 650 нм в красной части спектра (кювета 5 мм), не отличались от таковых при использовании спектрофотометра.

Клинические и многочисленные экспериментальные исследования показали, что введением матери некоторых лекарственных средств можно ускорить созревание сурфактанта легких плода, что позволяет предупредить развитие синдрома дыхательной недостаточности. К таким препаратам относятся глюкокортикоиды. Под влиянием глюкокортикоидов, введенных беременной или непосредственно плоду, наблюдается более быстрое созревание легких, так как происходит ускоренный синтез сурфактанта.

Беременным на курс лечения назначают 8–12 мг дексаметазона (по 4 мг 2 раза в сутки внутримышечно 2–3 дня или в таблетках по 2 мг 4 раза в сутки в течение 2–3 дней).

Кроме дексаметазона, для профилактики респираторного дистресс-синдрома могут быть использованы другие глюкокортикоиды (преднизолон в дозе 60 мг в сутки в течение 2 дней, дексазон в дозе 4 мг внутримышечно 2 раза в сутки в течение 2 дней).

Результаты профилактики респираторного дистресс-синдрома глюкокортикоидами хорошие. После внедрения в практику этого лечения значительно снизилась смертность при болезни гиалиновых мембран. Тем не менее, в связи со сложным влиянием глюкокортикоидов на организм матери, возможное побочное действие препаратов, необходим поиск других средств, менее опасных и более эффективных для профилактики этого опасного осложнения у недоношенных новорожденных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян Э.К. Кордоцентез в антенатальной диагностике, терапии и хирургии болезней плода // Вестник РАМН.-1998.-1.-С.6-11.
2. Айламазян Э.К., Михайлов А.В. и соавт. Кордоцентез: Четырехлетний опыт применения в целях пренатальной диагностики и лечения заболеваний плода // Ультразвуковая диагностика в акушерстве, гинекологии и перинатологии.-1993.-№3.-С.33-39.
3. Бадалян С.С., Михайлов А.В. Особенности ренин-альдостероновой системы плодово-плацентарного комплекса при гемолитической болезни плода // Акуш. и гинек.-1990.-№5.-С.55-58.
4. Бритван Я.М., Кудрин А.Г. Изменение ЭКГ при кислородном голодании, вызванном отравлением азотистым натрием // Бюл.Эксп.биол. и мед.-1954.-9.-С.18-23.
5. Васильева З.Ф. Антиген-несовместимая беременность и методы защиты плода и новорожденного при иммунологическом конфликте // Автореф. Дис...доктр. Мед наук. Л., 1972.
6. Ведерман Н.А. Некоторые показатели биохимического состава околоплодных вод у резус-сенсibilизированных матерей // В кн. «Методы физико-хим. Анализа», Ростов на Дону. 1965.-56-60.
7. Волкова Л.С. Иммунобиологические взаимоотношения плода и материнского организма (клинико-экспериментальные исследования) //Автореф.докст. дис...М., 1967.
8. Волкова Л.С. Иммунобиологические взаимоотношения организмов матери и плода // Медицина М., 1970.
9. Демидов В.Н. Значение эхографии в диагностике гемолитической болезни плода, обусловленной резус-сенсibilизацией //Вопр. Охраны материнства и детства.1981.-№1.-С.14-16.
10. Егорова А.И., Аксенова Н.М. Динамика содержания свободных аминокислот в сыворотке крови новорожденных детей с гемолитической болезнью // Вопр. Охраны материнства и детства.-1972.-№1.-С.87-88.
11. Каретникова Н.А., Стыгар А.М. Методические и клинико-лабораторные аспекты получения крови плода // Акуш. и гинек.2002.-№2.-С.28-31.
12. Косяков П.Н. Изоантигены и изоантитела человека в норме и патологии // Медицина, М.-1974.
13. Маджадж Н.Ф. Диагностические и прогностические значения дыхательных движений плода у беременных с резус-сенсibilизацией // Автореф. Канд. дисс...М., 1986.
14. Михайлов А.В. Объем печени плода: методы определения на основе ультразвукового исследования, изменения во второй половине неосложненной беременности // Акуш и гинек. 1990.-№5.-С.49-51.
15. Мордухович А.С. Беременность и роды при изоиммунизации // Медицина, УЗ ССР.1972.-135.
16. Орлова В.Г. и соавт. Особенности секреции стероидных гормонов у беременных с нарушенной функцией надпочечников // Акуш. и гинек.1973.-№9.-40с.



17. Панина О.Б. Ультразвуковая плацентометрия в диагностике нарушений состояния плода // Автореф.канд.дисс...М.,-1989.
18. Персианинов Л.С. и соавт. основы клинической кардиологии плода // Медицина.,М. 1967.
19. Персианинов Л.С. О значении резус-фактора в акушерстве и гинекологии //Медгиз., М.,1959.
20. Персианинов Л.С., Сидельникова В.М. Диагностика и антенатальная профилактика гемолитической болезни новорожденных у резус-сенсibilизированных женщин// Акуш. и гинек. 1971.-№8.-С.3-8.
21. Персианинов Л.С., Сидельникова В.М. Профилактика резус-сенсibilизации и лечение гемолитической болезни в антенатальном периоде // В кн. «Теоретические и практические аспекты иммунологии репродукции» М.,-1973.-С.96-111.
22. Садаускас В.М., Свигрис А.Д. и соавт. Трансабдоминальный амниоцентез и исследование оптической плотности околоплодных вод в антенатальной диагностике иммуноконфликтной беременности // В кн. «Теоретические и практические аспекты иммунологии репродукции» М.,-1973.-С.75-90.
23. Сичинава Л.Г. и соавт. Ультразвуковая плацентометрия во время беременности //Акуш и гинек., 1989.-№9.-С.32-35.
24. Сичинава Л.Г., Мясникова И.Г. и соавт. Особенности дыхательной активности плода у беременных с резус-сенсibilизацией //Вопр. охраны материнства и детства.-1984.-№5.-С.48-51.
25. Созанский А.М. Биохимический состав околоплодной жидкости, крови матери и плода в разные сроки беременности // Бюлл.эксп.биол.мед.-1961.-51.-3.-С.64-67.
26. Стрижаков А.Н., Бунин А.Е. и соавт. Значение доплерометрии маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока в выборе рациональной тактики ведения беременности и метода родоразрешения //Акуш. и гинек.-1989.-№3.-С.24-27.
27. Стрижаков А.Н., Игнатко И.В. Этапы развития и совершенствование ультразвуковых методов оценки состояния внутриутробного плода //Акуш. и гинек.-1997.-№5.-С.34-40.
28. Таболин В.А. Гемолитическая болезнь новорожденных // Автореф. Докт. Дис... М.,-1964.
29. Умбрумянц Д.В. Значение определения резус-генотипа отцов для диагностики изоантигенной несовместимости крови матери и плода //Акуш. и гинек.-1969.-№7.-С.35-38.
30. Федорова М.В., Калашникова Е.П. Плацента и ее роль при беременности // М., Медицина.-1986.
31. Филина Е.И. и соавт. Клинико-лабораторная диагностика гемолитической болезни плода //Вопр. охраны здоровья материнства и детства. 1971.-16.-1.-С.45-48.
32. Яновский А.Д. Изменение функционального состояния сердечной мышцы при анемии // Канд. Дисс...1962.
33. Allen F.H., Diamond L. et al. Erythroblastosis fetalis IX. The problems of stillbirth // New. Engl.J. Med.-1954.-251.-12.-453-459.
34. Arias F. High-Risk pregnancy and delivery // Mosby Company. 1984.
35. Berner H.V. et al. Fetal cardiac tamponade a complication of amniocentesis //

Obstet. Gynecol. – 1972.-40.-4.-599-604.

36. Bevis D.C. Errors in interpretation of data derived from amniocentesis // В кн. «Perinatal Medicine» 1-st Turopean Congress, Berlin,-1969.-46-47.
37. Bevis D.C. The antenatal prediction of haemolytic disease of the newborn // Lancet.-1952.-1.-395-398.
38. Black J.B. et al. Clinical application of a new chemical method for the estimation of bilirubin in liquor amnii // J. Obstet. Gynecol. Brit. Cubth-1969.-76.-2.-112-116.
39. Carritt B. et al. Prenatal determination of fetal RhD-type //Lancet.-1994.-344:205-6.
40. Cherry S. et al. Mechanism of accumulation of amniotic fluid pigment in erythroblastosis fetalis //Am.J.Obstet. Gynecol.-1970.-106:297-302.
41. Chidini A., Sepulveda N. Compication of fetal blood sampling // Am.J. Obstet. Gynecol.-1993.-168.-1339-1344.
42. Clarke C.A., Finn R. The protection afforded by ABO-incompatibility against erythroblastosis due to Rhesus anti-D // Int. Arch. Allergy.-1958.-13.-380.
43. Crombach G. et al. Reliability and clinical application of fetal RhD genotyping with two different fluorescent duplex polymerase chain reactions assay: three years experience // Am.J.Obstet. Gynecol.-1999.-V.180.-N2.-P.435-440.
44. Daffos F. et al. Fetal blood sampling during pregnancy with use of a needle guided by ultrasound: a study of 606 consecutive cases // Am. J. Obstet. Gynecol.1985.-153.-655-660.
45. Daffos F. et al. Fetal blood sampling via the umbilical cord using of a needle guided by ultrasound Report of 66 cases // Prenatal Diagnosis.-1983.-3.-271-277.
46. Delecour M., Monnler J., Codaccioni X. Connaissance actuelles sur la physiologie et la biochimic du liquide amniotique // Gynecol. Et. Obstet.-1970.-69.-5.-511-525.
47. Dellenbach P. et al., Muller P. Diagnostic et traitement actuel des isoimmunisations Rhesus au cours de la grossesse //J. Med. Strasbourg.-1970.-1.-12.-827-833.
48. Detti L. et al. Doppler ultrasound velocimetry for timing the second untrauterine trausfusion in fetuses with anemia from red cell alloimmunization // Am. J. Obstet. Gynecol.-2001.-185.-5.
49. Diczfalusy E. The Foeto-placental Unit // Milan. 1968.-183.
50. Donnal P. et al. Furher studies in the assessment of gestational age by amniotic fluid analysis //J.Obstet. Gynecol. Brit. Culth. – 1971.-78.-7.-603-609.
51. Dormer C., Kadri R. et al. Feto-maternal alloimmunization: role of cordocentesis // Rev. Med. Brux. 1992.-13.-4.-124-128.
52. Fort A.T. Prenatal intrusion into the amnion // Am. J. Obstet. Gynecol. 1971.-110.-3.-432-455.
53. Freda V. Recent obstetrical advances in the Rh problem. Antepartum management, amniocentesis and experience with hysterotomy and surgery in utero // Bull. N. Y. Acad. Med.-1966.-2.6.-474-503.
54. Freda V. The Rh problem in obstetrics and a new concept of its management using amniocentesis and spectrophotometric scanning of amniotic fluid //Am. J. Obstet. Gynecol. 1965.-92.-3.-341-374.
55. Gandar R., Schlaeder G. Coinduite a tenir cher une gestante rhesus negatif // Strasbourg Med.-1968.-19.-6.-653-606.

56. Gard R.L. The volume of the liquor amnii in normal and abnormal pregnancies // *J.Obstet.Gynecol.Brit. Cwlth.*-1966.-73.-1.-11-12.
57. Giraud J. Etude chimique et cytologique du liquide amniotique // *Gynec. et Obstet.*-1970.-69.-5.-495-496.
58. Gordon H. The diagnosis of hydrops fetalis // *Clin. Obstet.Gynecol.*-1971.-14.-2.-548-560.
59. Gottvall T. et al. Evaluation of standard parameters to predict exchange transfusion in the erythroblastic newborn // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*-1994.-73.-300-306.
60. Gwojdzinski Z. Биохимические показатели аноксии плода при гемолитической болезни // Тез. Доклада VII Международного Конгресса акуш. и гинек. М.,-1973.-195.
61. Hadley A.G., Wilkes A. et al. The ability of the chemoluminescence test to predict clinical outcome and necessity for amniocenteses in pregnancies at risk of haemolytic disease of the newborn // *BJOG.*-1998.-105.-231-234.
62. Hindemann P. Die bilirubin bestimmung in Fruchtwasser bei Rhesuskompatibilitat. Theoretische und Technische voransetzungen // *Gynakologe (Berlin).*-1969.-2.-2.-52-63.
63. Hinkley C. et. al. Amniotic fluid creatinine in the Rh-sensitized pregnancy // *Am. J. Obstet. Gynecol.* - 1973.-117.-4.-544-548.
64. Hoffbauer H. The antenatal diagnosis of fetal erythroblastosis // In book "Perinatal Medicine 1-st European Congress", Berlin.-1969.-50-53.
65. Holman C.A., Karnicki J. Treatment of haemolytic disease of the newborn by intra-uterine transfusion // В кн. *Recent Advances in clinical pathology.*-1968.-251-272.
66. Issaac V., Browne A., Lille E. Изучение биохимии амниотической жидкости для оценки состояния плода // Тез. Докл. VII Международного Конгресса акуш. и гинек., М.-1973. -165.
67. Issaac V., Browne A., Lille E. Изучение биохимии амниотической жидкости для оценки состояния плода // Тез. Докл. VII Международного Конгресса акуш. и гинек.М.,-1973.-С.165.
68. Jauniaux E., Dormer C. et al. Pathologic aspects of the umbilical cord after percutaneous umbilical blood sampling // *Obstet. Gynecol.*-1989.-73.- 215-218.
69. Jonasson L.E. Total protein content in amniotic fluid from normal pregnancies and from pregnancies, complicated by Rh-isoimmunisation // *Acta. Obatet.Gynecol. Scand.*-1972.-51.-2.-187-193.
70. Jouvencean A., Michand D. Problemes posespar l'incompatibilite Rh foeto-maternelle // *Pfris.*-1961.
71. Karnicki J. Present status of Rhesus iso-immunisation // In.: *Obstet. And Gynecol. Proc. Intern. Symp. Milan.*-1969.-5-17.
72. Kirkenen P. et al. Fetal umbilical vein blood flow in Rh-isoimmunisation // *Brit. J. Obstet.Gynecol.*-1983.-90.-7.-640-644.
73. Kittrich M. Changes in the acid-base balance of amiontic fluid during labour // *J. Obstet. Gynecol.Brit. Cwlth.*-1968.-75.-1138-1143.
74. Клоpper А. Динамика эстрадиола в амниотической жидкости // Тез. Докл. VII Международного Конгресса акуш. и гинек., М.-1973.-150.
75. Kopecky P. Kritische stellung nahme zur Fruchtwasser spektrophotometric unter Berücksichtigung des fetalen Bilirubin-stoffwechsels // *Geburtsh u Frauenhei.*-1970.-30.-8.-745-752.
76. Корецкий Р., Jansen F. Некоторые аспекты метаболизма билирубина у плода и

новорожденного // Тез. Докл. VII Международного Конгресса акуш. и гинек., М.-1973.-282-283.

77. Levine P. Serological factor as possible causes in spontaneous abortion // J. Hered.-1943.-34.-71.
78. Liley A.W. Liquor amnii analysis in management of pregnancy complicated by Rhesus sensitization // Am. J. Obstet. Gynecol.-1961.-82.-1359.
79. Loghem J.G. et al. Principes de l'organisation du depistage de l'isoimmunisation maternelle // Bull. Fed. Soc. Gynecol. Obstet. Fronc., 1952.-4.-1.-1-9.
80. Mandelbaum B., Robinson A.R. Amniotic fluid pigment in Erythroblastosis fetalis // Obstet. Gynecol.-1966.-28.-1.-118-120.
81. Mari G. et al. Diagnosis of fetal anemia with Doppler ultrasound in the pregnancy complicated by maternal blood group immunization // Ultrasound Obstet. Gynecol.-1995.-5.-6.-400-405.
82. Mari G. et al. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization // N. Engl. J. Med.-2000.-342.-9-14.
83. Maxwell D., Jonson P. et al. Fetal blood sampling and pregnancy loss in relation to indication // Brit. J. Obstet. Gynecol.-1991.-98.-892-897.
84. Mayer M., Ducas P., Levi S. Letude de la bilirubine amniotique dans le prognostic et le traitement de l'erythroblastose foetale par iso-immunisation anti-Rhesus // Gynecol. et Obstet.-1963.-62.-461-504.
85. Michil E.A., Robertson J.G. Amniotic and urinary oestradiol assays in pregnancies complicated by Rhesus immunization // J. Obstet. Gynecol. Brit. Cweth.-1971.-78.-34-41.
86. Misenhimer A.R. Amniotic fluid analysis in prenatal diagnosis of Erythroblastosis fetalis // Obstet. A Gynecol.-1964.-23.-485.
87. Mollison P.L. Results of tests with different cellular bioassays in relation to severity of RhD haemolytic disease // Vox. Sang.-1991.-60.-225-229.
88. Murray S., Knox E., Walker W. Rhesus haemolytic disease of the newborn and the ABO groups // Vox. Sang.-1965.-10.-6.
89. Nicolades K.H. et al. Failure of ultrasonographic parameters to predict the severity of fetal anemias in rhesus isoimmunisation // Am. J. Obstet. Gynecol.-1988.-158.-920-926.
90. Nicolaides K.H., Rodeck C.H. Maternal serum anti-D antibody concentration and asseament of rhesus isoimmunisation // Br. Med. J.-1992.-304.-1155-1156.
91. Nicolini U. et al. Consequences of fetomaternal hemorrhage following intrauterine transfusion // Br. Med. J.-1988.-297.-1379-1381.
92. Oepkes D. et al. Clinical value of an antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity assay in the management of RhD alloimmunization // Am. J. Obstet. Gynecol.-2001.-184.-5.
93. Oepkes D., Brand R. et al. The use of ultrasonography and Doppler in the prediction of fetal haemolytic anaemia: a multivariate analysis // Br. J. Obstet. Gynecol.-1994.-101.-8.-680-684.
94. Ouweland W.H. The activity off IgG-1 and IgG-3 antibodies in immunomediated destruction of red cells (thesis) // Amsterdam: Univ. of Amsterdam.-1984.
95. Palliez R. et al. Biochimie du liquide amniotique // Gynec. Et Obstet.-1970.-69.-2. 97-112.
96. Palliez R., Goudemand M. et al. L'interet de la ponction amniotique dans l'iso-immunisation au facteur Rhesus // Gynecol. And Obstet.-1967.-66.-5.-569-584.

97. Pigeaud H., Bethoux R. Dosage de la bilirubine dans le liquide amniotique interet de la bilirubine benzeno-extractible // Gynec. et Obstet.-1967.-66.-365-384.
98. Pitkin R., Zwirek S. Amniotic fluid creatinine // Am.J.Obstet.Gynecol.-1967.-98.-8.-1137-1139.
99. Queenan J. Modern management of the Rh problem // New-York, Harper and Row, Publishers. Inc.-1977.-31-32.
100. Queenan J. , Gadow E. et al. Amniotic fluid proteins in normal and Rh-sensitized pregnancies // Am.J.Obstet.Gynecol.-1970.-108.-3.-406-414.
101. Queenan J. Current problems in prophylactic treatment of Rh-erythroblastosis (an invitational symposium) // J.Reprod.Med.-1971.-6.-5.-74.
102. Reil B. Shellong G. et al. Bestimmung der Bilirubin Konzentration in Fruchtwasser bei Rh-inkompatibilitat // Dtsch. Med.Wachr.-1969.-94.-50.-2602-2605.
103. Rightmire D., Nicolaides K. et al. Fetal blood velocities in Rh-isoimmunization :relationship to gestational age and to fetal Ht //Ost. And Gynecol.-1986.-68.-2.-233-236.
104. Schindler A., Ratanasapa V. Profile of steroids in amniotic fluid of normal and complicated pregnancies // Acta Endocrin.-1968.-59.-2.-239-249.
105. Schreiner W., Schmid J. The clinical significance of Biochemical tests on the early detection of fetal hypoxia // В кн.: Perinatal Medicine. 1-st Europe Congress., Berlin.-1969.-20-24.
106. Schulman H. Amniotic fluid // Clin. Obstet. Gynec.-1970.-13.-3.-542-548.
107. Schulman H. Significance of amniotic fluid analysis in Rh sensitization // Obstet. A Gynecol.-1969.-34.-2.-151-155.
108. Taslimi M. et al. Immunoglobulin G subclasses and isoimmunized pregnancy outcome //Am.J.Obstet.Gynecol.-1986.-154.-1327-1332.
109. Tovey G.H. Antenatal diagnosis of rhesus incompatibility // В кн. «Perinatal medicine» 1-st European Congress Berlin.-1969.-44-47.
110. Walker W., Mollison P. Haemolytic disease of the newborn deaths in England and Wales during 1953-1955 // Lancet.-1957.-272.-6983.-1309-1314.
111. Weiner E. et al. Differences between the activities of human monoclonal IgG1 and IgG3 sub-classes of anti-D (Rh) antibody in their ability to mediate red cell binding to macrophages // Immunology.-1987.-62.-401-404.
112. Whitecor P.W., Moise K.J. Sonographic methods to detect fetal anemia in red blood cell alloimmunization // Obstet. Gynecol. Surv.-2000.-55(4).-240-250.
113. Whitfield C.R. A three year assessment of an action line method of timing intervention in rhesus isoimmunization //Am.J.Obstet.Gynecol.-1970.-108.-8.-1239-1244.
114. Whitfield C.R. The timing of intervention in rhesus isoimmunization by an action line // В кн. Perinatal Medicine 1-st European Congress., Berlin.-1969.-58-59.
115. Wiener A.S. Conglutination test for Rh-sensitization // J.Lab.Clinic. Med.-1945.-30.-662.
116. Woodrow J., Donohoe W. Rh-immunisation by pregnancy: results of a survey and their relevance to prophylactic therapy // Brit. Med. J.-1968.-2.-139.

