ТЮМЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

 Биологический факультет

кафедра физиологии человека и животных

 Допущена к защите

 Зав. кафедрой

 \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

ПОКАЗАТЕЛИ КРАСНОЙ КРОВИ

 У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ ЮГА И СЕВЕРА ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ, БОЛЬНЫХ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ ПО

АВО-СИСТЕМЕ И Rh - ФАКТОРУ

 Дипломная работа

 студентки VI куса

 Е. В. ОСИНЦЕВОЙ

 Научный руковотель:

 к.б.н. Н. В. Турбасова

Тюмень 2000

**Содержание**

 с.

**Список сокращний**..................................................................................5

 **Введение**.................................................................................................6

**I. Обзор литературы**...........................................................................8

 1.1. Физиологическая желтуха новорожденных.............................8

 1.2. Значение резус - фактора в развитии сенсибилизции...........9

 1.2.1. Изоиммунизация по резус - фактору .................................11

 1.3. Изоиммунизация по АВО - системе ......................................12

 1.4. Распад гемоглобина в тканях (образование билирубина) ..16

 1.5. Роль печени в пигментном обмене ......................................20

 1.6. Классификация гемолитической болезни новорожденных .22

 1.7. Клиническая картина гемолитической болезни новорожден- ных.........................................................................................23

 1.8. Постнатальное лечение гемолитической болезни

 новорожденных ...................……….......................................27

 1.8.1. Оперативный метод лечения ....................................27

 1.8.2. Консервативные методы лечения .............................29

 1.9. Влияние климатических и экологических факторов севера на репродуктивную функцию женщин и здоровье детей..................30

**II. Материалы и методы исследования**.........................................34

 2.1. Материалы исследований......................................................34

 2.2. Определение количества гемоглобина..................................34

 2.3. Определение гематокрита......................................................36

 2.4. Определение количества эритроцитов..................................36

 2.5. Определение общего билирубина.........................................38

 2.6. Определение прямого билирубина........................................39

 2.7. Определение непрямого билирубина....................................39

 2.8. Методы статистической обработки результатов...................40

**III. Результаты исследования**..........................................................41

 3.1. Сравнительная характеристика показателей перифериче

 ской крови у новорожденных с гемолитической анемией по АВО- системе пролеченных консервативным путем.............................41

 3.2. Сравнительная характеристика показателей перифериче

 ской крови новорожденных с гемолитической анемией по АВО- системе и Rh-фактору пролеченных оперативным и кон сервативным пу тем.......................................................................43

 3.3. Сравнителная характеристика показателей периферической крови у новорожденных с гемолитической анемей по Rh-фактору пролеченных оперативным путем.................................................45

 3.4. Сравнительная характеристика показателей перифери ческой крови новорожденных с гемолитической анемией по Rh-фактору пролеченных консервативным методом..................47

 3.5. Сравнительный анализ показателей периферической крови

 у новорожденных с гемолитической анемией, по АВО- систе

 ме и Rh - фактору и по АВО системе.............................…..49

 3.6. Сравнительный анализ показателей периферической крови

 у новорожденных с гемолитической анемией по Rh- фактору,

 про леченных консервативным путем и новорожденных с ГА по

 Rh- фактору, пролеченных оперативным путем ........…...........51

 3.7. Сравнительный анализ показателей периферической крас

 ной крови у детей с ГБН родившихся от матерей, приехавших с севера Тюменской области...........................................................52

 3.8. Сравнительный анализ показателей периферической крас ной крови у детей с ГБН родившихся от матерей, приехавших с юга Тюменской области................................................................54

 3.9. Сравнительный анализ показателей периферической крас ной крови у детей с ГБН родившихся от матерей, приехавших с юга и с севера Тюменской области..............................................56