Наличие в крови резус-отрицательной беременной анти-резус антител выделяет ее из всех резус-отрицательных беременных в группу риска по развитию у плода гемолитической болезни. Все лечебные мероприятия имеют целью снижение степени гемолиза и профилактику развития тяжелой анемии у плода.

В настоящее время так же, как в диагностике степени тяжести заболевания, можно выделить лечебно-профилактические неинвазивные методы лечения и инвазивные методы терапии тяжелых форм заболевания. Клинический анализ показывает, что из всех резус-сенсibilизированных женщин у 40–50% плод будет иметь легкую ГБ, или не иметь ее вообще, 25–30% будут иметь ГБ, требующую лечение в раннем неонатальном периоде и только у 20–25% развивается тяжелая анемия или отечная форма, требующая инвазивных методов терапии и досрочного родоразрешения.

Целью антенатального ведения и лечения является идентифицировать очень тяжелые формы заболевания и проводить лечение до оптимального времени родоразрешения.

### **НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ТЕРАПИИ ПРИ РЕЗУС-СЕНСИБИЛИЗАЦИИ**

В течение многих лет в отечественной литературе описывали различные методы десенсибилизирующей терапии резус-сенсibilизации. В основном эти методы были направлены на лечение гипоксии, уменьшения проницаемости плаценты, делались попытки снизить уровень антител различными, конкурирующими с резус-антигеном, методами.

Надо отметить, что многие старые методы лечения пересмотрены с позиций исследования на новом уровне знаний и находят успешное применение на практике.

## Десенсибилизирующая терапия антигенами

Исходя из принципа конкуренции антигенов Wiener и Soon (1946), высказали предположение об ограничении способности организма вырабатывать антитела при введении сразу нескольких антигенов. Возможно, что на более сильный антиген антитела будут вырабатываться скорее. Для подтверждения этого предположения они применяли дифтерийную или тифозную вакцины, считая, что их антигены будут более действенны, чем резус-антиген, и подавят образование антител. По данным Potter (1947), этот метод не дает эффекта, так как способность организма к одновременной выработке антител безгранична. Известно также, что введение нового антигена при наличии иммунизации к введенному ранее может вызвать не только выработку антител против нового антигена, но и повысить титр антител против первого антигена.

В 1955 г. Попиванов, основываясь на принципе конкуренции антигенов, с целью десенсибилизации предложил применять микро-трансфузии свежечитратной крови, не совместимой по системе АВО. Дальнейшие исследования показали, что групповые факторы крови не обладают такими антигенными свойствами, которые могли бы подавить образование антител антирезус при уже имеющейся сенсibilизации (Соловьева Т.Г., 1956; Васильева И. А., 1959). В 1973 г. Л. С. Персианинов и В. М. Сидельникова попытались получить десенсибилизирующий эффект при введении препарата фруглюмин, содержащего антигены А или В в большой дозировке, но не добились хороших результатов.

Bierme и соавт. (1982) предложили использовать препарат, полученный из мембран резус-положительных эритроцитов донора. При приеме внутрь снижался уровень анти-резус антител класса IgG, которые проникают через плаценту, но увеличивался уровень иммуноглобулинов IgM и IgA, которые не проникают через плаценту. Авторы получили хорошие результаты при лечении группы женщин — не было ни одного случая тяжелой формы гемолитической болезни, в то время как в сравнительной рандомизированной группе потребовались внутриутробные переливания крови плодам и исход гемолитической болезни был хуже, чем в основной группе. Авторы полагают, что эффективность перорального приема мембран резус-положительных эритроцитов обусловлена блокирующим эффектом продукции антиглобина или продукцией специфических Т-супрессорных клеток, вызванных приемом антигенов в желудочно-кишечном тракте.

## Плазмаферез

В 1968 г. были попытки уменьшить титр антител плазмаферезом (Bowman и соавт., 1968). Однако плазмаферез в то время нередко приводил к разрушению эритроцитов и серьезному поражению печени.

Но уже в 1982 г. Rubinstein P. приводит данные об успешном лечении резус-сенсibilизированных женщин плазмаферезом. Автор приводит два способа проведения плазмафереза. Первый способ — удаление небольших порций плазмы еженедельно, что приводит к снижению титра антител и улучшению исходов ГБП. Второй способ — удаление больших объемов плазмы. Отмечено значительное улучшение исходов гемолитической болезни.

На основании результатов, полученных различными авторами, можно судить о положительной роли проведения процедур ПА для коррекции гипериммунных нарушений у женщин с высокой степенью резус-сенсibilизации. Клинический опыт показывает, что определенное значение имеет число операций ПА, их систематичность, а также общий объем эксфузии плазмы. Можно полагать, что при этом происходит некоторое временное истощение продукции резус-антител. ПА может значительно снизить титр резус-антител в крови беременных, в результате у плода снижается степень тяжести гемолитического процесса.

Следует отметить, что нередко титр антител не уменьшается за счет вымывания антител из тканей, депо. В этих случаях нужно большее число сеансов на курс плазмафереза.

Целесообразно в этих случаях систематическое проведение ПА во время беременности с тем, чтобы корригировать титр резус-антител.

**Выделяют следующие лечебные эффекты плазмафереза: специфические, неспецифические и дополнительные.**

*К специфическим эффектам ПА относятся:*

- **детоксикация** (элиминация токсических субстанций, «деблокирование» естественных систем детоксикации, антиоксидантный эффект — экстракорпоральная биотрансформация токсических субстанций);
- **реокоррекция** (снижение вязкости крови, повышение деформируемости клеток крови, снижение агрегационных характеристик клеток крови, снижение общего периферического сопротивления);



- **иммунокоррекция** (элиминация антигенов, антител, ЦИК, иммунокомпетентных клеток, «деблокирование» иммунной системы, изменение направленности иммунного ответа);
- **повышение чувствительности** к экзогенным и медикаментозным веществам.
- **диффузионный** — диффузия метаболитов из органов и тканей.

*Неспецифические эффекты ПА включают:*

- гемодинамические реакции;
- перераспределение клеток крови;
- активацию эндокринной системы;
- стресс-реакции.

Дополнительные эффекты определяются воздействием инфузионных, трансфузионных и медикаментозных препаратов, необходимых для проведения процедуры ПА. Применение трансфузионных и медикаментозных программ позволяет потенцировать лечебный эффект ПА наряду с нивелированием отрицательного воздействия данной процедуры.

Существуют различные модификации плазмафереза — каскадная плазмафильтрация, принцип которой состоит в выделении на первичном фильтре плазмы, из которой на вторичном фильтре удаляются высокомолекулярные субстанции (белки, липопротеиды, циркулирующие иммунные комплексы — ЦИК). Отличие ПА от плазмафильтрации состоит в простоте необходимого аппаратного обеспечения, относительной дешевизне, отсутствии необходимости тщательной гепаринизации больных, катетеризации крупных магистральных вен.

Для проведения прерывистого дискретного ПА используют рефрижераторные центрифуги «R-70», «R-80», «Juan»-Франция, пластиковые мешки и контейнеры «Гемакон-500», «Гемакон-500/300» с цитратным консервантом — глюгицир, аппараты фирмы «Гемонетик», «Дидеко», «Бакстер», ПФ-01, основанные на использовании сил гравитации.

Методика проведения плазмафереза.

ПА может быть осуществлен прерывистым (дискретным) или гравитационным проточно-непрерывным способом.

*Техника прерывистого ПА заключается в следующем:*

1. Пункция локтевой вены;
2. Введение плазмозамещающих кристаллоидных и коллоидных растворов. Соотношение объема удаленной плазмы к объему плазмозамещающих растворов должно быть как

минимум 1:1,2 — вне беременности, при беременности — 1:2. Целесообразно в программу плазмозамещения во II и III триместрах беременности вводить белковые препараты — 100 мл 10% раствора альбумина.

3. Эксфузия крови (400–500 мл) в пластиковые контейнеры типа «Гемакон-500/300».
4. Отделение форменных элементов крови от плазмы, осуществляемое в рефрижераторной центрифуге в мягких режимах центрифугирования при скорости 3500–5000 об/мин.
5. Отделение плазмы в мешок-спутник;
6. Реинфузия разведенных физиологическим раствором форменных элементов крови.

Процедуру целесообразно повторить 2–3 раза, что позволяет удалить 600–900 мл плазмы за 1 сеанс (без учета гемоконсерванта). Курс лечения составляет 3–5 сеансов ПА. Показаниями для повторного курса ПА являются результаты клинического и лабораторного исследования каждой больной.

В отличие от прерывистого непрерывный ПА требует катетеризации двух вен. Один венозный доступ необходим для введения инфузионных сред, другой — для подключения к сепаратору крови. Кровь больной поступает в ротор центрифуги, в которой происходит ее разделение, по одним магистралям удаляется плазма, по другим выводятся форменные элементы, которые смешиваются с плазмозамещающими растворами, которые через вторую вену возвращаются в кровеносное русло больной. Непрерывность процедуры обеспечивается постоянной работой ротора. В течение процедуры для профилактики тромбообразования вводят 5–10 тыс. гепарина внутривенно. При непрерывном ПА используется специальная система магистралей, собирательные сумки (контейнеры), антикоагулянтный раствор, содержащий цитрат натрия и декстрозу, кристаллоидные, коллоидные и белковые растворы. С целью возмещения дефицита ОЦК вводят инфузионные среды различной направленности действия индивидуально в каждом случае с учетом показаний.

*Противопоказания к проведению ПА:*

1. Выраженные органические изменения со стороны сердечно-сосудистой системы;
2. Анемия (Hb ниже 100 г/л);
3. Гипопротеинемия (уровень белка ниже 55 г/л);

4. Гипокоагуляция;
5. Иммунодефицитные состояния;
6. Аллергические реакции на антикоагулянты, коллоидные и белковые препараты.

Относительными противопоказаниями являются отсутствие венозного доступа, флебиты периферических вен в стадии обострения.

#### *Осложнения, связанные с процедурой ПА*

1. Коллаптоидные состояния, как правило являющиеся следствием неадекватного плазмозамещения объема удаленной плазмы у больных с гипотонией. При возникновении коллапса удаление плазмы необходимо прекратить и провести инфузионную терапию кристаллоидными, коллоидными и белковыми препаратами.
2. Аллергические реакции на введение инфузионных сред. В подобных ситуациях введение растворов прекращают, показано использование антигистаминных препаратов и кортикостероидов.
3. Анемия и симптомы стенокардии. Необходим тщательный учет противопоказаний к проведению ПА у больных с анемией, в случае возникновения тяжелой анемии — введение свежезаготовленной эритромаcсы и назначение антианемических препаратов.
4. Нарушения электролитного состава крови (гипокальциемия, гипокалиемия), которые могут проявляться сердечной аритмией. Обязателен контроль уровней электролитов и коррекция возникших нарушений.

В литературе описаны также такие осложнения, как отек легких и острая сердечная недостаточность в ответ на введение больших объемов низкомолекулярных растворов у больных с экстрагенитальной патологией. Вышеуказанные осложнения диктуют необходимость тщательного обследования женщин перед процедурой, определения показаний для ее назначения, неукоснительного соблюдения правил проведения ПА, присутствия обученного и высококвалифицированного персонала.

В настоящее время плазмаферез в современном его исполнении является одним из основных методов терапии ГБП на этапе подготовки к беременности и во время беременности.

### **Имуноглобулин**

О. А. Шуваева и соавт. (1971) в целях десенсибилизации предлагали вводить большие дозы гаммаглобулина. По их мнению,

введение больших доз гаммаглобулина, приближающихся к суточной потребности в нем организма, тормозит выработку собственных гаммаглобулинов. В основу исчисления суточной дозы положено определение суммарного содержания гаммаглобулина в организме, согласно которому среднее количество глобулиновой фракции сывороточных белков крови составляет 31 мг на 1 кг массы тела женщины. Эта величина принята в качестве оптимальной расчетной суточной терапевтической дозы гаммаглобулина. Лечебная доза определяется исходя из массы тела беременной и содержания гаммаглобулина в препарате. Автором получены хорошие результаты, но на небольшом числе наблюдений. При более широком применении этого метода лечения (Розина И. В. и соавт. 1972), несмотря на проводимую терапию, у 9 из 72 женщин беременность закончилась мертворождением или выкидышем и у 1 — рождением ребенка с отечной формой заболевания.

Применение этого метода в Центре не дало ощутимых результатов. Дозы, которые мы могли позволить себе использовать, были чрезвычайно низкие (по 1,25–2,5 г), чтобы достичь желаемого результата, а использовать большие дозы крайне рискованно, так как качество отечественных иммуноглобулинов низкое и возможны анафилактические реакции и передача вирусной инфекции. В настоящее время есть много иммуноглобулинов высокого качества. О лечении плода использованием высоких доз иммуноглобулина для в/в введения много пишется в литературе с различной степенью эффективности. Механизм действия иммуноглобулина остается неясным, есть несколько объяснений феномена эффективности:

- 1–ингибирование продукции собственных антител при избытке вводимого IgG;
- 2–соревнование за макрофаги или Fc-рецепторы клеток-мишеней и блокада Fc-связанных антител при плацентарном транспорте. Для лечения ГБП может быть использован только иммуноглобулин, проникающий через плаценту, т.е. IgG.

Механизм транспорта иммуноглобулина через плаценту неизвестен. Исследования Brambeel и соавт. (1960) предполагали, что транспорт IgG молекул через плаценту связан с рецепторами Fc части молекулы. Эти рецепторы присутствуют на поверхности трофобласта уже в 10 недель. Механизм транспорта экзогенного IgG все еще изучается. Было показано, что это медленный процесс и требуется чтобы фрагменты Fc молекулы были интактными. Gitlin и соавт. (1983) показали, что меченный IgG, введенный матери через 12 дней, обнаруживается у плода только на уровне 40% по сравнению с матерью.

Contractor и соавт. (1983) предполагают, что трофобласт абсорбирует определенное количество IgG, разбивает на мелкие фракции путем неспецифического эндоцитоза и переносит эти фрагменты к плоду. Небольшое количество IgG однако избегает процесс лизосомальной деструкции путем различных протективных механизмов и молекулы интактными проникают к плоду.

Есть несколько работ об успешном использовании высоких доз IgG для лечения тяжелых форм ГБ. Результаты эффективности лечения неоднозначны, чтобы сделать общие выводы, и это определяется различными гестационными сроками введения иммуноглобулинов, различием в составе различных коммерческих иммуноглобулинов.

По данным L.Voto и соавт. (1997), при лечении 24 пациенток с тяжелым анамнезом и тяжелой степенью анемии у плода получены хорошие результаты. Дневная доза иммуноглобулина (IgG) составляла 0,4 г/1 кг массы матери. Эту дозу вводили за 4–5 дней и затем этот курс повторяли каждые три недели до родоразрешения. Если лечение было начато до 20 недель беременности, то все дети дожили до оптимального срока родоразрешения и только часть из них нуждалась в заменном переливании крови после рождения. Если лечение было начато после 28 недель, результаты были хуже и большая часть детей нуждалась в заменном переливании крови. Если лечение начинали когда были признаки отечной формы ГБ, то помимо введения иммуноглобулина все плоды нуждались во внутриматочных трансфузиях. Авторы отмечают, что во всех случаях лечения иммуноглобулином удалось родоразрешить женщин в сроки беременности, когда никто из детей не нуждался в вентилизации легких и дети легко переносили заменное переливание крови. Побочных эффектов ни у матери, ни у плода не наблюдали.

По данным Gottvall T. и соавт. (1995), иммуноглобулин не всегда оказывает ингибирующий эффект на уровень анти-D антител у матери и не снижает уровень прохождения антител к плоду через плаценту, однако он стабилизирует уровень гемоглобина у плода, что не наблюдалось в контрольной группе. Авторы полагают, что стабилизация состояния плода объясняется тем, что IgG блокируют Fc-рецепторсвязанный фагоцитоз макрофагами в ретикуло-эндотелиальной системе плода и снижает деструкцию эритроцитов плода.

Rewald E (1985), Berlin и соавт. (1985) сообщили об успешном лечении ГБП высокими дозами иммуноглобулина в сочетании с плазмаферезом.

По данным Ulm и соавт. (1999), при внутривенном переливании крови плоду они дополнительно вводили иммуноглобулин в кровотоки плода в дозе 1,0 г на 1 кг предполагаемой массы плода. Они отметили более медленное снижение гематокрита у плода (в среднем 0,72% в день, в контрольной группе — 1,45% в день) однако не было разницы в исходе гемолитической болезни для плода.

Тем не менее, есть много противников терапии иммуноглобулином и основные положения их состоят в том, что:

- иммуноглобулин — очень дорогой препарат, а необходимо использовать большие дозы и стоимость лечения составляет от 7000 до 14000 долларов США;
- есть возможность передачи каких-либо вирусов, если некачественно приготовлен иммуноглобулин;
- есть осложнения от введения иммуноглобулина в виде головной боли, тошноты, гипотензии;
- применение иммуноглобулина не намного улучшает исход для плода, при тяжелых формах заболевания требуются инвазивные методы терапии.

Несмотря на возражения, интерес к терапии иммуноглобулином чрезвычайно высок. Только чрезмерная дороговизна этого препарата для наших пациентов и невозможность использования иммуноглобулинов отечественного производства в больших дозах из-за возможных анафилактических осложнений, ограничивает использование этого чрезвычайно эффективного метода терапии.

При введении иммуноглобулина могут быть осложнения в виде аллергических реакций, головной боли, нередко незначительные явления острого респираторного заболевания. Для профилактики этих осложнений необходимо сделать анализ общих уровней иммуноглобулинов в крови класса IgG, IgM и IgA. При низком уровне IgA вводить иммуноглобулин опасно из-за возможных анафилактических реакций. Можно рекомендовать введение антигистаминных средств до и после введения иммуноглобулинов, назначить обильное питье, чай, кофе, соки, при явлениях ОРЗ — жаропонижающие средства. Как правило, все осложнения проходят через день-два.

### Лимфоцитоиммунотерапия

Многими исследователями было отмечено, что нередко при высокой степени сенсибилизации рождаются дети с легкими формами ГБ и напротив нередко при низком титре рождается

чрезвычайно тяжелый ребенок. Это навело исследователей на мысль, что помимо уровня антител есть что-то, что определяет тяжесть ГБ.

У женщин с высоким уровнем анти-D антител, родивших детей с легкой формой ГБ, была исследована кровь и найдены моноциты, связывающие иммуноглобулины G антитела (Shepard и соавт., 1996). Эти антитела включали антитела к HLA классов A,B,C и Dr, антитела против отцовских моноцитов. Как следствие иммунизации матери лейкоцитарными антигенами плода, наследуемыми от отца, эти антитела, обладающие блокирующими свойствами, защищают плод от анти-D антител, уменьшая, тем самым, тяжесть гемолитической болезни (Hadley 1998, Dooren M.,1992; Neppert и соавт., 1999).

Надо отметить, что предтечей исследований в этом направлении были работы Волковой Л.С. (1973). По мнению Л. С. Волковой (1973), во время беременности имеются все условия и факторы для развития между матерью и плодом выраженных реакций, с одной стороны, трансплантационного иммунитета, с другой — иммунологической толерантности. Нормальное развитие беременности протекает в условиях оптимальных соотношений разнотипных иммунных реакций, возникающих между матерью и плодом. При некоторых условиях баланс этих реакций может быть нарушен. Как следствие этого нарушения, могут развиваться сенсбилизация материнского организма и гемолитическая болезнь у плода, либо произойти досрочное «отторжение» плода — выкидыш. У изоиммунизированных женщин имеется повышенная чувствительность к антигенам зародыша, унаследованным им от отца. Имея это в виду, Bagdawill и соавт. (1962) у женщин с привычным невынашиванием и повышенной аллергической реакцией к лейкоцитарным клеткам крови мужей осуществили пересадку кожных лоскутов от мужа и контрольного донора. В результате операции у 15 женщин беременность была сохранена и завершилась рождением здоровых детей. Авторы отметили весьма интересную зависимость. Среди леченых женщин наиболее благоприятный исход беременности и пролонгированное приживание лоскута наблюдалось у беременных, имеющих кровь, не совместимую с кровью мужа по системе ABO или Rh-Нг. Было высказано предположение о том, что в случае гетероспецифической беременности проявляется феномен усиления (enhancement), который действует защитным образом. Иммунные геагглютинины, циркулирующие в материнской крови, могут препятствовать активности ее тканевых (фиксированных)

антител. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что пересадка кожи от мужа, оказывая десенсибилизирующее действие, снижает число патологических исходов беременности. Это послужило нам основанием для использования метода аллопластики кожи в практике лечения женщин, сенсibilизированных к резус-фактору.

Предполагаются два пути действия: первый — пересаженный лоскут играет роль отвлекающего иммунологического фактора (тканевый иммунитет подавляет гуморальный, т.е. имеется конкурентное действие); второй — гуморальные антитела фиксируются на антигенах трансплантата, обладающих той же специфичностью, в результате чего воспроизводится феномен «иммунологического усиления».

Лечебный эффект, оказываемый кожным трансплантатом на организм иммунизированных женщин, мы объяснили развитием у них именно реакции «иммунологического усиления». Механизм этого феномена остается неясным, хотя он считается одним из важнейших явлений при иммунологических реакциях и вызывает огромный практический и теоретический интерес.

В настоящее время вместо пересадки кожного локуса предлагается лимфоцитотерапия клетками крови мужа, которая успешно применяется для лечения привычного невынашивания беременности, плацентарной недостаточности.

На сегодняшний день данные об эффективности ЛИТ весьма противоречивы, нет рандомизированных исследований и предлагается этот метод использовать только в рамках научно-исследовательских программ в специализированных Центрах.

По нашим данным, на основании тщательных иммунологических, эндокринологических данных отдаленных результатов относительно матери и ребенка (наблюдения более 20 лет), мы полагаем, что это чрезвычайно эффективный метод терапии привычного невынашивания I триместра, обусловленного НЛФ, пороками развития матки, гипоплазией матки или хроническим эндометритом, при резус- и АВО-сенсibilизации, при совместимости по HLA (используются только лимфоциты от пула доноров).

ЛИТ оказывает эффект при начале терапии с 4-5 недель, эффект продолжается 4 недели (затем можно ЛИТ повторить). ЛИТ оказывает значительный стимулирующий эффект на развитие плаценты, значительно уменьшая случаи плацентарной недостаточности, токсикоза I и II половины беременности, задержки внутриутробного развития.



Противопоказано лечение ЛИТ при аутоиммунных нарушениях и заболеваниях. Донором аллогенных лимфоцитов может быть муж (или другой донор), являющийся практически здоровым лицом, освидетельствованный согласно действующей инструкции о медицинском освидетельствовании доноров. Приказ № 364 от 14.09.2001 г. «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов». Кроме того, помимо обязательных анализов крови: RW, ВИЧ, HBsAg, HCV, мы проводим биохимический анализ крови (билирубин, ферменты АЛТ, АСТ), и только при отрицательных результатах, кровь донора может быть использована для получения лимфоцитов.

Выделение лимфоцитов может быть осуществлено следующим образом:

1. Забор крови — 50–100 мл. В качестве консерванта используют раствор гепарина в физиологическом растворе из расчета 8,0–10,0 ЕД на 1,0 мл крови. Кровь тщательно перемешивают и инкубируют при 37<sup>0</sup>С в течение 1,5–2 часов. После разделения крови на 2 слоя ( верхний — плазма с лимфоцитами и тромбоцитами, нижний — эритроциты) верхний слой переносят в ряд стерильных пробирок по 5–10 мл в каждую и центрифугируют 5–10 мин при 1000–1500 об/мин. Жидкую часть удаляют из пробирки и в нее вносят 5,0–10 мл стерильного физиологического раствора. Осадок клеток тщательно ресуспендируют, после чего вновь центрифугируют 5–10 мин при 1000–1500 об/мин. После центрифугирования жидкую часть удаляют и в пробирку добавляют по 1 мл стерильного физиологического раствора и вновь тщательно перемешивают. Из всех пробирок смесь сливают в одну и вновь центрифугируют 5–10 мин при 1000–1500 об/мин. По окончании центрифугирования жидкую часть удаляют, клетки тщательно перемешивают. В полученной взвеси клеток (лимфоциты + лейкоциты) определяют количество клеток путем визуального подсчета в камере Горяева. В связи с тем, что морфологический контроль состава клеточной взвеси показал наличие в ней 85–95% лимфоцитов, а остальное — лейкоциты, ее называют лимфоцитарной.

В связи с тем, что кровь мужа или донора резус-положительная, отмывание лимфоцитов должно быть очень тщательным. При просмотре в камере Горяева, если есть обрывки эритроцитов, необходимо дополнительное отмывание клеток, либо использование только резус-отрицательной крови, одногруппной с кровью беременной.

2. Для быстрого выделения клеток может быть использован второй способ их выделения. Кровь в количестве 50–100 мл забирают в пластиковый мешок, предварительно заполненный 3 мл 3% раствора ЭДФ Na<sub>2</sub> и 12 мл 18% раствора полиглюкина. Кровь тщательно перемешивают и инкубируют при 37<sup>0</sup>С в течение 60 мин. После разделения крови на два слоя надавливанием руки на стенки мешка верхний слой переводят в пробирки по 5–10 мл, центрифугируют 1000–1500 об/мин в течение 5–10 мин. После центрифугирования жидкую часть удаляют, а осадок подвергают такой же обработке, как указывалось выше. Общее количество клеток должно быть не менее 40 млн (лучше 80–90 млн). Все манипуляции осуществляют с учетом правил асептики и антисептики.

Полученную взвесь вводят подкожно на переднюю часть предплечья в 8–10 точек. После введения контролируем реакцию на ЛИТ: в месте введения ЛИТ должно покраснеть, отмечается припухлость и небольшой зуд. Все эти явления проходят через 5–7 дней. Если нет реакции, то это означает, что скорее всего имеется совместимость по системе HLA. В этом случае, если нельзя проверить HLA, то целесообразнее брать кровь не мужа, а от пула доноров. Через 4 недели ЛИТ следует повторить, местная реакция будет меньше, чем в первый раз — это нормально.

Проведенные исследования показали, что субпопуляционный состав лимфоцитов после ЛИТ практически не изменяется и отмечается повышение уровней ХГ, эстрогенов и прогестерона, трофобластического бета-глобулина, снижение титра антител практически у 75% женщин.

### **Профилактика плацентарной недостаточности**

Учитывая, что тяжесть ГБП может быть обусловлена развитием плацентарной недостаточности, при которой может быть повышен переход антител к плоду, мы рекомендуем всем резус-сенситизированным женщинам профилактику развития плацентарной недостаточности.

Поскольку при ПН происходит нарушение метаболических реакций в организме матери и плода на различных уровнях, следует в общую схему лечения включать препараты, нормализующие процессы биоэнергетики на клеточном уровне и стимулирующие биосинтетические процессы при ПН и хронической гипоксии плода и назначаемые поочередно комплексами.

К препаратам I комплекса относятся кофакторы и субстраты ключевого звена цикла Кребса: тиаминпирофосфат (кокарбоксилаза), рибофлавин мононуклеотид, липоевая кислота, пантотанат кальция,  $\alpha$ -токоферол-ацетат. Лекарственные вещества, входящие во II комплекс метаболической коррекции обладают свойствами, стимулирующими внутриклеточную регенерацию, синтез нуклеиновых кислот и белка, нормализующими процессы ана- и катаболизма на лейкоцитарном уровне (рибоксин, оротат калия), участвуют в регуляции окислительного фосфорилирования, белкового и липидного обменов, повышают защитные и стимулирующие свойства гепатоцитов при ПН (пиридоксальфосфат). Дополнительно к вышперечисленным препаратам назначается троксевазин — препарат, содержащий флавоноиды, являющиеся производным витаминов группы В. Выбор препарата основывался на его свойствах улучшать процессы микроциркуляции на уровне капилляров, участвовать в окислительно-восстановительных реакциях. Кроме того, немаловажное значение имеет антиокислительная способность троксевазина, предохраняющая от окисления аскорбиновую кислоту и адреналин в организме, а также его противовоспалительное действие. При отсутствии возможности индивидуального подбора метаболической терапии, можно воспользоваться усредненным типом терапии, наиболее приемлемой для наших пациентов. Курс метаболической терапии:

**I комплекс** — 5-6 дней с 8-9 по 13-14 день цикла вне беременности. Во время беременности по 5 дней каждый комплекс и перерыв в 10 дней:

- кокарбоксилаза 100 мг 1 раз в/м или бенфотиамин 0,01 3 раза;
- рибофлавин мононуклеотид 1,0 в/м 1 раз в день;
- пантотанат кальция 0,1 3 раза;
- липоевая кислота 0,25 3 раза;
- витамин Е 1 капсула (0,1) 3 раза.

**II комплекс** — с 15 по 22 день цикла:

- рибоксин 0,2 3 раза в день;
- пиридоксальфосфат ( пиридоксин) 0,005 3 раза;
- фолиевая кислота 0,001 3 раза;
- оротат калия 0,5 3 раза до еды;
- витамин Е 1 капсула (0,1) 3 раза.

Несмотря на то, что в комплекс метаболической терапии входит много витаминов, заменить эти комплексы поливитаминами неоднозначно, так как комплексы рассчитаны на восстановление

цикла Кребса, а затем нормализацию окислительно-восстановительных процессов в клетках. При приеме поливитаминов такой последовательности нет. Но мы рекомендуем прием витаминов между комплексами метаболической терапии.

В I триместре беременности помимо курсов метаболической терапии мы применяем препарат актовегин — депротеинизированный гемодиализат, влияющий непосредственно на клеточный обмен путем повышения поступления и утилизации кислорода и улучшения транспорта и утилизации глюкозы. Кроме того, актовегин стимулирует активность ферментов окислительного фосфорилирования. Препарат назначают по 5 мл внутривенно капельно в 5%-м растворе глюкозы 250 мл или в физиологическом растворе через день в количестве 5–7 введений. Побочных явлений при введении актовегина не отмечено. Во II и III триместрах беременности в чередовании с актовегином мы используем инстенон.

Основанием для включения в терапию ПН инстенона послужили данные ряда исследователей о первичном поражении при хронической гипоксии плода его нервных тканей.

Инстенон является комбинированным активатором кровообращения и метаболизма головного мозга и состоит из трех компонентов: этамивана — активатора лимбико-ретикулярных структур мозга, гексабендина — стимулятора анаэробного окисления, этофиллина — препарата, вызывающего оптимизацию метаболизма и способствующего увеличению перфузионного давления в сосудах, не влияя на артериальное давление. Инстенон вводится внутривенно капельно в дозе 2 мл в 250 мл физиологического раствора 1 раз в сутки через день 5 введений. При этом иногда отмечают побочные явления в виде головной боли, тошноты, избежать которых возможно при медленном введении препарата.

При развитии тромбофилических явлений лечение плацентарной недостаточности требует сочетанного применения антиагрегантов и антикоагулянтов (курантила, аспирина, гепарина, низко-молекулярных гепаринов).

## ИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ТЕРАПИИ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЛОДА

В связи с отсутствием эффекта от неспецифической терапии при выраженной сенсбилизации беременной женщины и при определении у плода тяжелой формы гемолитической болезни Liley (1963) предложил применять внутриутробное переливание крови плоду. По

данным Aivey (1969), из 112 технически успешно была проведена 101 операция внутриутробного переливания крови 48 плодам. Из 48 плодов выжили только 11. Операция внутриутробного переливания крови в перитонеальную полость плода в то время определялась как технически сложной, требующей определенных навыков, как со стороны акушера, так и рентгенолога, возможна только под рентгенологическим контролем с использованием электронного преобразователя и телевизионного наблюдения. Но даже и при этом не исключена возможность повреждений плода и тканей матери. По мнению Peddle и соавт. (1973), этот метод лечения позволяет спасти плод от нарастающей анемии и развития универсального отека в явно безнадежных случаях.

В настоящее время ситуация несколько изменилась, так как операция может быть выполнена под контролем УЗИ. Целью всех инвазивных лечебных мероприятий дать возможность плоду дожить до возможного срока родоразрешения, т.е. до срока жизнеспособности. Показанием для внутрибрюшного переливания крови является снижение гематокрита плода менее 30% и плод не достиг зрелости для родоразрешения. При введении донорских эритроцитов в брюшную полость плода, полагают, что в течение 7–10 дней кровь через лимфатические протоки попадает в кровоток плода. Операция осуществляется под контролем УЗИ. Для внутрибрюшного переливания крови выбирается игла 18-го или 22-го калибра в зависимости от срока беременности. Место пункции брюшной стенки матери выбирается так, чтобы игла в брюшную полость плода вошла между нижним краем печени и куполом мочевого пузыря, чтобы уменьшить возможность ранения паренхиматозных органов и крупных сосудов.

По рекомендации А.К.Михайлова и соавт. (1990), для лучшей визуализации кончика иглы в брюшную полость плода вводится небольшое количество воздуха, пузырьки которого хорошо визуализируются при УЗИ. При наличии асцитической жидкости в брюшной полости проводится ее аспирация, затем вводится донорская кровь. Объем эритроцитарной массы вводимой плоду рассчитывают по формуле Bowman (1978):

$$\text{Объем в мл} = (\text{срок беременности в неделях} - 20) \times 10$$

При значительном асците рекомендуется эту величину увеличить на 25%. Введение крови осуществляется перфузором. В начале переливания устанавливают скорость введения 2 мл в минуту, что способствует адаптации плода к изменениям его внутрибрюшинного давления и температуры, обусловленным переливанием. В дальнейшем скорость увеличивается до 5–10 мл/мин.

За состоянием плода осуществляется постоянное кардиомониторное наблюдение. При появлении брадикардии введение крови

приостанавливается до полного восстановления частоты сердцебиения плода, затем инфузию продолжают до полного введения расчетного количества крови. Перфузор останавливают и иглу извлекают, кардиомониторный контроль продолжается в течение 30 минут после операции. Для переливания большинство авторов используют кровь O(I) резус-отрицательную с гематокритом не менее 75%, заготовленную в течение ближайших 48 часов.

Вливания повторяют с интервалом от 7 до 21 дня, с учетом степени тяжести заболевания и уровня гематокрита плода.

Применение средств для ингибирования сократительной деятельности матки зависит от конкретной клинической ситуации. Возможно до операции введение магнезии или свечей с индометацином для расслабления матки. У женщин с инфекционным анамнезом возможно применение антибиотиков. По данным исследований, потери плода от самой процедуры внутрибрюшного переливания крови при каждом переливании составляют 6% и 5% из выживших остаются инвалидами (Berkowitz R., 1980).

### **Внутрисосудистое переливание крови**

Методом выбора терапии тяжелых форм гемолитической болезни является внутрисосудистое переливание крови плоду. Показанием к внутриутробной трансфузии является значительное снижение гематокрита (ниже 25%), гемоглобина (ниже 80 г/л) и появление начальных признаков отека по данным УЗИ.

Для проведения внутрисосудистого переливания используют ту же аппаратуру, что и при внутрибрюшных трансфузиях, используют пункционную иглу 22-го калибра. Пункцировать вену пуповины предпочтительнее в месте ее выхода из плаценты, где меньше вероятность выхода из сосуда в связи с движениями плода. После пункции вены аспирируется небольшое количество крови (2-3 мл) для срочной диагностики. Оценивается уровень гематокрита и при уровне 25% и ниже приступают к переливанию эритроцитарной массы.

Объем крови определяют по величине гематокрита плода, гематокрита крови донора и фетоплацентарного объема крови, соответствующего сроку беременности (Nicolaidis и соавт., 1986). Скорость введения донорской крови в начале переливания соответствует 2 мл/мин, затем при отсутствии реакций плода скорость постепенно увеличивают до 10 мл/мин. При правильном расположении иглы в вене пуповины на эхогомогенном фоне ее просвета в месте пункции можно видеть эхогенные

«завихрения», передвигающиеся по сосуду в направлении от плаценты.

После введения в кровоток плода расчетного количества крови пункционную иглу промывают физиологическим раствором 0,5 мл и затем через 1 мин берут повторно кровь для исследования гематокрита. При эффективной терапии величина гематокрита должна повыситься до 35–45%.

Если гематокрит ниже 35%, проводится дополнительно расчет необходимого количества крови для достижения нужного уровня гематокрита. После извлечения иглы проводят УЗИ и кардиомониторный контроль за состоянием плода в течение 30 минут.

Одним из факторов отека плода при ГБ является гипопроотеинемия. В НИИ им. Отто предложена методика сочетанного переливания отмытых донорских эритроцитов и 20% альбумина в соотношении 1:10 — эритроциты донора O(I) Rh-положительные, что позволяет существенно повысить эффективность лечения плода, особенно при исходных явлениях отека. Большинство исследователей для переливания крови плоду используют резус-отрицательную кровь O(I) группы крови.

Время проведения повторных переливаний зависит от эффективности первого переливания и рассчитывается по времени снижения гематокрита плода до 25%-30% если известно, что за 1 сутки он уменьшается на 1%.

Осложнения при проведении внутрисосудистого переливания связаны с особенностями расположения плода, плаценты, пуповины, «неудобными» для этой операции. Отмечены осложнения, связанные с повышенной активностью плода. Чтобы избежать этих осложнений, рекомендуется введение плоду миорелаксантов. Так, по данным Э.К. Айламазяна (1998), используется недеполяризующий миорелаксант пипекурания (Ардуан). Этот препарат вводят в кровоток плода в дозе 0,1–0,2 мг на 1 кг предполагаемой массы плода. Миорелаксация наступает сразу после введения препарата и продолжается при этой дозировке 40–60 минут.

Оценка осложнений при этой операции довольно сложна, так как она проводится у тяжело больных плодов. Тем не менее считается, что если осложнения возникли в течение ближайших 48 часов после операции, то они связаны с операцией.

Осложнения практически те же, что и при кордоцентезе. Эта операция всегда сопровождается плодово-материнскими трансфузиями, в результате наблюдается увеличение титра антител и утяжеление заболевания (Voto L. и соавт., 1999). Повторные пере-

ливания определяются клинической картиной, уровнем гематокрита у плода. Операция может быть повторена до достижения плодом жизнеспособности и зрелости легких.