 **IV. Обсуждение результатов исследования**..................................58

**Выводы**................................................................................................. 63

**Список литературы**............................................................................. 64

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

БЭ - билирубиновая энцефалопатия

ГА - гемолитическая анемия

ГБН - гемолитическая болезнь новорожденных

ЗПК - заменное переливание крови

НБ - непрямой билирубин

ОБ - общий билирубин

ПБ - прямой билирубин

Hb - гемоглобин

Ht - гематокрит

Rh - резус фактор

**ВВЕДЕНИЕ**

 В ряде случаев иммунологическая несовместимость между матерью и плодом становится причиной тяжелых нарушений эмбриогенеза и постнатального развития. В настоящее время можно считать выясненным значение резус-фактора в патогенезе большинства случаев гемолитической болезни новорожденных.

Правильное понимание сущности процессов, возникающих в организме человека при резус-конфликте, позволило значительно улучшить профилактику и лечение различных форм гемолитической анемии новорожденных и тяжелых осложнений при переливаниях крови, сущность которых раньше оставалась совершенно неизвестной или трактовалась неправильно. Стали более понятными отдаленные последствия тяжелой желтухи новорожденных.

Желтухи у детей, особенно у новорожденных, являются следствием нарушения билирубинового обмена. Долгое время причина поражения мозга при тяжелой желтухе, связанной с гемолитической болезнью новорожденных, когда имеется несовместимость крови матери и ребенка по резус-фактору, при резко выраженной физиологической желтухе у недоношенных новорожденных и других заболеваниях оставалась неизвестной. Поэтому дети не получали правильной патогенетической терапии. Лишь в последние годы в связи с новыми исследованиями по билирубиновому обмену повысился интерес к изучению разнообразных состояний у новорожденных, сопровождающихся желтухой.

На основании новой теории билирубинового обмена, подтвержденной многочисленными исследованиями как в клинике, так и в эксперименте, был пересмотрен патогенез физиологической желтухи и выявлены новые заболевания.

На основании вышеизложенного, целью наших исследований явилось сравнительное изучение показателей периферической крови новорожденных при гемолитической анемии по Rh-фактору и АВО-системе, прошедших оперативный или консервативный курс лечения. Рассмотреть течение ГБН в динамике у новорожденных детей родившихся от матерей приехавших с севера и юга Тюменской области. Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

У новорожденных с гемолитической анемией, прошедших курс консервативного или оперативного лечения, изучить следующие показатели периферической крови:

I. Содержание гемоглобина в крови;

II. Количество гематокрита;

III. Эритроциты;

IV. Количества общего билирубина;

V. Количество прямого билирубина;

VI. Количество непрямого билирубина.

**I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

**1.1. Физиологическая желтуха новорожденных**

Физиологическая желтуха развивается у всех новорожденных в первые дни жизни, тогда как желтушность кожных покровов-лишь у 60-70% .Она появляется на 2-5 день после рождения, у большинства детей - не ранее 36 часов жизни. Сначала она выявляется на лице, затем на туловище, конечностях, коньюктивах и слизистых. Общее состояние у доношенных новорожденных мало меняется при желтухе.

Физиологическая желтуха является следствием повышения НБ в сыворотке крови, которое в менее выраженной степени отмечается также у детей без видимой желтухи. Нормальными величинами концентрации билирубина в сыворотке пуповинной крови считают 26-34 мкмоль/л (Суздальцев, 1976). Практически у всех новорожденных в первые дни жизни концентрация билирубина в сыворотке крови увеличивается со скоростью 1,7-2,6 мкмоль/л/ ч, достигая на 3-4-й день, в среднем, 103-137 мкмоль/л. Приблизительно у 1/3 доношенных новорожденных величина подъема концентрации билирубина даже меньшая и у 1/3 - большая - доходит до 171 мкмоль/л. При физиологической желтухе увеличение уровня билирубина идет за счет неконъюгированной его фракции - НБ. Желтизна кожных покровов появляется при физиологической желтухе новорожденных на 2-3 день жизни, когда концентрация НБ достигает у доношенных новорожденных 51 мкмоль/л, а у недоношенных - 85 мкмоль/л. В дальнейшем, в течении последующих дней, нарастание билирубина продолжается, достигая максимума на 3-4-й день, после чего билирубин начинает постепенно понижаться, желтуха бледнеет и исчезает в конце первой - начале второй недели (Шабалов, 1995).