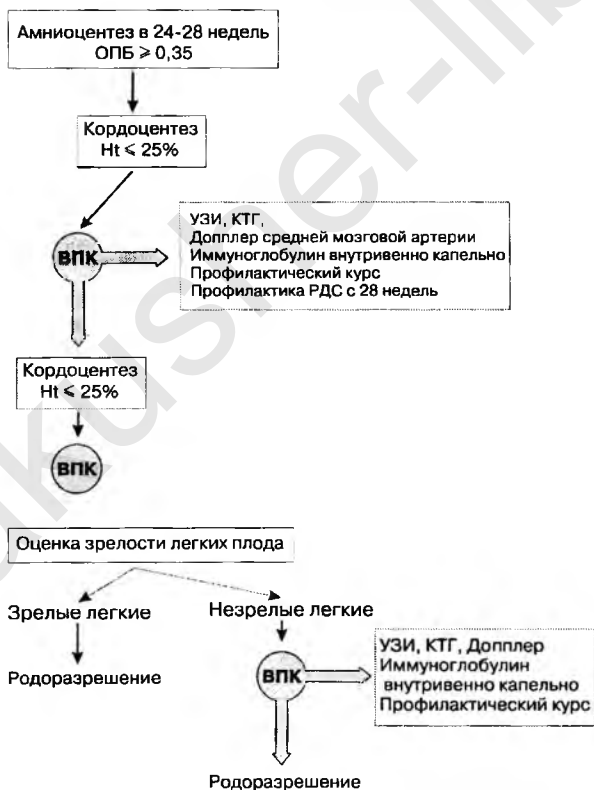
В тяжелых случаях гемолитической болезни Seelen (1969) произвел попытку внутриматочного заменного переливания крови плоду через сосуды плаценты. Успешной операция оказалась только у 3 из 9 женщин, выжил лишь 1 ребенок. В 1986 г. Grannum et al. сообщили о внутрисосудистом заменном переливании крови через пункцию пуповины.

Возможно, что эта методика более успешна, чем просто переливание крови для очень тяжелых плодов, хотя технически она сложнее.

Несмотря на сложности инвазивного лечения, оно позволяет практически в 70–80% наблюдений избежать смертность у очень тяжелых детей.

Схема 2

### Алгоритм ведения при тяжелой форме ГБП





## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян Э.К. Кордоцентез в антенатальной диагностике, терапии и хирургии болезней плода // Вестник РАМН.-1998.-1.-С.6-11.
2. Василева И.А. К изучению антигистаминного препарата цитраль при изо-сенсibilизации организма беременной // Акуш. и гинек. 1959.-1.-24с.
3. Волкова Л.С. Иммунобиологические взаимосвязи организма матери и плода // В кн. «Теоретические и практические аспекты иммунологии беременности». М.,-1973.-С.28-43.
4. Михайлов А.В., Константинова Н.М. , Пигина Т.В. Внутриматочные переливания крови плоду как способ лечения отечной формы гемолитической болезни //Акуш. и гинек.,-1990.-№7.-С.41-44.
5. Персианинов Л.С., Сидельникова В.М. Профилактика резус-сенсibilизации и лечение гемолитической болезни в антенатальном периоде // В кн. «Теоретические и практические аспекты иммунологии репродукции» М.,-1973.-С.96-111.
6. Попиванов Р. Профилактика гемолитической болезни новорожденных // Сов.мед.-1955.-2.-С.49-52.
7. Розина И.В., Шуваева Б.А., Иванов Л.В. Развитие детей, родившихся от изосенсibilизированных матерей, получивших в период беременности гаммаглобулин // В кн. «Вопросы изосерологии и иммуногематологии», Л.,-1972.-С.79-81.
8. Соловьева Т.Г. Значение резус-фактора в клинической практике //Докт. Дисс...Л.,-1956.
9. Шуваева Б.А. Ингибиторная терапия резус-конфликта // Автореф. канд. дисс... Смоленск.-1971.
10. Alvey J.P. Obstetrical management of Rh incompatibility based on liguro amnii studies // Am.J.Obstet. Gynecol.-1964.-90.-6.-769-775.
11. Bardawill W. et al. Behavior of the skin homografta in human pregnancy // Am.J.Obstet.Gynecol.-1962.-84.-10.-1283-1299.
12. Berkowitz R. Intrauterine transfusion. Antepartum symposium on high-risk pregnancy // Clin Perinatal. - 1980.-7.-2-9.
13. Berlin G., Selbing A. Rhesus haemolytic disease treated with high-dose intravenous immunoglobulin // Lancet.-1985.-1(8438).-1153.
14. Bierne S., Blanc M. et al. Desensitization by oral antigen // In.: Rh Hemolytic Disease Boston. GK Hall Pull.-1982.-249-267.
15. Bowman J. , Chown J. et al. Rh-immunization during pregnancy: antenatal prophylaxis // Can.Med. Assoc.J.-1978.-118.-623-627.
16. Bowman J., Peddle L., Anderson G. Plasmapheresis in severe Rh-iso-immunization //Vox.Sang.-1968.-15.-272-277.
17. Brambell F., Hemmings W. The relative transmission of the fraction of papain hydrolyzed homologous gammaglobulin from the uterine cavity to the fetal circulation in the rabbit // Proc.R.Soc.Ser.B.-1960.-151.-478-482.
18. Contractor S., Eaton B., Stannard P. Uptake and fate of exogenous immunoglobulin G in the perfused human placenta // J.Reprod. Immunol.-1983.-5.-273-278.
19. Dooren M., Kuijpers R. et al. Protection against immune haemolytic disease of newborn infants by maternal monocyte-reactive IgG alloantibodies ( anti-HLA-DR) // Lancet.-1992.-339.-1067-1070.

20. Gitlin D., Kumate J. et al. The selectivity of the human placenta in the transfer of plasma proteins from mother to fetus // *J.Reprod. Immunol.*-1983.-5.-265-273.
21. Grannum P., Copel J. et al. In uterus exchange transfusion by direct intravascular injection in severe erythroblastic // *N. Eng.J.Med.*-1986.-314.-1431-1434.
22. Gottvall T., Selbing A. Alloimmunization during pregnancy treated with high dose intravenous immunoglobulin. Effects on fetal hemoglobin concentration and anti-D concentration in the mother and fetus // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*-1995.-Now.-74(10).-777-783.
23. Hadley A.G. A comparison of in vitro tests for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn // *Vox. Sang.*-1998.-74 Suppl.2.-375-388.
24. Liley A.W. Intrauterine transfusion of foetus in haemolytic disease // *Brit.Med.J.*-1963.-2.-1107.
25. Neppert J., Witzleben-Schurholz E. et al. High incidence of maternal HLA A, B, and C antibodies associated with a mild course of haemolytic disease of the newborn. Group for the study of protective maternal HLA antibodies in the clinical course of HDN // *European J. Hlmatol.*-1999.-63(2).-120-125.
26. Nicolades K.H., Rodeck C.H. et al. Have Liley charts outlived their usefulness // *Am.J. Obstet. Gynecol.*-1986.-155.-90-94.
27. Peddle L.J., Shan C.M. et al. Переливание крови внутриутробному плоду. Анализ 200 наблюдений // Тезисы докл. VII Международного Конгресса акуш. и гинек., М. - 1973.-204.
28. Potter E.L. Its relations to congenital hemolytic disease and to intragroup transfusion reactions // *Chicago.*1947.
29. Rewald E. цитировано по Voto L., // *Margulies.*-1999.
30. Rubinstein P. Repeated small volume plasmapheresis in the management of hemolytic disease of the newborn // *Un: Rh-Hemolytic Disease.* Boston GK Hall Publishers.-1982.-211-221.
31. Seeltn J.C. Intra-Uterine exchange transfusion via a placental chorionic vessel // В кн.: *Perinatal Medicine. 1-st Europen Congress.* Berlin.,-1969.-P.72-73.
32. Shepard S., Noble A. et al. Inhibition of the monocyte chemiluminescent response to anti-B sensitized red cells by Fc gamma R1-blocking antibodies the severity of haemolytic disease of the newborn // *Vox. Sang.*-1996.-70(3).-157-163.
33. Ulm B., Ulm M. et al. Twenty-Four cordocentesis in one women // *Fetal diagnosis and therapy.*-1999.-14.-5.-283-285.
34. Voto L., Margulies M. Perinatal Rh hemolytic disease: screening, treatment and personal experience // В кн. «Fetal Medicine» ed. F.Chervenak, A. Kurjak ., Parthenon Publishing Group. New.York., London.1999.-279-287.
35. Voto L.S. et al. High-dose gammaglobulin (JVIG) followed by intrauterine transfusions (JUTs): a new alternative for the treatment of severe fetal hemolytic disease // *J. Prenatal.Med.*-1997.-25.-85-88.
36. Wiener A., Soon E. Pathogenesis of congenital hemolytic disease (Erythroblastosis fetalis) // *Am.J.Dis.Child.*-1946.-71.-25-45.

При подготовке к беременности женщин с резус-сенсibilизацией помимо общего клинического обследования, исключения урогенитальной инфекции целесообразно определение:

- группы крови супругов (при АВО-несовместимых группах крови прогноз для ГБП более благоприятный, чем при совместимых группах крови);
- генотипа крови мужа по D гену или, если нет такой возможности, фенотипа крови по резус-антигенам D, C, E, e, с и вероятность рождения ребенка с резус-отрицательным типом крови (при гетерозиготном типе крови отца Dd половина детей будет иметь резус-отрицательный тип крови dd, во всех остальных случаях кровь плода будет резус-положительной гетерозиготной Dd).

\*

\* \*

При титре антител — 1:32 провести плазмаферез (число сеансов определяется уровнем антител, так как после 2–3 сеансов титр может остаться тем же или быстро восстанавливаться, так как антитела вымываются из тканей).

Беременные женщины, с резус-сенсibilизацией с титром антител ниже 1:16 и не имеющие в анамнезе больных гемолитической болезнью детей, могут наблюдаться в женской консультации с обычным алгоритмом ведения беременных. Отличительной особенностью является контроль титра антител с момента взятия на учет ежемесячно до 30 недель, затем каждые 2 недели до родоразрешения.

Целесообразно проведение курсов профилактики, раньше мы называли это курсами десенсибилизирующей терапии. Десенсибилизации практически не было, а терапия была направлена на снижение степени гипоксии, общеукрепляющая терапия, комплексы витаминов.

В настоящее время под курсами профилактики мы понимаем профилактику активации вирусной инфекции, при которой увеличивается проницаемость плаценты и профилактику плацентарной недостаточности.

Для профилактики активации вирусной инфекции, особенно в том случае если пациентка — носительница вирусов простого герпеса, цитомегаловируса, вирусов Коксаки А и В мы используем в I триместре иммуноглобулин для внутривенного применения неспецифический в дозе 25–50 мл через день, три раза. Если пациентка располагает средствами, то октагам в дозе 2,5–5 г 2–3 раза через 2 дня и комплексы метаболической терапии. Во II триместре в 22–24 нед и в III триместре перед родами мы повторяем этот комплекс, добавляя на курс виферон-2 свечи ректальные №10. Применение иммуномодуляторов (в частности, имунофана) при резус-конфликтной беременности нецелесообразно, так как возможно увеличение титра антител.

Одновременно с курсом профилактики активации вирусной инфекции проводим курс профилактики плацентарной недостаточности применением в I триместре актовегина по 5,0 мл в 200,0 мл физиологического раствора внутривенно капельно № 5. Во II и III триместрах — актовегин 5,0 мл в чередовании с инстенонем 2,0 мл в 200,0 мл физиологического раствора внутривенно капельно по 5 капельниц каждого препарата. Инстенон следует вводить медленно, так как может быть головная боль.

С 24 нед необходим более тщательный контроль состояния плода: ультразвуковое исследование с обращением особого внимания на ранние признаки гемолитической болезни — увеличение толщины, объема плаценты, повышение в динамике количества околоплодных вод.

Целесообразна оценка доплерометрии особенно в средней мозговой артерии плода. Если скорость кровотока в сосуде в пределах гестационной нормы, то анемии у плода нет.

В 34 нед — оценка КТГ плода.

При благоприятных данных и при постоянном низком титре антител нет необходимости в проведении инвазивных диагностических тестов при условии, что у пациентки это первая беременность, протекающая в условиях резус-сенсбилизации.

В настоящее время в Центре налажена методика определения D-гена плода по клеткам плода в материнском кровотоке, по клеткам амниона при генетическом амниоцентезе. Большого опыта пока нет, но первый опыт весьма перспективен, так как

позволяет выделить из группы сенсibilизированных женщин тех, у кого плод имеет резус-отрицательный тип крови. В таком случае они наблюдаются как все другие беременные женщины, а женщинам, имеющим плод с резус-положительным типом крови, проводится комплекс диагностических и лечебно-профилактических мероприятий.

Женщины без отягощенного ГБП анамнеза, с низким титром антител и нормальными параметрами оценки состояния плода могут быть родоразрешены при доношенной беременности. При рождении у ребенка определяется группа крови, резус-принадлежность, проба Кумбса, уровень гемоглобина, гематокрита, билирубина и при необходимости проводится весь комплекс лечебно-профилактических мероприятий.

Если при наблюдении беременной резко возрос титр (не менее чем на 2 разведения) и плод достиг 36 нед беременности, целесообразно родоразрешение в 36-37 нед, так как можно ожидать развитие у ребенка легкой или средней тяжести ГБ.

Если в анамнезе были дети с ГБ, то при любом титре антител ведение беременности определяется инвазивными методами оценки состояния плода.

При гетерозиготной крови мужа возможна ранняя диагностика резус-принадлежности плода при биопсии хориона или при генетическом амниоцентезе. Специально для определения гена D плода инвазивные методы мы не используем, так как при этом всегда есть шанс увеличить титр антител и тяжесть гемолитической болезни за счет плодово-материнских трансфузий. D ген плода можно определить в крови матери.

Лечебные мероприятия в I триместре проводятся аналогично тому, как они проводятся в группе резус-сенсibilизированных женщин без отягощенного анамнеза. Проводится профилактика активации вирусной инфекции, профилактика плацентарной недостаточности. При высоком титре антител и тяжелом анамнезе мы рекомендуем проводить плазмаферез по 3-5 процедур на курс лечения с I триместра беременности 3-4 курса за беременность.

После плазмафереза в особо тяжелых случаях проводится терапия иммуноглобулином — октагам по 5 г ежедневно 3-4 дня с повторением этого курса после каждого плазмафереза. Если есть возможность, то доза иммуноглобулина составляет 0,4 г на 1 кг массы пациентки. Эта доза вводится в 3-4 дня и курс повторяется каждый месяц, особенно при росте титра антител. В 28 нед проводится амниоцентез, но если в анамнезе была гибель плода

раньше этого срока, то проводится амниоцентез за 2 недели до срока гибели плода, если есть возможность для внутриутробного переливания плоду крови.

Дальнейшая тактика определяется оценкой околоплодных вод, уровнем билирубина в околоплодных водах, степенью предполагаемой анемии у плода, степенью зрелости плода.

При оптической плотности билирубина ( $ОПБ_{450nm}$ ) до 0,2 предполагается наличие у плода гемолитической болезни легкой или средней тяжести (по карте Liley's зона А или В — нижний уровень) необходим повторный амниоцентез через 3 недели. При этом следует провести профилактику респираторного дистресс синдрома плода, назначением дексаметазона. Возможно введение иммуноглобулина, повторный курс актовегина с инстеноном.

При нарастании  $ОПБ_{450nm}$  выше 0,20 до 0,35 (по карте Liley's В зона) предполагается тяжелая форма ГБП. Необходимо одновременно с  $ОПБ_{450nm}$  определить степень зрелости легких плода и, если они зрелые, целесообразно досрочное родоразрешение. Если легкие плода незрелые, провести профилактику РДС. Амниоцентез провести через неделю. Если не меняется уровень  $ОПБ_{450nm}$ , вновь повторить амниоцентез через неделю. В этот период времени целесообразно введение иммуноглобулина, актовегина, инстенона. Дополнительно провести диагностические мероприятия: УЗИ, доплерометрия средней мозговой артерии плода, КТГ плода. Если уровень  $ОПБ_{450nm}$  остается на постоянном, высоком уровне — 0,2-0,35, то показано родоразрешение при достижении зрелости легких плода. Следует отметить, что после применения дексаметазона отмечается снижение  $ОПБ_{450nm}$  путем механизма, не имеющего ничего общего с гемолитическим процессом. Поэтому снижение  $ОПБ$  после дексаметазона не означает улучшение процесса гемолиза у плода.

При  $ОПБ_{450nm}$  выше 0,35 до 0,7 (или III зона по карте Liley's) у плода тяжелая форма гемолитической болезни. Если срок беременности не позволяет провести досрочное родоразрешение из-за незрелости плода, показано внутриутробное переливание крови плоду интраперитонеально или, предпочтительнее, через кордоцентез, если расположение плаценты, пуповины и плода позволяют сделать эту процедуру. В зависимости от тяжести состояния плода переливание крови следует повторять, имея в виду, что уровень гематокрита плода снижается на 1% за сутки.

Между переливаниями крови необходим ежедневный контроль состояния плода (КТГ, доплер средней мозговой артеии). При до-

стижении плодом зрелости показано родоразрешение. При тяжелых случаях ГБП после интраперитонеального или внутрисосудистого переливания крови плоду целесообразно родоразрешение путем операции кесарева сечения. В остальных случаях возможно родоразрешение через естественные родовые пути.

При зрелой шейке матки мы начинаем родоразрешение с амниотомии. Через 2–3 часа после амниотомии, если не развивается самостоятельно родовая деятельность, начинаем родовозбуждение с сочетанного применения окситоцина 2,5 ЕД с простагландином  $F_{2\alpha}$  2,5 г в физиологическом растворе 400,0 мл внутривенно капельно с 10–16 капель в минуту до появления регулярной родовой деятельности.

При недостаточно зрелой шейке матки родовозбуждение проводится после предварительного введения простагландина  $E_2$  (динопростона) в шейку матки (0,5 мг в 2 мл геля) или в задний свод влагалища в дозе 4 мг в 3 мл геля. Введение в шейку матки более эффективно для созревания шейки матки, но возможно преждевременное излитие вод, когда шейка еще не достигла зрелости для родовозбуждения.

В последние годы для подготовки шейки матки к родам используют простагландин  $E_1$  аналог (мизопропрост) этот препарат может быть использован в виде таблетки для приема per os и в виде вагинального геля. По данным многих рандомизированных исследований, этот препарат более эффективен и с меньшими побочными эффектами простагландинов готовит шейку матки к родам.

Возможна подготовка шейки матки введением ламинариев в цервикальный канал.

При достижении шейки зрелости, проводится родовозбуждение амниотомией, особенно если есть многоводие, с последующим введением окситоцина с простагландином.

Родоразрешение женщин с резус-сенсibilизацией должно проводиться в перинатальных Центрах, где есть возможность проведения диагностических процедур, лечения плода и новорожденного не только в связи с гемолитической болезнью, но и в связи с возможной незрелостью.

При лечении гемолитической болезни новорожденных любого генеза (резус-несовместимость, конфликт по системе АВО или по редким факторам Келл, Даффи, М, S и др.) необходимо решать две основные задачи: недопущение токсических концентраций непрямого билирубина в крови, чтобы избежать поражения ядер головного мозга, т.е. ядерной желтухи, приводящей к тяжелой инвалидности, и своевременную коррекцию анемии.

На сегодня с позиции доказательной медицины можно выделять три эффективных метода лечения непрямой гипербилирубинемии, обусловленной гемолитической болезнью новорожденного:

1. Заменное переливание крови.
2. Фототерапия.
3. Внутривенное введение стандартных иммуноглобулинов.

### **ЗАМЕННОЕ ПЕРЕЛИВАНИЕ КРОВИ**

Операция заменного переливания крови, при которой из организма ребенка выводят свободные резус-антитела и билирубин, является одним из эффективных методов лечения, особенно при тяжелой форме гемолитической болезни у новорожденных.

При резус-конфликтной беременности увеличение титра антител до 1:16 и выше должно насторожить неонатолога в отношении гемолитической болезни у новорожденного. При этом, если к концу беременности титр антител в крови у матери падает, можно ожидать тяжелой формы болезни у ребенка, поскольку в этом случае вполне вероятно перемещение антител из организма матери в организм ребенка.

При тяжелых формах гемолитической болезни уже при рождении можно обнаружить ряд симптомов: желтушное прокрашивание пуповины и сыровидной смазки, бледность и желтушность кожных покровов, пастозность или отечность подкожной клетчатки, увеличение печени и селезенки.

В этих случаях, как правило, уровень билирубина в пуповинной крови превышает 60 мкмоль/л, а содержание гемоглобина



снижается менее 100 г/л. Если уровень билирубина в пуповинной крови не превышает 60 мкмоль/л, то необходим последующий почасовой контроль за его приростом, который у доношенных новорожденных не должен превышать 5 мкмоль/л/час. В противном случае это еще один аргумент в пользу заменного переливания.

При отсутствии факторов, способствующих билирубиновой энцефалопатии, к концу первых суток жизни критический уровень билирубина в крови превышает 180 мкмоль/л, в возрасте 48 часов — 300 мкмоль/л, а через 72 часа после рождения — 340 мкмоль/л.

Однако при наличии факторов риска поражения мозга при гипербилирубинемии опасной становится концентрация билирубина в конце первых суток жизни более 150 мкмоль/л, в конце вторых суток — 230 мкмоль/л и в конце третьих — 240 мкмоль/л при резус-несовместимой гемолитической болезни и 280 — при гемолитической болезни по несовместимости по системе АВО.

К факторам риска билирубиновой энцефалопатии относятся: масса тела при рождении менее 1500 г, тяжелая асфиксия при рождении, гипопропротеинемия (общий белок сыворотки крови менее 50 г/л), гипогликемия (менее 2,2 ммоль/л), анемия при рождении (гемоглобин менее 140 г/л), появление желтухи в первые 5 часов жизни при резус-конфликте и в первые 12 часов жизни при АВО-конфликте, инфекции.

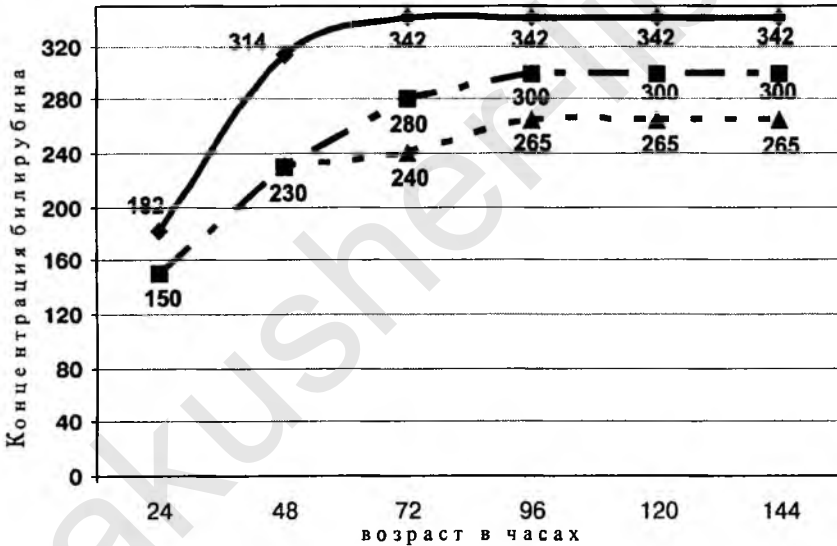
При резус-конфликте негативное значение имеют также гемотрансфузии в анамнезе у матери, гемолитическая болезнь новорожденных у предыдущих детей в семье, осложненное течение беременности (инфекционные, соматические заболевания, длительный гестоз).

Ориентиром к проведению заменного переливания крови может служить специальная шкала ( Н.П. Шабалов, И.А. Лешкевич) (рис. 27).

Недоношенные дети, особенно с очень низкой и экстремально низкой массой тела, наиболее страдают от билирубиновой интоксикации. Поэтому максимальные уровни билирубина в сыворотке крови, являющиеся показанием к заменному переливанию крови, имеют более низкие значения по сравнению с доношенными детьми (табл. 31).

**Максимальные уровни билирубина в сыворотке крови в мкмоль/л, являющиеся показанием к ЗПК, по данным разных авторов**

Масса тела в г при рождении	Авторы			
	Берман Р.Е.,	Клигман Р.М.,	Эжухаган С.,	Ньюман К.
	Неосложненное течение болезни	Отягощение факторами риска	Неосложненное течение болезни	Отягощение факторами риска
1000	204	204	--	--
100-1249	221	221	222	171
1250-1499	255	221	257	222
1500-1999	289	255	291	257
2000-2499	306	289	308	291
2500 и более	--	306	342	308



**Рис. 27. Шкала показаний к заменному переливанию крови.**

Верхняя линия – величины концентрации билирубина, при которых необходимо делать заменное переливание крови у детей с отсутствием факторов риска билирубиновой энцефалопатии при Rh и ABO конфликте.

Средняя и нижняя линии – величины концентрации билирубина, при которых необходимо заменное переливание крови у детей с наличием факторов риска билирубиновой энцефалопатии при ABO и резус-конflikте соответственно.

Следующим этапом является определение необходимой для переливания крови и проведение проб на совместимость.

При резус-конфликте для ЗПК целесообразно использовать одногруппную с реципиентом или 0(1) группы резус-отрицательную эритромассу и плазму одногруппную или АВ (IV) группы.

При конфликте по системе АВО применяют эритромассу 0(1) группы, суспензированную в плазме АВ(1У) группы.

Однако необходимо помнить, что смешивание двух компонентов крови вдвое увеличивает риск передачи вирусных инфекций (цитомегаловирус, ВИЧ и др.), поскольку эти клеточно-ассоциированные вирусы находятся внутри интактных донорских лейкоцитов. Так, цитомегаловирус присутствует у 50% доноров в латентной форме. При попадании лейкоцитов с переливаемыми препаратами крови вирус передается реципиенту и может вызвать заболевание и нарушение в иммунной системе. Аналогичным образом могут передаваться и другие клеточно-ассоциированные вирусы. Поэтому на современном уровне обязательным условием является использование лейкоцитарных фильтров при трансфузии крови и ее компонентов.

При несовместимости крови по редким факторам проводят индивидуальный подбор донора.

При современных методах консервации и фильтрации срок хранения крови для новорожденных не должен превышать 5 суток. Гематокрит эритроцитарной массы должен быть не менее 70%.

Подогревание донорской крови до 37 °С особенно важно при ее использовании у детей с низкой массой тела при рождении.

Операция заменного переливания проводится в асептических условиях в отделении интенсивной терапии.

Во время операции должен быть обеспечен мониторный контроль за частотой сердцебиений, дыхания, артериальным давлением, насыщением гемоглобина кислородом. Перед началом операции пациенту вводится назогастральный зонд, проводится очистительная клизма.

Заменное переливание производят через пупочную вену с помощью полиэтиленового катетера. Глубина введения катетера зависит от массы тела пациента. Так, при массе тела более 2500 г катетер вводится на глубину 8 см, при массе тела от 2001 до 2500 г — на 7 см, от 1501 до 2000 г — на 5 см.

Обязательно проводится проба на совместимость.

Расчет объема для заменной трансфузии.

$V$  общий =  $m \times \text{ОЦК} \times 2$ ,  
где  $V$  - объем,  $m$  - масса тела в кг, ОЦК - объем циркулирующей крови (для недоношенных — 100-110, для доношенных — 80-100 мл/кг).

Пример: ребенок массой тела 3 кг.

1. Общий объем ( $V$  общ.) =  $3 \times 85 \times 2 = 510$  мл.

2. Абсолютный объем эритроцитов ( $V$  абс.), необходимый для получения  $Ht$  50%  $V$ общий :  $2 = 510 : 2 = 255$ мл.

3. Фактический объем эритроцитарной массы ( $V$  эр. массы) =  $V$ абс. : 0,7 (примерный  $Ht$  эритроцитов) =  $255 : 0,7 = 364$  мл.

4. Фактический объем свежезамороженной плазмы =  $V$ общ. -  $V$ эр. массы =  $510 - 364 = 146$  мл.

Вначале через катетер выпускают 10 мл крови, которую используют для определения концентрации билирубина. Затем вводят такой же объем донорской крови со скоростью 3-4 мл/мин.

Введение и выведение крови чередуются объемом 20 мл у доношенных и 10 мл у недоношенных детей. Объем одной эксфузии-инфузии не должен превышать 5-10 % ОЦК. Общая продолжительность операции составляет около 2-х часов.

В конце трансфузии с целью коррекции анемии вводят на 50 мл больше крови, чем выводят. После замены каждые 100 мл крови вводят 1 мл 10% кальция глюконата.

После операции необходимо провести общий анализ мочи и через два часа по окончании трансфузии определить концентрацию глюкозы в крови.

Коррекцию метаболического ацидоза целесообразно проводить 4% раствором гидрокарбоната натрия, если рН крови менее 7,25. Объем 4% раствора гидрокарбоната натрия рассчитывается по формуле:

$$4\% \text{ раствор гидрокарбоната натрия} = \frac{\text{ВЕ} \times \text{масса тела в кг}}{4},$$

где ВЕ — дефицит оснований. Непременным условием, при котором используется указанный препарат, является адекватная легочная вентиляция.

Коррекция гипогликемии (уровень глюкозы в крови ниже 1,7 ммоль/л) начинается с внутривенного введения 20% раствора глюкоза в дозе 2-4 мл/кг со скоростью 1 мл/мин. По мере ликвидации гипогликемии концентрацию глюкозы необходимо уменьшить до 10% и вводить ее капельно из расчета 10-30 мл/кг под контролем ее уровня в крови. В случае упорной гипогликемии показано введение гидрокортизона по 5 мг/кг каждые 12 часов до полной коррекции.

Вопрос о повторном заменном переливании решается в зависимости от часового прироста концентрации билирубина. Показанием к повторному переливанию служит почасовой прирост свыше 5 мкмоль/л у доношенных и 1,7 мкмоль/л у недоношенных новорожденных,

При отечной форме гемолитической болезни операция заменного переливания крови имеет ряд особенностей.

Во-первых, заменное переливание производится эритроцитарной массой O (I) Rh (-) без плазмы.

Во-вторых, помощь пациенту одновременно оказывают два врача. Один решает дыхательные проблемы, второй катетеризирует пупочную вену и проводит заменное переливание.

Очень важно начать заменное переливание в первые минуты жизни. Вначале выводится 40–50 мл крови и вводится столько же эритроцитарной массы. Последующие объёмы выводимой крови и вводимой эритроцитарной массы составляют 10–20 мл. Общий объём эритроцитарной массы составляет 70 мл/кг массы тела.

Затем проводится контроль содержания гемоглобина у пациента и в зависимости от его величины продолжают или завершают операцию.

При гемоглобине менее 10 г/л переливание продолжается, а общий объём эритроцитарной массы должен быть увеличен до 170 мл/кг. Важным является то, что эритроцитарная масса вводится уже с плазмой.

При значениях Hb от 8 г/л до 10 г/л — 1 часть плазмы и 4 части эритроцитарной массы; при Hb от 10,1 г/л до 12 г/л — 1 часть плазмы и 3 части эритроцитарной массы; при Hb от 12,1 г/л до 15 г/л — 1 часть плазмы и 2 части эритроцитарной массы.

При отсутствии готовой к переливанию эритроцитарной массы следует вывести 40–50 мл крови, ввести медленно струйно маннитол из расчета 1 г/кг массы тела, после чего приступить к операции заменного переливания, по выше описанной методике. Антенатально выявленная отечная форма гемолитической болезни является показанием для преждевременного родоразрешения. В этих случаях нередко гемолитическая болезнь сочетается с проблемами, характерными для недоношенных детей — синдромом дыхательных расстройств, пери- и интравентрикулярными кровоизлияниями, острой почечной недостаточностью и т.д. Терапия при этом должна проводиться по общим правилам реанимационно-интенсивной помощи, включая искусственную вентиляцию легких в режимах,

позволяющих поддерживать газовый гомеостаз, эндотрахиальное введение сурфактантов, коррекцию гиповолемии, кардиотоники, частичное или полное парентеральное питание, охранительный режим.

Безусловно, что заменное переливание крови является наиболее эффективным способом быстрого удаления из организма новорожденного токсических продуктов гемолиза, главным образом непрямого билирубина, а также антител, способствующих продолжению гемолитического процесса.

Однако необходимо помнить и о возможных осложнениях.

**Сердечные** — острая сердечная недостаточность при быстром введении больших количеств крови и развитии гиперволемии, сердечные аритмии и остановка сердца из-за гиперкалиемии, гипокальциемии или избытка цитрата крови.

**Сосудистые** — воздушные эмболы (благодаря отрицательному давлению в пупочной вене при активном отсасывании крови и других нарушениях технологии — малый диаметр катетера и широкая вена, что может привести к проникновению воздуха между стенками сосуда и катетера), тромбозы воротной вены из-за травмы сосудов катетером, перфорация сосуда.

**Инфекционные** — вирусные, протозойные и бактериальные инфекции.

**Язвенно-некротический энтероколит** — (из-за ишемии) без или с перфорацией кишечника.

**Анемия** — механическая, термическая травма эритроцитов, гемолиз антителами.

**Геморрагический синдром** вследствие тромбоцитопении, дефицита прокоагулянтов, избыточной гепаринизации.

**Метаболические** — гипогликемия, ацидоз, гиперкалиемия, гипокальциемия.

**Трансфузионные осложнения** — внутрисосудистый гемолиз при неправильном подборе донорской крови (лихорадка, гематурия, острая почечная недостаточность, шок).

Самое тяжелое осложнение — **летальный исход**. В современных условиях составляет менее одного процента (Cochran W.D., 1978).

При решении вопроса о проведении заменного переливания крови всегда возникает дилемма между угрозой билирубиновой энцефалопатии и риском смерти, хотя и относительно низким, от самой операции. На сегодня чаша весов склоняется в пользу предупреждения билирубиновой энцефалопатии.

И это сопровождается поиском альтернативных методов активного удаления из кровяного русла непрямого билирубина и антител, вызывающих гемолиз эритроцитов.

Речь прежде всего идет о плазмаферезе и гемосорбции.

Г.И. Савельева и Н.С. Сергиенко проводили операцию гемосорбции с применением маятникообразных систем, состоящих из колонки (стеклянный флакон емкостью 100 мл для переливания крови) с адсорбентом, соединительных трубок и системы разового применения для гемотрансфузий. С целью уменьшения сорбции форменных элементов крови применяли альбумирование активированного угля. Продолжительность гемосорбции у новорожденного составляет 40–60 минут, скорость 10–20 мл/мин, количество очищенной крови 2–4 объёма циркулирующей крови при использовании 1–2 колонок. Гемосорбция эффективно устраняет ацидоз и гипербилирубинемия, а её результаты сравнимы с результатами заменного переливания крови.

Однако ни плазмаферез, ни гемосорбция не показали своего преимущества перед заменным переливанием крови, а степень их инвазивности особенно для недоношенных детей остается достаточно высокой.

Поэтому на протяжении более, чем полувековой истории активного лечения гемолитической болезни у новорожденных было испробовано много различных консервативных методов, включая медикаментозные. Для назначения их всегда находились теоретические предпосылки.

Довольно длительное время считали, что происхождение непрямого гипербилирубинемии при гемолитической болезни новорожденных связано исключительно с интенсивным гемолизом эритроцитов. Однако отсутствие параллелизма между увеличением концентрации билирубина в сыворотке крови и снижением концентрации гемоглобина заставило предположить, а в дальнейшем и подтвердить, что в происхождении гипербилирубинемии большое значение имеет незрелость ферментной системы печени. Схематически процесс образования билирубина может быть представлен следующим образом: гемоглобин — гемические пигменты — свободный (непрямой) билирубин. В клетках печени свободный билирубин при участии глюкуронилтрансферазы связывается с уридин-дифосфоглюкуроновой кислотой и превращается в билирубин диглюкуронид или прямой билирубин. Предполагают наличие двух механизмов захвата билирубина из внеклеточной среды: через альбуминовый рецептор или напрямую. Транспорт в эндоплазматический ретикулум облегчается комплексообразованием с лигандином,

но может иметь место и прямой переход «мембрана к мембране». Водорастворимый конъюгированный (прямой) билирубин может экскретироваться в желчь и выводиться из организма.

Учитывая информацию о метаболизме билирубина, проводились многократные попытки воздействия на него с помощью различных медикаментов. В частности в 70–80-е годы прошлого столетия довольно широко применяли фенobarбитал, принимая во внимание, что он оказывает влияние на обмен билирубина путём увеличения концентрации лигандина в клетках печени, индуцирования синтеза глюкуронилтрансферазы и улучшения экскреции билирубина. Однако поскольку эффект от применения фенobarбитала наступает обычно через 3–7 дней, этот препарат бесполезно использовать в лечении непрямой гипербилирубинемии у новорожденных детей (Т.Л.Гомелла, М.Д. Каннигам, 1995).

В литературе имеются сообщения о положительном эффекте применения при непрямах гипербилирубинемиях у новорожденных калия оротата, витамина Е, зиксорина, Д-пеницилламина (купренила) и других препаратов. Однако в рандомизированных исследованиях не была доказана эффективность этих назначений.

Обнадеживающим поначалу было применение при непрямой гипербилирубинемии у новорожденных оловянного протопорфирина (железо в протопорфириновом кольце гема замещено оловом), поскольку препарат ингибирует активность гемоксигеназы — фермента, расщепляющего тетрапиррольное кольцо гема и превращающего гем в биливердин. Несмотря на то, что по сравнению с контролем у новорожденных с гемолитической болезнью по АВО-несовместимости гипербилирубинемия была выражена значительно меньше, у 20% пациентов отмечена транзиторная эритема кожных покровов, т.е. возникла фотосенсибилизация. Если удастся получить металлопротопорфирины, в которых железо замещено на хром или магний, не обладающие фотосенсибилизирующим эффектом, то не исключено, что возможности консервативной терапии непрямой гипербилирубинемии будут расширены.

## ФОТОТЕРАПИЯ

Фототерапия, как метод лечения, впервые была использована в 1958 году, когда Cremer с соавторами обнаружил, что при облучении *in vitro* светом сыворотки крови желтушного новорожденного происходит распад находящегося в ней билирубина.

Суть метода заключается в том, что для снижения уровня неконъюгированного билирубина и уменьшения его кишечнo-пече-



ночной циркуляции в организме новорожденного его тело подвергают воздействию излучения ламп, спектр испускания которых частично соответствует спектру поглощения билирубина.

Как известно, желтая окраска билирубина связана с наличием в нем полосы поглощения света в синей области спектра с максимумом на длине волн 460 нм. Современные светогалогенные и флуоресцентные лампы («синие», «специально синие», «зеленые», «белые», «золотистые») обладают широким спектром действия, хотя для эффективного разрушения билирубина было бы достаточно монохроматического источника света, соответствующего максимуму поглощения билирубина (табл. 32).

Таблица 32

### Спектральный пик ламп различного света для фототерапии

Тип света	Спектральный пик в нанометрах
Дневной свет, холодный белый	550-600
Специальный синий свет	420-480
Зеленый свет	535

До настоящего времени нет единого мнения о том, какие источники лучше использовать для светолечения. Одни авторы предлагают облучать детей «синим» светом (Antony F. et al., 1980; Kaplan E. et al., 1971), другие — «зелёным» (Ayyash H., 1987; Kirsten J. et al., 1988), третьи — чередованием ламп различного света (Ayyash H. et al., 1987; Myara M., 1997).

Источники света могут быть размещены над кушеткой — открытой реанимационной системой. При этом важно придерживаться рекомендуемого в инструкции к прибору расстояния от источника до пациента. Особенно важно соблюдать эти условия при использовании галогеновых ламп, генерирующих много тепла.

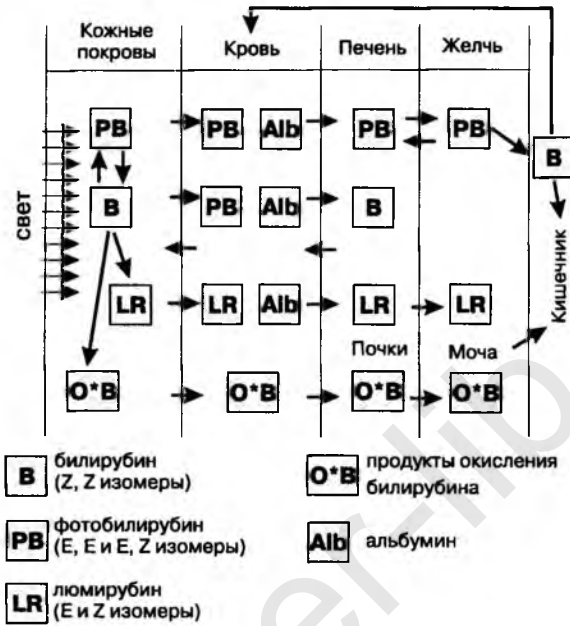
Чтобы повысить дозу, ряд авторов рекомендует облучать новорожденных полями света через волоконнооптические световоды (Tan K., 1997).

Однако волоконнооптическая фототерапия противопоказана недоношенным детям массой тела менее 1250 г, вследствие уязвимости их кожных покровов. В последние годы с успехом применяются установки «Biliblanket», позволяющие проводить лечение контактным способом.

Механизм фотолиза при фототерапии представлен на схеме 3.

При светолечении равновесие фотохимической реакции между

### Механизм фототерапии



изомерами ZZ-билирубина (билирубин) и ZE-билирубина (фотобилирубин) сдвинуто в сторону образования ZE-изомеров. Необходимо отметить, что ZE-изомеры во времени реверсируют в исходные нативные ZZ-изомеры. В большой концентрации образуется люмирубин — водорастворимый фотоизомер, не оказывающий нейротоксического действия. В отличие от ZE-изомеров люмирубин не может реверсировать с течением времени в нативный ZZ-билирубин, он выделяется в желчь без предварительной конъюгации и характеризуется более быстрым выведением из организма.

Использование «зеленых» ламп, диапазон флуоресцентного испускания которых расположен в области 480–580нм, мало эффективно в образовании ZE-изомеров билирубина, но выход люмирубина при их применении значительно выше, чем при использовании «синего» света. Однако вследствие низкой общей интенсивности излучения ламп, а также слабого поглощения билирубина на длине волны испускания «зелёных» ламп, эффективность фототерапии в этом случае ниже, чем при использовании «специальных синих» ламп. Это является важным аргументом в пользу поочередного

применения ламп различного света для повышения эффективности лечения. Не менее эффективно сочетание ламп синего и холодного белого света, не вызывающее перегревание ребенка и ложного впечатления цианоза кожных покровов.

Минимальная доза облучения кожных покровов новорожденного должна быть не менее 8 микроватт/см<sup>2</sup>/нанометр. Высокие дозы (20 мвт/см<sup>2</sup>/нм) обладают большей эффективностью. При этом чем больше площадь поверхности воздействия светом, тем выше эффект фототерапии, поэтому ребенок во время сеанса должен быть обнаженным.

Глаза новорожденного закрывают светонепроницаемой повязкой, так как эксперименты на животных показали, что фототерапия может приводить к поражению сетчатки.

Учитывая, что в спектре испускания ламп присутствует излучение 350-450 нм, которое обладает мутагенным свойством, для профилактики потенциально канцерогенного действия целесообразно также во время сеанса фототерапии прикрыть половые органы.

Фототерапию целесообразно начинать, когда уровень билирубина на 85 мкмоль/л ниже показателя, соответствующего показанию к заменному переливанию крови, либо как только установлен диагноз гемолитической болезни новорожденного.

Т.Л. Гомелла и М.Д. Каннигам (1995) приводят таблицу для определения показаний к фототерапии (табл. 33).

Таблица 33

**Концентрация непрямого билирубина в крови  
(мкмоль/л), являющаяся показанием к началу фототерапии, в  
зависимости от массы тела при рождении  
и возраста пациента**

Масса тела при рождении, г	Возраст в днях						
	1	2	3	4	5	6	7
Менее 1000	51	51	51	86	86	118	118
1000-1249	86	86	86	118	137	171	205
1250-1499	137	137	137	171	205	205	205
1500-1749	171	171	171	205	205	222	222
1750-1999	171	171	205	222	222	222	222
2000-2499	171	205	222	257	291	291	191
Более 2500	171	205	222	257	291	291	191

Продолжительность сеансов фототерапии варьирует в довольно широких пределах: от 2-х часов с перерывами в 2 часа до непрерывного применения облучения. Это зависит от степени тяжести гемолитической болезни, выраженности гипербилирубинемии, почасового прироста

билирубина, переносимости пациентом процедуры. Во время лечения светом очень важно контролировать его эффективность, определяя концентрацию билирубина в крови желательно микрометодом. Однако в качестве альтернативы «кровоавому» методу может быть использована транскутанная билирубинометрия. В нашей клинике для этой цели в течение 12 лет используется прибор «Билитест» типа АГФ-02 отечественной фирмы «Техномедика». Транскутанная билирубинометрия основывается на явлении обратной диффузии билирубина из крови в дерму. Увеличение концентрации билирубина в крови приводит, соответственно, к увеличению концентрации билирубина в дерме. И, наоборот, уменьшение концентрации билирубина в крови (например, при заменном переливании крови) приводит к обратному движению билирубина из дермы в кровь до тех пор, пока между этими двумя системами не наступит равновесие.

Как известно, существует логарифмическая зависимость между концентрацией поглощающего вещества и интенсивностью прошедшего через него света. Прибор «Билитест» по своему принципу является фотометром отраженного света и измеряет логарифм отношения интенсивностей отраженного света на двух длинах волн. Он снабжен миниатюрной лампой-вспышкой и двумя фотоприемниками с узкополосными светофильтрами, позволяющими выделить из всего отраженного потока света излучение на длинах волн 460 и 550 нм.

Выбор второй длины волны в желто-зеленом диапазоне обусловлен отсутствием в нем поглощения света билирубином и одновременно наличием одинакового с длиной волны 460 нм поглощения в гемоглобине крови. Это позволяет практически полностью исключить влияние гемоглобина крови в капиллярные подкожных сосудах на результаты измерений.

Важной особенностью прибора является то, что он регистрирует свет, отраженный только из глубины тканей, и не допускает попадание на фотоприемники света, отраженного от поверхности кожи, за счет плотного прилегания к ней подвижной световодной головки.

По существу «Билитест» определяет концентрацию билирубина в дерме путем прямого фотометрирования. Поскольку стандарты концентрации билирубина в дерме отсутствуют (и вряд ли могут быть созданы), прибор отградуирован в условных единицах, которые названы в соответствии с международной практикой «транскутанным билирубиновым индексом» (ТБИ).

Клиническая значимость ТБИ определяется его тесной корреляцией с концентрацией билирубина в крови новорожденных.

При этом важно учитывать определенную стадийность в обмене билирубина при фототерапии.

**1-я стадия** — первые 4 часа фототерапии. В этот период происходит быстрое разложение билирубина в коже и значительное уменьшение транскутанного билирубинового индекса (ТБИ) при сохранении неизменной концентрации билирубина в сыворотке.

**2-я стадия** — 4–12 часов фототерапии. За этот период происходит элиминация люмирубина из крови, который выделяется с желчью и мочой, а сывороточный билирубин проникает в ткани на место изомеризованного. В результате в этот период можно наблюдать снижение сывороточного билирубина при повышении ТБИ.

**3-я стадия** — 2–3 сутки фототерапии, когда отмечается выравнивание показателей сывороточного билирубина и ТБИ.

**4-я стадия** — после окончания фототерапии. Люмирубин продолжает элиминироваться из организма, а билирубин проникает в кожу. В связи с этим продолжается падение уровня сывороточного билирубина при замедлении уменьшения ТБИ.

Измерение ТБИ во время фототерапии не даёт возможности однозначно судить об уровне билирубина в крови, а лишь позволяет определить динамику прокрашивания кожи в объективном числовом значении и эффективность проведения лечения. В связи с этим измерение ТБИ в процессе фототерапии целесообразно в течение всего периода светолечения и не имеет смысла в эпизодическом виде.

Новорожденные с низкой массой тела во время фототерапии должны находиться в инкубаторах интенсивного типа с сервоконтролем температурного режима.

К простым, но очень важным мерам, направленным на выведение билирубина во время фототерапии, относятся поддержание водного баланса для обеспечения адекватного диуреза и стимуляция дефекации с целью уменьшения кишечно-печеночной циркуляции билирубина. Последнему также способствует оральное введение агара, «активированного угля», энтеродеза.

Применение фототерапии увеличивает неощутимые потери жидкости, поэтому новорожденным массой тела менее 1500 г объём вводимой жидкости должен быть увеличен на 0,5 мл/кг/час, а новорожденным массой тела более 1500 г — на 1 мл/кг/час.

До настоящего времени не известны случаи тяжелых токсических эффектов фототерапии. К её побочным влияниям, наряду с уже

перечисленными, можно отнести также эритему кожи, диспепсию, ожоги, дегидратацию и «синдром бронзового ребенка». Последний наблюдается, когда фототерапию проводят пациентам с высоким уровнем прямого билирубина. При этом изменяется цвет кожных покровов, сыворотки крови и мочи от темно-серого до коричневого. Поэтому при значениях прямого билирубина в сыворотке крови больше 85 мкмоль/л фототерапию следует прекратить. Сигналом к фракционному исследованию билирубина может служить отсутствие снижения ТБИ на сеанс фототерапии. «Синдром бронзового ребенка» не требует специального лечения и постепенно исчезает.

Частоту побочных эффектов можно значительно сократить, а эффективность лечения повысить, если использовать для фототерапии аргоновый лазер, генерирующий излучение от 476,5 до 514,5 нм (А.Л. Новаковский, 2000). Установлено, что сокращение длительности сеансов фототерапии при указанном излучении обусловлено тем, что основным продуктом фотопревращения в этом случае является люмирубин. Отсутствие в спектре генерации аргонового лазера излучения длин волн (ближнего ультрафиолетового, фиолетового и др., характерных для излучения ламп) позволяет исключить канцерогенное и мутагенное действие, эритему и общий перегрев организма. К сожалению, этот метод пока не нашёл широкого применения, в частности, из-за высокой стоимости оборудования.

Конечно, фототерапия не может полностью исключить проведение заменных переливаний при гемолитической болезни новорожденных, особенно при отёчной форме, но заметно снижает число заменных трансфузий при желтушных формах

Повышение эффективности лечения гипербилирубинемии, связанной с гемолитической болезнью новорожденных, может также быть обеспечено внутривенными вливаниями высоких доз иммуноглобулинов.

## ТЕРАПИЯ ВНУТРИВЕННЫМИ ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ

У новорожденных элиминация эритроцитов, содержащих Rh-антигены, главным образом происходит путём цитотоксической реакции антиген-специфическое антитело при участии Fc-рецепторов клеток ретикуло-эндотелиальной системы (Urbania K., 1979). Если высокими дозами внутривенных иммуноглобулинов блокировать Fc-рецепторы, можно избежать дальнейшего гемолиза и, следовательно, гипербилирубинемии (Dagoglu T. et al., 1995).

В рандомизированных контролируемых исследованиях Voto L. et al. (1995), Dagoglu T. et al., (1995) убедительно показано, что при лечении гемолитической болезни новорожденных внутривенное введение иммуноглобулинов в дозе 800 мг/кг/сут в течение 3-х дней + фототерапия по сравнению с группой новорожденных, получавших только фототерапию, почти вдвое снижается срок госпитализации и значительно уменьшается объём трансфузионной терапии, в том числе заменных переливаний крови.

При раннем введении иммуноглобулинов (через 2 часа после рождения) терапевтический эффект может быть обеспечен меньшими дозами — 500 мг/кг.

Высокие дозы внутривенных иммуноглобулинов весьма эффективны и при лечении гипербилирубинемии, устойчивой к фототерапии. Так, в рандомизированных исследованиях Alpay F. et al. (1999) при комбинированном лечении высокими дозами иммуноглобулинов и фототерапии гипербилирубинемии на почве гемолитической болезни по резус и/или групповой несовместимости только 5 пациентов из 58 потребовали заменного переливания крови, в то время как в контрольной группе, получавшей лишь фототерапию, заменная гемотрансфузия понадобилась 22 из 58 пациентов. При этом потребность в фототерапии и продолжительность госпитализации была существенно ниже в группе пациентов, получавших высокие дозы иммуноглобулинов.

Отмечая высокую эффективность иммуноглобулиновой терапии необходимо помнить о потенциальном риске, связанном с последней. Речь прежде всего идет о гемолизе, обусловленном наличием анти-А или анти-В антител, аллергии и передачи инфекции.

В отделении реанимации, интенсивной терапии и выхаживания маловесных новорожденных НЦ АГиП РАМН стандартный иммуноглобулин для внутривенного введения («ИмБио» г.Нижний Новгород) в дозе 800 мг/кг применяется для лечения гемолитической болезни новорожденных по резус- и групповой несовместимости на протяжении 10 лет. Первое введение иммуноглобулина проводится, как только устанавливается диагноз, т.е., как правило, в первые часы жизни. Курс в указанной дозировке составляет 3 вливания. Одновременно, т.е. с момента установления диагноза, начинается фототерапия, сеансы которой по продолжительности варьируют в значительных пределах, и схема может меняться ежедневно в зависимости от общего состояния, уровня билирубина в сыворотке крови и эффективности проводимого лечения. Операции заменного переливания проводятся по выше приведенным показаниям, но

количество их снизилось на 15% за последние 10 лет.

За этот же период летальность от тяжёлых форм гемолитической болезни составила 3,7%, причём исключительно за счет отёчных форм, и ни у одного пациента не развилась билирубиновая энцефалопатия.

Таким образом, современный комплекс терапии гемолитической болезни новорожденных позволяет понизить гемолиз (иммуноглобулин внутривенно, заменное переливание), удалить излишки билирубина (заменное переливание, гемосорбция, плазмаферез), снизить кишечно-печеночную циркуляцию (фототерапия, активированный уголь, очистительная клизма) и обеспечить неплохие результаты в плане выживания и снижения инвалидности.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гемотрансфузионная терапия для новорожденных (методические рекомендации для врачей и студентов). М., 2001, 30 с.
2. Гомелла Т., Каннигам М. Неонатология // М. «Медицина». -С.339-628.
3. Новаковский А.Л. Лазерная фототерапия гипербилирубинемии новорожденных детей //Дис...канд.мед.наук.М.,-2000.-139с.
4. Alpay F, Sarici S, Okutan V. et al. High dose intravenous immunoglobulin therapy in neonatal immune haemolytic jaundice //Acta Pediat.,-1999.-88.-P.216-219.
5. Antony F, McDonagh D, Lucita A. et al. Blue light and bilirubin excretion // Science.-1980.-208.-11.-P.145-151.
6. Ayyash H. Grun light phototherapy //J. Pediatr.-1987.-111.-882p.
7. Ayyash H. et al. Grun or blue light phototherapy for neonates with hyperbilirubinemia //Arch Dis Child.,-1987.-62.-774p.
8. Dagoglu T, Ovali F, Samanci N. et al. High-dose intravenous immunoglobulin therapy for rhesus haemolytic disease // J. Int.Med.Res.,-1995.-23.-P.264-271.
9. Kaplan E., Herz B., Schege E., Robenson L. Phototherapy in ABO haemolytic disease of the newborn infants // Pediatrics.-1971.-79.-P.911-914.
10. Kirsten J, Jahric K, Meisel P. Пшие es gruner licht fur die verwendung von grunen licht in der phototherapie des neugeborenenikterus? //Kinder Prax.,-1988.-56.-P.369-374.
11. Myara M. Erly changes in cutaneous bilirubin and serum bilirubin isomers during intensive phototherapy of jaundiced neonates with blue and green light //Biol. Neonatel.,-1997.-71.-2.-P.75-82.
12. Tan K. Efficacy of bidirectional fiber-optic phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia //Pediatrics.,-1997.-99.-5.-13p.
13. Urbaniak S. ADCC(K-cell) lysis of human erythrocytes sensitized with rhesus alloantibodies. Investigation into the mechanism of lysis // Br.J.Haematol., 1979.-42.-2.-P.315-325.
14. Voto L., Sexer H., Ferreiro G. et al. Neonatal administration of high dose intravenous immunoglobulin in rhesus hemolytic disease //J. Perinatal. Med.,-1995.-23.-P.443-451.

Уже 30 лет метод профилактики резус-сенсibilизации путем введения иммуноглобулина анти-резус прочно вошел в клиническую практику мира. Без профилактики сенсibilизации до 10% женщин с резус-отрицательной кровью, родившие резус-положительного ребенка, имеют антитела анти-резус и в следующую беременность имеют шанс родить больного ребенка.

Впервые исследования по специфической профилактике резус-сенсibilизации начаты Clarke и соавт. в 1960-1961 гг. в Англии. Авторы исходили из наблюдения Levine (1943), показавшего, что у женщин, имеющих беременность плодом с группой крови, не совместимой с кровью матери по системе АВО, сенсibilизация к резус-фактору возникает редко, так как эритроциты плода, попавшие в материнский кровоток, быстро разрушаются соответствующими антителами (анти-А или анти-В) материнской крови. Аналогичные данные получены Clarke и соавт. (1958) при обследовании 91 семьи, имеющей детей с гемолитической болезнью. Авторы нашли, что почти все дети с гемолитической болезнью были совместимы с кровью матери по системе АВО. Идея воспроизвести механизм защиты против иммунизации к резус-фактору по типу АВО-несовместимости была претворена в 1960 г. Finn на резус-отрицательных мужчинах, добровольно принявших участие в эксперименте. Однако, используя плазму, содержащую неполные антитела класса IgM, автор получил, казалось бы, удовлетворительные результаты только в начале эксперимента: у реципиентов, получивших плазму, наблюдалось быстрое разрушение введенных резус-положительных эритроцитов. Однако через несколько месяцев оказалось, что вместо профилактики резус-сенсibilизации наблюдается ее усиление, так как частота сенсibilизации в контрольной группе была меньше, чем у реципиентов, получивших иммуноглобулин анти-D. В дальнейшей экспериментальной работе были использованы неполные антирезус-антитела класса IgG. Finn, Clarke и др. убедительно показали, что под влиянием антирезус-антител происходит быстрое элиминирование эритроцитов, содержащих

резус-антиген. Шести мужчинам с резус-отрицательной кровью вводили по 5 мл резус-положительной крови, меченной  $^{51}\text{Cr}$ , и через полчаса после введения крови трем из них вводили по 10 мл плазмы, содержащей антирезус-антитела в титре 1:64. На 3-и и 14-е сутки у всех реципиентов изучали «выживаемость» введенных эритроцитов. Было установлено, что у лиц контрольной группы «выживаемость» эритроцитов была обычной, тогда как у лиц, получивших антитела, 50% донорских эритроцитов были разрушены к 3-му дню после их введения. Используя метод Jones и Silver (1958) для определения малого количества резус-положительных эритроцитов среди резус-отрицательных, авторы обнаружили, что сохранившиеся в кровотоке резус-положительные эритроциты находились в комплексах антиген — антитело. Исследователи полагали, что можно ввести такую дозу антител, которая обеспечит быстрое выведение всех резус-положительных эритроцитов и, таким образом, предотвратит развитие сенсибилизации к резус-фактору.

Одновременно и независимо от группы исследователей, работавших под руководством профессора Clark, в США также проводили исследования по предупреждению резус-сенсибилизации (Freda и соавт., 1964). Американские исследователи исходили из наблюдений Smith, который еще в 1909 г. показал, что в присутствии пассивно введенных антител соответствующий антиген не вызывает иммунизации. В 1961 г. американские исследователи получили специальный гипериммунный антирезус- $\gamma$ -глобулин для внутримышечных инъекций, который оказался более удобным для введения, чем плазма, и в высокой степени эффективным средством для профилактики резус-сенсибилизации. После успешных экспериментов во многих центрах мира было начато его клиническое применение, направленное на профилактику резус-сенсибилизации у резус-отрицательных женщин.

Таким образом, была установлена возможность предотвращения резус-иммунизации путем введения антирезус-антител.

Механизм торможения иммунного ответа пассивно вводимыми антителами остается до настоящего времени предметом дискуссии. Имеются две основные теории, объясняющие механизм ингибирующего действия антител.

Согласно первой, предполагаемый механизм подавления резус-сенсибилизации связан с тем, что введенные антитела блокируют антигенные стороны резус-положительных эритроцитов и, таким образом, предотвращают их действие на антителообразующие суб-

станции в ретикулоэндотелиальной системе матери. Это предположение основано на экспериментальной работе Stern и соавт. (1961), которые показали, что резус-положительные эритроциты в комплексе с неполными антирезус-антителами не вызывают активной иммунизации при введении их резус-отрицательному реципиенту. Согласно экспериментальным данным Walker и Siskind (1968), подавление иммунизации пассивно введенными антителами есть результат связывания антигена циркулирующими антителами ввиду того, что способность последних, подавлять сенсibilизацию связана с их дозой и связывающей способностью.

Вторая гипотеза состоит в том, что избыток антител, введенных пассивно в организм, оказывает непосредственное ингибирующее действие на иммунокомпетентные клетки по типу нормального гомеостатического механизма контроля за продукцией антител (Uhr и Bauman, 1961; Freda и соавт., 1966). Эта гипотеза основана на том факте, что эффективное подавление иммунного ответа может быть получено в течение первых 3—6 дней после введения антигена, когда процесс иммунизации уже «в ходу».

Удаление антигена может идти двумя путями: во-первых, антитела могут вести к секвестрации и разрушению антигена в местах ретикулоэндотелиальной системы, где антитела не образуются. Возможно, что и в селезенке комплексы антиген-антитело разрушаются иным путем, чем антигены. Во-вторых, отвлечение антигена может наблюдаться после «процесса» фагоцитоза. Cohen (1967) показал, что небольшое количество антигена, соединенное с РНК в фагоците, переносится ими к антителопродуцирующим клеткам. Пассивно введенные антитела могут соединяться с этими небольшими частицами антигена в фагоците и предотвращать стимулирование ими продукции антител, однако сам процесс фагоцитоза не играет роли в отвлечении антигена, так как процесс сенсibilизации — явление строго специфическое. Доказательством этого предположения послужили работы Brody с соавт. (1967), которые показали, что если животным вводили два антигена на одной молекуле совместно с антителами против одного антигена, то у них вырабатывались антитела только против второго антигена. Очевидно, если бы процесс фагоцитоза всей молекулы играл большую роль в подавлении иммунизации, то выработки антител у животного не было бы к обоим антигенам. Pollack и соавт. (1968) также подтвердили, что реакция подавления иммунизации является строго специфической. В эксперименте с кроликами ими было обнаружено, что если животным с типом крови Hg (A-F-)

вводят эритроциты Hg (A + F +) вместе с антителами анти Hg<sup>A</sup>, то подавляется образование только анти-Hg<sup>A</sup>, но не анти-Hg<sup>F</sup>.

Механизм защитного действия АВО-несовместимости в процессе резус-сенсibilизации отличен от механизма действия пассивно введенных антирезус-антител, так как антитела, которыми этот ответ подавляется, имеют другую специфичность, чем те, продукцию которых они подавляют. Анти-А и анти-В антитела, как правило, вызывают внутрисосудистый лизис эритроцитов, в результате чего строма эритроцитов разрушается вдали от антителпродуцирующих клеток (возможно в печени). Schneider и Preisler (1965) показали, что лизированные эритроциты являются в меньшей степени антигенами, чем интактные клетки.

По мнению Clarke (1968), эффект подавления пассивно введенными антителами связан с выведением из кровотока матери резус-положительных эритроцитов плода, поэтому в зависимости от скорости их удаления можно подобрать необходимую для подавления сенсibilизации дозу антител. Mollison и Hugher-Jensen (1967) придерживаются несколько иного взгляда. Они показали, что при введении 75 мкг иммуноглобулина анти-Д наблюдалось полное удаление 1 мл резус-положительных эритроцитов из кровотока резус-отрицательного реципиента, но согласно закону действия масс примерно только 10% антигенных сторон эритроцитов было связано с антителами. Учитывая эти данные, трудно предположить, по мнению авторов, что пассивно введенные антитела действуют путем блокирования антигенных сторон эритроцитов. Более вероятно, что эритроциты либо их частицы, содержащие несколько сотен антигенных сторон, отвлекаются антителами от антителпродуцирующих клеток при условии, если заблокировано не менее 10% антигенных сторон эритроцитов.

Среди европейского населения соотношение резус отрицательная мать — резус-положительный плод наблюдается примерно при 10 % родов. Как известно, резус-антиген в основном обнаруживается на эритроцитах, поэтому основным путем сенсibilизации матери резус-антигеном плода является трансплацентарное кровотечение. Как показали многочисленные исследования, наиболее вероятным временем получения первичного стимула к резус-сенсibilизации у резус-отрицательных женщин является процесс родов.

Важно отметить, что доза иммуноглобулина антирезус, необходимая для подавления сенсibilизации, зависит от величины трансплацентарного кровотечения. До настоящего времени наиболее распространенным методом выявления крови плода в крови

матери является метод Kleihauer и соавт. (1957). Этот метод основан на том, что в крови плода примерно 90% эритроцитов содержит гемоглобин, который по своим свойствам отличается от гемоглобина эритроцитов взрослого. Фетальный гемоглобин (HbF) отличается большей устойчивостью к щелочам, чем гемоглобин взрослого (HbA). В мазках периферической крови матери, обработанных по методу Kleihauer — Betke эритроциты с HbA имеют вид теней, в то время как эритроциты с HbF окрашены в красный цвет (рис. 28).

Учет количества фетальной крови в крови матери основан на арифметическом расчете соотношения фетальных и материнских эритроцитов при условии, что масса крови матери и плода и содержание в их крови эритроцитов нормально (Cohen и соавт., 1964) (табл. 34).

Таблица 34

### Классификация трансплацентарных кровоточений ( по Cohen и соавт., 1964)

Соотношение фетальных и материнских эритроцитов	Количество фетальной крови в мл	Классификация трансплацентарного кровотоечения
1:1000 000	0,004	} Минимальное } Легкое } Среднее } Массивное
1: 100 000	0,04	
1: 10 000	0,4	
1: 1 000	4,0	
1: 100	40,0	
2: 100	80,0	

Этот расчет является весьма приблизительным, так как фетальные эритроциты могли поступать в материнский кровоток в течение длительного времени, а к моменту взятия крови могли быть разрушены. Для более точного расчета необходимо знать не только соотношение эритроцитов в крови матери, но в процент эритроцитов с HbF у новорожденного. Следует также учитывать, что в крови матери, наряду с эритроцитами плода, могут быть ее собственные эритроциты, содержащие HbF. Поэтому метод исследования Kleihauer-Betke не всегда дает четкое представление о величине трансплацентарного кровотоечения. Примерно у 85% женщин после родов соотношение плодовых эритроцитов к материнским менее 1:20 000; на этом уровне определить величину трансплацентарного кровотоечения очень трудно. Учитывая эти данные, во многих центрах по профилактике резус-сенсibilизации не проводят рутинного исследования крови по методу Kleihauer, так как многочисленными исследованиями установлено, что величина трансплацентарного кровотоечения, как правило, не превышает 0,25–1 мл крови.

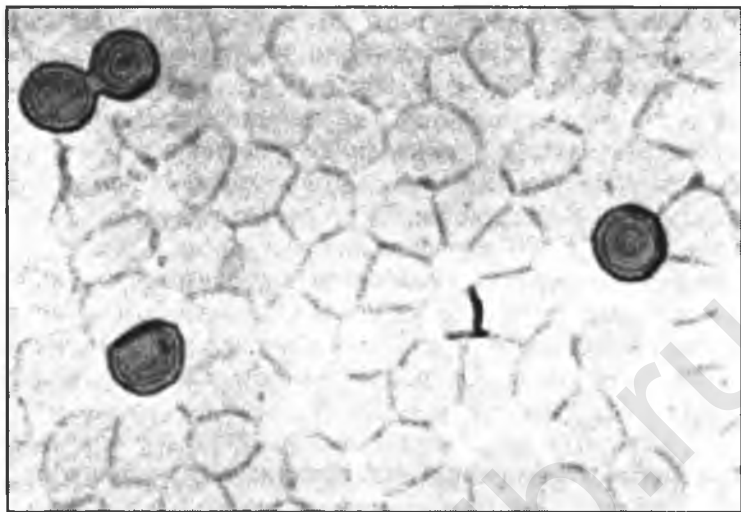


Рис. 28. Окраска мазка крови по методу Kleihauer.

В настоящее время по рекомендации Всемирной организации здравоохранения стандартной дозой принято считать количество антител, 200–300 мкг которых достаточно для подавления сенсибилизации к резус-фактору у резус-отрицательной женщины при проникновении в ее кровотоки 10 мл резус-положительных эритроцитов плода (примерно 20 мл крови).

Частота трансплацентарных кровотечений, по объему превышающих 10 мл, встречается чрезвычайно редко (2–3:1000 родов). По данным Bowman (1971), она наблюдается в 0,32% родов.

Клох (1968) убедительно показал, что величина трансплацентарного кровотечения и частота сенсибилизации зависят во многом от акушерской ситуации и тактики. Так, при токсикозах беременных, после операции кесарева сечения, после родов в тазовом предлежании частота и объем трансплацентарных кровотечений намного увеличиваются. По данным Huntingford (1967), та же картина наблюдается при ручном отделении плаценты, наружном и внутреннем повороте плода, амниоцентезе. По мнению Clarke (1969), при проведении профилактики резус-сенсибилизации акушерская ситуация должна приниматься во внимание. При отсутствии осложнений во время беременности и родов может быть использована стандартная доза иммуноглобулина антирезус

без дополнительного специального обследования. При наличии каких-либо осложнений необходимо исследование крови по методу Kleihauer для выявления величины трансплацентарного кровотечения. Если стандартная доза является недостаточной, необходимо дополнительно вводить иммуноглобулин антирезус из расчета 25 мкг на 1 мл плодовой крови.

Возможно, что и меньшие дозы иммуноглобулина антирезус оказывают десенсибилизирующий эффект. Однако, учитывая трудности в определении трансплацентарного кровотечения, целесообразно вводить заведомо большие дозы, так как введение малых доз препарата может вызвать явления, противоположные ожидаемым результатам. Так, в экспериментальной работе Cohen и Allton (1962) убедительно показано усиление иммунизации при введении комплексов антиген — антитело при избытке антигена. Pollack и соавт. (1968) наблюдали усиление сенсibilизации у мужчин при введении им вместе с 5 мл резус-положительной крови 10 мкг антител класса IgG (7S).

Несмотря на теоретические неясности и практические трудности в вопросе специфической иммунопрофилактики резус-сенсibilизации этот метод завоевал широкое признание и в настоящее время применяется во многих странах мира. По сводным данным Starke (1969), из 4133 женщин, получивших для профилактики сенсibilизации иммуноглобулин антирезус, сенсibilизация развилась у 19 (0,45%). В контрольной группе из 3390 женщин сенсibilизация наступила у 220 (6,5%). Из 297 женщин, которые после применения иммуноглобулина антирезус, родили второго резус-положительного ребенка, сенсibilизация выявлена у 2 (0,6%); в контрольной группе из 533 женщин — у 50 (9,3%). По данным Bowman (1971), в Канаде из 1031 женщины, получавшей по 300 мкг иммуноглобулина анти-D после родов, сенсibilизации не было ни у одной, в контрольной группе сенсibilизация выявлена у 7 женщин. По данным Davey (1971), в Австралии до 1970 г. было введено 37120 доз иммуноглобулина анти-D. Спустя 6 мес после родов было обследовано 3903 женщины. Частота сенсibilизации, включая последующие роды у 174 женщин, составила 2,74%; в контрольной группе она равнялась 16%. В связи с большим процентом неудач стандартная доза иммуноглобулина анти-D была увеличена с 200 до 250 мкг. По данным Deicher C. и Borner (1971), в Федеративной Республике Германии из 722 женщин, получавших внутривенно 200 мкг иммуноглобулина антирезус, сенсibilизации не было ни у одной; из числа этих женщин 20 родили повторно.



В другой серии исследований из 3069 женщин, получавших этот же препарат, сенсibilизация наступила только у одной.

По данным Hollan (1971), в Венгрии профилактика резус-сенсibilизации проводится всем резус-отрицательным первородящим женщинам. Вводят 300 мкг иммуноглобулина анти-D. Из 1146 женщин, получавших препарат, через 6 мес после родов обследовано 420. Сенсibilизация выявлена только у двух повторнородящих женщин с многоплодной беременностью. По данным З. Ф. Васильевой (1972), из 200 женщин, получивших 180–200 мкг иммуноглобулина антирезус, сенсibilизации не выявлено ни у одной; в контрольной группе было сенсibilизировано 8% женщин. По мнению автора, антирезус иммуноглобулин предупреждает не только развитие резус-сенсibilизации, но и сенсibilизации к лейкоцитарным изоантигенам.

Многочисленные клинические исследования показали, что при проведении иммунопрофилактики частота сенсibilизации резус-отрицательных женщин составляет менее 0,5% вместе с последующей беременностью резус-положительным плодом — 1–2%. Без проведения профилактики сенсibilизация развивается у 8,5% женщин после первых родов, у 8,5% — после вторых родов, т. е. в 17% случаев.

Большинство исследователей полагают, что неудачи профилактики резус-сенсibilизации могут быть связаны: во-первых, с недостаточной дозой вводимого препарата при больших трансплацентарных кровотечениях, во-вторых, с запоздалым введением иммуноглобулина.

В связи с последней причиной неудач Zipursky и Israels (1967), Bowman (1971) изучили возможность введения иммуноглобулина анти-D в III триместре беременности женщинам, имеющим большое количество фетальных эритроцитов в крови. Они вводили 300 мкг иммуноглобулина анти-D в 28 и 34 нед беременности а затем после родов в случае рождения резус-положительного ребенка. По данным авторов, введение иммуноглобулина анти-D во время беременности не ухудшало состояния плода, хотя некоторые дети рождались с положительной реакцией Кумбса.

По мнению Ascari (1971), дородовое применение иммуноглобулина анти-D является нецелесообразным, так как примерно 25–40% резус-отрицательных женщин рожают резус-отрицательных детей. Кроме того, если резус положительный ребенок рожден резус-отрицательной матерью, получавшей иммуноглобулин анти-D и имеет положительный тест Кумбса, то при недостаточно правильной

оценке его состояния это может маскировать наличие у ребенка гемолитической болезни, возникающей вследствие несовместимости по другим антигенным факторам крови. По мнению Deicher и Borner (1971), послеродовое применение препарата анти-D дает прекрасные результаты при назначении достаточной дозы иммуноглобулина анти-D.

В настоящее время в литературе широко обсуждается вопрос о необходимости введения иммуноглобулина антирезус всем резус-отрицательным женщинам после искусственного и самопроизвольного аборта при любом сроке беременности. Как показали исследования Л. С. Волковой (1967), Муггау и соавт. (1970) и др., прерывание беременности вызывает сенсибилизацию к резус-фактору примерно у 3-4% женщин. Поэтому там, где нельзя избежать прерывания беременности (особенно первой беременности у молодых женщин), проведение программы профилактики резус-сенсибилизации должно включать применение иммуноглобулина антирезус после аборта.

Большинство применяемых в настоящее время препаратов иммуноглобулина анти-D предназначены для внутримышечного введения. Иммуноглобулин антирезус рекомендуется вводить не позднее 72 ч после родов.

Каких-либо серьезных осложнений после введения препарата не отмечено, даже при многократном его применении. Описаны такие осложнения, как появление уртикарной сыпи (Davey, 1971), болезненность в месте введения препарата (Bowman 1971; Holzapf, 1971).

Научная программа профилактики резус-сенсибилизации в Центре была начата в 1968 г.

Автору этих строк посчастливилось работать в лаборатории профессора Clark в Ливерпуле, познакомиться с организацией профилактики резус-сенсибилизации в акушерских клиниках Великобритании; научиться делать амниоцентез и интраперитонеальное переливание крови под руководством доктора Bevis D. в г. Шеффилде, автора метода амниоцентеза (УЗИ в то время еще не было); познакомиться и принять участие в очень сложных (для акушера) иммунологических исследованиях в лаборатории профессора Mollison P.G. в Лондоне. До настоящего времени с большой теплотой вспоминаю доброжелательность и щедрость сотрудников этих подразделений в предоставлении любых научных данных по этому вопросу, замечательные лекции в университетах, дискуссии в лабораториях.

С 1968 по 1974 г. под нашим наблюдением находилось 1200 резус-отрицательных женщин без явлений сенсибилизации. Из них 378 (31,5%) были повторнородящими. Они исключены из группы, получавшей иммуноглобулин антирезус, но оставлены под наблюдением для выяснения частоты сенсибилизации после вторых родов (III контрольная группа). Таким образом, детальному обследованию подлежали 822 женщины, из них 516 (49%) первобеременных и 306 (25,5%) повторнобеременных первородящих. Из повторнобеременных женщин в группу для проведения профилактики отбирали женщин с осложненным течением беременности, родов и отягощенным анамнезом.

Для выявления среди резус-отрицательных женщин лиц с повышенным риском возможной сенсибилизации к резус-фактору проводилось обследование по следующей схеме: определение резус-принадлежности мужа, определение группы крови супругов; исследование крови на антирезус антитела сразу после родов в динамике; исследование крови по методу Kleihauer, в основном у женщин с осложненным течением беременности и родов; иммунологическая реакция Балика-Умбрумянц. После рождения ребенка определяли его группу крови и резус-принадлежность.

Для проведения профилактики и в контрольную группу отбирали женщин, у которых были основания предполагать возможность развития сенсибилизации. К ним относились резус-отрицательные первородящие женщины, родившие детей с резус-положительной кровью, совместимой по системе АВО.

Из 822 первородящих женщин 293 (35,6%) родили резус-отрицательных детей; они были исключены из наблюдения.

Из 529 женщин, родивших резус-положительных детей, 125 (23,7%) были не совместимы с кровью ребенка по системе АВО. Они также исключены из группы женщин, подлежащих профилактике, за исключением 18 родильниц, у которых было осложненное течение беременности и родов. Таким образом, 107 резус-отрицательных женщин, родивших детей с резус-положительной АВО-несовместимой кровью были оставлены под наблюдением в качестве II контрольной группы для определения частоты развития сенсибилизации без применения иммуноглобулина.

В результате обследования из всех поступивших женщин было отобрано 404 с резус-отрицательной кровью, родивших детей с резус-положительной кровью, совместимой по системе АВО и 18 с резус-положительной кровью, не совместимой по системе АВО. Из них 302 женщины составили основную группу, которая получала иммуноглобулин антирезус для профилактики сенсиби-

лизации, и 120 женщин составили 1 контрольную группу. В нее вошли женщины, отказавшиеся от введения препарата.

Для профилактики резус-сенсibilизации 302 женщины получили антирезус иммуноглобулин в первые 48 ч после родов (табл. 35).

Таблица 35

### Серии и дозы примененных препаратов

Серии иммуноглобулина антирезус	Объем препарата мл	Доза иммуноглобулина анти-D, мкг	Число женщин
Иммуноглобулин антирезус серия 4	5	Не стандартизирован	35
Иммуноглобулин антирезус серия 8	2	Не стандартизирован	20
Полиглобулин антирезус	5x2	Не стандартизирован	22
Иммуноглобулин антирезус серия 13	3	200	20
Иммуноглобулин антирезус серия 14	1	275	25
Партобулин (Австрия)	1	275	180
<b>ВСЕГО</b>			<b>302</b>

Перед введением препарата ни у одной из женщин антител в крови не выявлено.

Исследование крови по методу Kleihauer – Betke проведено у 50 женщин, в основном при осложненном течении беременности и родов, из них у 40 — в основной группе, у 10 — в контрольной. У 3-х женщин основной группы в крови обнаружено значительное количество фетальных эритроцитов, у 10 женщин — единичные эритроциты.

Из 50 женщин у 28 иммунологическая реакция Балика-Умбрумянц была положительной, из них у 10 фетальные эритроциты были единичными, у 15 они отсутствовали; у 2 женщин содержание фетальных эритроцитов было в соотношении к взрослым 1:20000 и у 1 — 1: 13.

Таким образом, иммунологическая реакция выявления резус-положительных эритроцитов плода в крови матери оказалась более чувствительной, чем метод Kleihauer. Однако эта реакция не дает возможности определить величину трансплацентарного кровотечения.

У большинства женщин осложнений после введения иммуноглобулина антирезус не было. Примерно у 1/3 родильниц после введения некоторых серий иммуноглобулина отмечалась местная болезненность, и длительное время держалась инфильтрация в месте введения препарата. Очевидно, это было связано с большим объемом введенного иммуноглобулина и повышенным содержанием альбумина.

К сожалению, отечественные препараты не стандартизированы в мкг. Это затрудняет расчет необходимого количества препарата при больших трансплацентарных кровотечениях и затрудняет проведение сравнительного изучения различных серий иммуноглобулина антирезус.

После введения иммуноглобулина женщины находились под наблюдением в течение одного года. Исследование крови на антигена проводили на 2-е сутки после введения препарата, на 7–8-е сутки после родов, а затем через 6–9 мес после родов. Аналогичные исследования проведены и в контрольной группе.

У большинства женщин, получавших иммуноглобулин антирезус, на 2-е сутки после введения препарата в крови при исследовании ее энзимобработанными эритроцитами определены следы антигенов в неразведенной сыворотке или титр антигенов не превышал 1:1 — 1:2. При отсутствии следов антигенов вводили повторную дозу препарата. Как правило, срок жизни пассивно введенных антигенов не превышал 6 мес.

При исследовании на 7–8-е сутки после родов у большинства женщин, а у 16 — через месяц после родов, пассивно введенных антигенов в крови не обнаружено. Применение препарата считали успешным, если через 6-9 мес после родов, в крови не находили антирезус антигенов. Результаты применения иммуноглобулина антирезус для профилактики резус-сенсibilизации представлены в таблице 36.

Таблица 36

**Результаты применения иммуноглобулина антирезус для профилактики резус-сенсibilизации и частота сенсibilизации**

Группа наблюдений	Число наблюдений	Не иммунизированы		Иммунизированы	
		Число	%	Число	%
Основная группа	302	300	99,34	2	0,66
Контрольная группа (I)	120	111	92,5	9	7,5
Первородящие женщины с резус-отрицательной кровью, родившие детей с резус-положительной, ABO-несовместимой кровью (II контрольная)	107	103	96,3	4	3,7
Повторнородящие несенсibilизированные женщины, родившие детей с резус-положительной кровью, (III контрольная)	246	230	93,4	16	6,6

Как видно из таблицы, применение иммуноглобулина антирезус оказалось безуспешным только у 2 женщин.

Г-ва, 26 лет, данная беременность первая, группа крови А(II); муж — группа крови А (II), кровь резус-положительная. Беременность протекала с явлениями угрожающего выкидыша в первой половине; вторая половина беременности протекала без осложнений. Роды самостоятельные. При рождении состояние ребенка удовлетворительное, масса 3050 г, оценка по шкале Апгар 8 баллов. Кожные покровы бледные. Ребенок А(II) группы крови, резус-положительный. Содержание гемоглобина в крови 120 г/л (12,0 г%), билирубина 17,1 мкмоль/л (1,0 мг%). Реакция Кумбса отрицательная, признаков гемолитической болезни нет. В крови ребенка много ретикулоцитов и эритробластов.

Заподозрено трансплацентарное кровотечение. При исследовании мазка крови по методу Kleihauer обнаружено большое количество фетальных эритроцитов, которые находились в соотношении ко взрослым 1:13, иммунологическая реакция резко положительная. Расчеты показали, что в крови матери находится около 300 мл плодовой крови.

Введено 2 дозы иммуноглобулина антирезус серии 4 (10 мл). Через 1 сутки фетальные эритроциты оставались в соотношении 1:16, введено еще две дозы иммуноглобулина серии 4. Через двое суток после родов соотношение фетальных эритроцитов 1:116, в крови матери выявлены полные антитела в титре 1:2. Констатировано развитие активной сенсибилизации к резус-фактору в результате большого трансплацентарного кровотечения.

От первичного стимула до выявления антител в системе резус-фактора обычно проходит не менее 3–4 нед. Выявление антител на 2-е сутки после родов, возможно, связано с тем, что процесс иммунизации начался задолго до родов, но в момент родов антитела не выявлялись. Нельзя исключить, что быстрое появление антител в наблюдаемом случае связано с усилением сенсибилизации ввиду введения недостаточной дозы антител.

Ш-на, 24 лет, группа крови В(III); муж — группа крови В (III), кровь резус-положительная. Данная беременность первая, протекала без осложнений. Роды своевременные, без осложнений.

Ребенок родился в удовлетворительном состоянии, масса тела 2750 г, рост 48 см, оценка состояния по шкале Апгар 7 баллов, группа крови В(III) резус-положительная. При исследовании крови матери по методу Kleihauer фетальных эритроцитов не обнаружено. Введена одна доза партобулина. На 2-е и 8-е сутки после родов антител не обнаружено. При исследовании через 6 мес после родов выявлено наличие антител в титре 1:2.

В данном наблюдении сенсibilизация, очевидно, также наступила еще до родов, но не было выхода антител, либо применяемые нами методы не позволили их выявить. Возможно, что в данном случае наличие сенсibilизации объясняет причину невыявления фетальных эритроцитов в материнской крови.

Аналогичные наблюдения описаны многими исследователями. Так, по данным Woodrow и Donohoe (1968), неудачная профилактика в большинстве случаев наблюдалась у женщин, у которых не обнаруживали фетальных эритроцитов в крови в момент родов, и сенсibilизация была еще в той стадии, когда антитела не выявляются.

В контрольной группе сенсibilизация через 6—9 мес после родов обнаружена у 9 женщин (7,5%). Интересные данные получены при обследовании через 6 мес женщин, родивших детей с резус-положительной кровью, не совместимой по системе АВО. Частота сенсibilизации составила у них 3,7%, что в два раза меньше, чем при рождении ребенка с резус-положительной кровью, совместимой по системе АВО. Однако риск сенсibilизации этих женщин все-таки велик. Поэтому при достаточном количестве препарата целесообразно проводить профилактику сенсibilизации всем резус-отрицательным женщинам, вне зависимости от группы крови рожденного ими ребенка.

Сенсibilизация к резус-фактору через 6—9 мес после родов выявлена у 6,6% повторнородящих женщин, т. е. несколько ниже, чем у первородящих. Это связано, очевидно, с тем, что в эту группу вошли женщины, родившие детей с совместимой и не совместимой по системе АВО кровью. Однако риск сенсibilизации после повторных родов остается так же велик, как и после первых родов. Мы полагаем, что повторнородящим женщинам в молодом возрасте с целью профилактики резус-сенсibilизации также целесообразно введение иммуноглобулина после родов.

Неудачи в профилактике резус-сенсibilизации при введении анти-D после родов, по данным многоцентровых исследований,

составляют 1,5%. Это обусловлено тем, что у многих женщин трансплацентарный переход эритроцитов плода в материнский кровоток происходит с 28 недель беременности и начало сенсибилизации может иметь место до родоразрешения. На основании анализа больших многоцентровых исследований была установлена необходимость профилактики резус-сенсибилизации в процессе беременности. Рутинное антенатальное введение иммуноглобулина анти-резус в 28 и 34 недели беременности, после амниоцентеза или биопсии хориона при генетических исследованиях позволяет снизить частоту сенсибилизации до 0,2%, а по данным отдельных исследований (Bowman и соавт., 1978; Tovey и соавт., 1983), до 0,1%. Имея в виду факт, что изоиммунизация при беременности обусловлена трансплацентарной трансфузией, риск иммунизации возрастает при таких акушерских осложнениях и манипуляциях как: спонтанные и вызванные аборты, амниоцентез, биопсия хориона, кордоцентез, внематочная беременность, родовое кровотечение при отслойке плаценты, антенатальная гибель плода, поворот плода.

Рекомендовать при всех этих осложнениях и манипуляциях введение иммуноглобулина чрезвычайно сложно, так как, во-первых, он дорогой, во-вторых, возможны побочные действия. Поэтому, многие исследователи считают необходимым определить величину трансплацентарной трансфузии методом Kleihauer-Betke как очень точным и самым дешевым методом оценки величины кровопотери.

Тем не менее, в ряде стран мира метод антенатальной профилактики резус-сенсибилизации стал рутинным в клинической практике, дискутируются только дозы вводимого иммуноглобулина. В Великобритании рекомендуется антенатальное введение 500 IU (100 мкг) в 28 и 34 недели беременности или 1000 IU (200 мкг) между 28 и 30 неделями. Срок пол-жизни стандартной дозы составляет 21-30 дней, поэтому введение в 28-30 недель обеспечивает защиту на 12 недель (Hartwell, 1998). Такой способ профилактики применяется после оценки необходимой стоимости и организации адекватного снабжения иммуноглобулином (Robson S. и соавт., 1998).

В США рекомендуется антенатальное введение иммуноглобулина всем резус-отрицательным женщинам в 28-30 недель в дозе 300 мкг, а если есть подозрение на большое трансплацентарное кровотечение, то оценивать его величину по методу Kleihauer-Betke и при необходимости вводить дополнительно 125 IU (25 мкг) на 1 мл фетальной крови.



После родов профилактика проводится всем женщинам, родившим резус-положительного ребенка. Дозы иммуноглобулина для послеродовой профилактики варьируют в разных странах от 100 мкг до 300 мкг и определяются нередко характером родов, оперативными вмешательствами. Расширение показаний к антенатальной профилактике резус-сенсibilизации ставит несколько чрезвычайно важных вопросов:

1. Возможности снабжения иммуноглобулином, так как введение антенатальной профилактики в 4 раза увеличит потребность в иммуноглобулине (Greenough A., 2001).
2. Вопросы безопасности иммуноглобулина — возможная передача вирусной инфекции.

Относительно этих вопросов — иммуноглобулин антирезус получают из крови иммунизированных лиц в связи с этим стоимость его достаточно высокая, и кроме того есть гипотетические возможности передачи от доноров вирусной инфекции. Однако, опыт использования в течение более чем 30 лет показывает, что риск минимальный. При взятии крови доноры обследуются чрезвычайно тщательно и нет в литературе ни одного случая передачи гепатита В или С, ВИЧ-инфекции, кроме того в компаниях, продуцирующих высококачественные иммуноглобулины, введена эффективная процедура инактивации вирусной инфекции.

Альтернативным подходом к получению большого количества иммуноглобулина является получение моноклональных антител, путем клонирования. Было показано (Paterson T., и соавт., 1988; Edelman и соавт., 1997), что рекомбинантные моноклональные антитела не уступают по эффективности стандартным поликлональным анти-D антителам, а в экспериментах *in vitro* скорость удаления Rh+ эритроцитов моноклональными анти-D была выше, чем при использовании поликлональных антител. Вопросы возможности передачи инфекции при использовании моноклональных антител вообще не стоят.

Функциональная активность антител поликлональных IgG<sub>3</sub> и моноклональных IgG<sub>1</sub> различна, но их смесь является более эффективной в профилактике сенсibilизации (Armstrong-Fischer S., и соавт., 1999). После тщательных клинических испытаний по оценке эффективности, безопасности и стоимости, возможно, что применение моноклональных антител станет рутинным в акушерской практике. Снизить потребность в иммуноглобулине возможно также путем определения D-гена плода по крови матери. При наличии у плода резус-отрицательной крови проводить профилактику резус-сенсibilизации не имеет смысла.

При доступности в клинической практике этого метода необходимо сопоставить стоимость анализа и стоимость профилактики резус-сенсibilизации.

В нашей стране, к сожалению даже после родов не проводится профилактика резус-сенсibilизации должным образом, не говоря об антенатальной профилактике. Возможно, это обусловлено отсутствием должных знаний у врачей, отсутствием отечественного иммуноглобулина анти-D в достаточном количестве, отсутствием законодательной базы по профилактике резус-сенсibilизации.

Имеющийся отечественный иммуноглобулин анти-D не стандартизирован в мкг или международных единицах. Это не позволяет подобрать нужные дозы и сравнить наши статистические данные с данными других стран.

Подводя итог представленным данным литературы и собственным исследованиям по профилактике резус-сенсibilизации, мы считаем необходимым высказать ряд практических рекомендаций.

В женской консультации при взятии на учет беременных женщин обязательно определение группы крови и резус-принадлежности. При резус-отрицательной крови и резус-положительной крови мужа необходимо определить есть ли антирезус антитела. При отсутствии антител повторный скрининг производится в 24 и в 28 нед беременности. При отсутствии антител в 28 нед проводится профилактика резус-сенсibilизации назначением 1 дозы в 300 мкг иммуноглобулина антирезус или в 28 и в 34 нед по 100 мкг анти-D.

Помимо этих сроков антенатальной профилактики во многих странах мира проводят дополнительно введение иммуноглобулина анти-D всем резус-отрицательным несенсibilизированным женщинам после абортoв и выкидышей на малом сроке беременности, или при инвазивных процедурах, при отслойках плаценты.

В родильном доме целесообразно организовать службу по регистрации и учету всех резус-отрицательных женщин, поступивших на роды. Задачами службы являются учет проведенных исследований у резус-отрицательных женщин, отбор лиц с наибольшим риском сенсibilизации, ведение учета женщин, получивших иммуноглобулин.

Во время родов у женщины с резус-отрицательной кровью в родильном отделении целесообразно организовать сбор крови из пуповины для определения, резус-принадлежности и группы крови плода, из вены матери — для определения антител. Доза иммуноглобулина после родов — от 100 мкг до 300 мкг внутримышечно.

шечно не позднее 72 часов после родов. Доза иммуноглобулина — 100 мкг подавляет сенсibilизацию при наличии в кровотоке матери 4 мл эритроцитов плода или 10 мл плодовой крови.

Если в родильном доме нельзя организовать исследование крови по методу Kleihauer (отсутствует специализированная лаборатория), то нужно помнить о том, что трансплацентарное кровотечение более 10 мл чаще наблюдается после осложненных родов и различных оперативных вмешательств (ручное отделение последа, кесарево сечение, роды в тазовом предлежании), в этом случае целесообразно вводить двойную дозу иммуноглобулина анти-резус.

Величину трансплацентарного кровотечения можно определить косвенным путем: 1) падение содержания гемоглобина в крови пуповины ниже 150 г/л при отсутствии признаков гемолитической болезни у новорожденного является подозрительным на наличие большого трансплацентарного кровотечения; 2) при исследовании крови через 1–2 дня после введения достаточной дозы иммуноглобулина анти-резус, в крови должны определяться хотя бы следы антител, особенно при исследовании энзимобработанными эритроцитами. Отсутствие антител свидетельствует о недостаточной дозе иммуноглобулина.

Может быть предложен тест, наиболее широко используемый в США — перекрестная реакция взаимодействия эритроцитов матери с иммуноглобулином анти-D. При отсутствии большого количества плодовой крови в материнском кровотоке — перекрестная реакция негативная. Если наступает агглютинация, то значит в материнском кровотоке много резус-положительной крови плода. В последнем случае, если нет возможности провести исследование крови по методу Kleihauer, целесообразно ввести повторную дозу.

В обменной карте необходимо сделать отметку о введении иммуноглобулина антирезус и о необходимости исследования крови на антитела через 6 мес после родов в женской консультации.

Женщина должна знать, что действие препарата временное, поэтому искусственное прерывание следующей беременности может привести к сенсibilизации к резус-фактору.

Важным является примерный расчет количества доз иммуноглобулина для родовспомогательного учреждения. Принимая во внимание данные литературы, можно считать, что из 1000 рожавших женщин 170 будут резус-отрицательными. Из них у 100 женщин ребенок будет с резус-положительной кровью (частота гена D — 0,59). Следовательно, на 1000 родов необходимо 100 доз

препарата, если его вводить всем женщинам с резус-отрицательной кровью, родившим детей с резус-положительной кровью.

Таким образом, проведенные исследования по применению иммуноглобулина анти-резус показали, что этот метод профилактики резус-сенсibilизации обладает высокой эффективностью. Его повсеместное внедрение в практику работы родовспомогательных учреждений чрезвычайно перспективно для ликвидации одного из тяжелейших заболеваний новорожденных — гемолитической болезни иммунной природы.

akusher-lib.ru

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильева З.Ф. Антиген-несовместимая беременность и методы защиты плода и новорожденного при иммунологическом конфликте // Автореф. Дис...доктр. Мед наук. Л., 1972.
2. Волкова Л.С. Иммунобиологические взаимоотношения плода и материнского организма (клинико-экспериментальные исследования) //Автореф.докт. дис...М., 1967.
3. Armstrong-Fischer S. et al. Evaluation of a panel of human monoclonal antibodies to D and exploration of the synergistic effects of blending IgG 1 and IgG3 antibodies on their in vitro biologic function //Transfusion.-1999.-39(9).-1005-1007.
4. Bowman J., Chown J. et al. Rh-immunization during pregnancy: antenatal prophylaxis // Can.Med. Assoc.J.-1978.-118.-623-627.
5. Brody N., Walker J., Siskind G. Studies on the control of antigenic competition and suppression of antibody on the immune response // J. Exp. Med.-1967.-126.-81.
6. Clarke C.A. Prevention of Rhesus iso-immunization //Lancet.-1968.-2.-1.
7. Clarke C.A., Finn R. The protection afforded by FDJ-incompatibility against erythroblastosis due to Rhesus anti-D // Int. Arch. Allergy.-1958.-13.-380.
8. Clarke C.A., Sheppard P.M. Rhesus sensitization and abortion // Brit. Med.J.-1969.-4.-743.
9. Cohen C., Allton M. Iso-immunization in the rabbit with antibody-coated erythrocytes // Nature (London).-1962.-193.-990.
10. Cohen E.P. Conversion of nonimmune cells into antibody-forming cells by RHA //Nature (London).-1967.-213.-462.
11. Davey M.G. Current problems in prophylactic treatment of Rh-erythroblastosis ( an invitational symposium) // J.Reprod.Med.-1971.-6.-5.-70-71.
12. Deicher H., Borner P. Current problems in prophylactic treatment of Rh-erythroblastosis (an invitational symposium) // J.Reprod.Med.-1971.-6.-5.-70-71.
13. Edelman L., Margarite C. et al. Obtaining a functional recombinant anti-rhesus (D) antibody using the baculovirus-insect cell expression system // Immunology.-1997.-91(1).-13-19.
14. Finn R., Harper D. Transplacental hemorrhages // Transfusion.-1963.-3.-114-124.
15. Freda V. Recent obstetrical advances in the Rh problem. Antepartum management, amniocentesis and experience with hysterotomy and surgery in utero // Bull. N. Y. Acad. Med.-1966.-2.6.-474-503.
16. Freda V., Gorman J., Pollack W. Successful prevention of experimental Rh-sensitization in men with an anti-Rh gamma globulin antibody preparation // Transfusion.-1964.-4.-26.-32.
17. Hollan S. Current Problems in prophylactic, treatment of Rh-Erythroblastosis ( an invitational symposium) // J. Reprod. Med. - 1971.-6.-5.-73.
18. Huntingford P.J. Prevention of Rhesus iso-immunization disorder of the newborn //Dev.Med. Children. Neurol.-1967.-9.-102.
19. Kleihauer E., Braun H., Betke K. Demonstration von fetalen Hamoglobin in den erythrocyten eines blutausstirchs //Klin. Wschr.-1957.-35.-637-638.
20. Knox E. Obstetric determinants of Rh sensitization // Lancet.-1968.-1.-433.
21. Levine P. Serological factor as possible causes in spontaneous abortion // J. Hered.-1943.-34.-71.

22. Mollison P.L., Hughes-Jons N. Clearance of Rh-positive red cells by low concentrations of Rh-antibody // *Immunology*.-1967.-12.-63.
23. Murray S., Barron S., Mc Nay R Transplacental haemorrhage after abortion // *Lancet*.-1970.-1.-631-634.
24. Paterson T., Innes J. et al. Variation in IgG1 heavy chain allotype does not contribute to differences in biological activity of two human anti-Rhesus (D) monoclonal antibodies // *Immunotechnology*.-1998.-4(1).-37-47.
25. Pollack W., Gorman J. et al. Anti-body-mediated immune suppression to Rh-factor. Animal models suggesting mechanism of action // *Transfusion*.-1968.-8.-134.
26. Robson S.C., Lee D. et al. Anti-D immunoglobulin in RhD prophylaxis // *Br.J.Obstet.Gynecol*.-1998.-105.-129-134.
27. Stern K., Goodman H., Berger M. Experimental isoimmunisation to hemoantigens in man // *J. Immunol*.-1961.-87.-2.-189-198.
28. Tovey L., Townley A. et al. Yorkshire antenatal anti-D immunoglobulin trial in primigravida // *Lancet*.-1983.-2.-244-246.
29. Uhr J.W., Baumann J.B. Antibody formation 1. Suppression of antibody formation by passively administered antibody // *J.Exp.Med*.-1961.-113.-935.
30. Walker J.G., Siskind G.M. Studies on the control of antibody synthesis. Effect of antibody affinity upon its ability to suppress antibody formation // *Immunology*.-1968.-14.-21.
31. Woodrow J., Donohoe W. Rh-immunisation by pregnancy: results of a survey and their relevance to prophylactic therapy // *Brit. Med. J*.-1968.-2.-139.
32. Zipursky A., Israels L. The pathogenesis and prevention of Rh-immunization // *Canad. Med. Ass*.-1967.-97.-1245.