**1.2. Значение резус-фактора в развитии сенсибилизации**

 Организм беременной женщины постоянно подвергается воздействию многообразных антигенных раздражителей, поступающих из крови и тканевых элементов развивающегося плода.

Среди клинических форм иммунопатологии беременности наиболее изучена и занимает ведущее место гемолитическая болезнь плода и новорожденного, которая развивается вследствие несовместимости организмов матери плода по различным эритроцитарным антигенам (Персианинов и др. , 1981).

Система резус (Rh-Hr) включает большое количество генетически и иммунологически связанных изоантигенов, находящихся в эритроцитах, передающихся по наследству и существующих независимо от других групп крови. Резус-фактор является очень активным антигеном, способным вызывать образование изоиммунных антител. В крови людей содержатся только агглютиногены этой системы, а антитела по отношению к ним в норме не встречаются (Заривчацкий, 1995).

Известно 14 основных эритроцитарных групповых систем, обьединяющих более 100 антигенов, а также многочисленные частные и общие с другими тканями эритроцитарные антигены. Поэтому, как правило, эритроциты ребенка имеют какие-то отцовские антигены, отсутствующие у матери. Вместе с тем гемолитическую болезнь новорожденных обычно вызывает несовместимость плода и матери по резус- или АВО-антигенам, редко по другим антигенным системам (ввиду их меньшей иммуногенности) (Прокоп, 1991).

Установлено, что антигенная система резус состоит из 6 основных антигенов, обозначаемых либо С, с; D, d; E, e (терминология Фишера), либо Rh , hr , Rho, hro, Rh , hr (терминология Виннера). Резус-положительные эритроциты содержат D-фактор (Rho), а так называемые резус-отрицательные эритроциты его не имеют, хотя в них есть обязательно другие антигены системы резус. Существование d-антигена не доказано, антитела к нему не выявлены, и, когда пишут d-антиген, имеют в виду отсутствие D-антигена. D-антиген - липопротеин, расположенный на внутренней поверхности плазменной мембраны эритроцитов, тогда как АВ-антигены - на наружной. Полное отсутствие Rh-антигенов бывает очень редко, приводя к гемолитической анемии (Шабалов, 1996).

Наследование резус-антигенов определяется серией аллельных генов, расположенных тесно на одной хромосоме, причем гены D и d, C 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, dd-гомозиготные, и Dd-гетерозиготные. Все три гена одной хромосомы наследуются одновременно. Однако связь их при этом иногда нарушается, в частности тогда, когда происходит перекрест хромосом (Персианинов, 1981). Признак D - сильный антиген и проникновение резус-положительных кровяных телец в кровоток индивида с резус-отрицательной кровью может вызвать изоиммунизацию, т. е. образование анти-D-антител. Случаи возникновения изоиммунизации против другого неполного антигена резус-системы, например против С или Е, встречаются намного реже (Полачек, 1986).

Антигены резус в отличии 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 антител-резус, проникающих из организма матери. Этим, и не без оснований, объясняют тот факт, что ГБН в большинстве случаев связана с резус-фактором (Воробьев, 1985).

**1.2.1. Изоиммунизация по резус-фактору**

Появление антител у резус-отрицательных людей подчинено различным условиям: повторности попаданий антигена, интервалу между ними, количеству антигена и т. д. Выработка антител наблюдается через 3-5 месяцев и позднее с момента попадания антигена в кровоток. Сенсибилизация организма усиливается по мере продолжающегося действия антигена (Волкова,1970).

Имунные 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 IgМ. Молекулы ” полных” антител обладают большими размерами. Их относительная молекулярная масса равна 1000000, 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 IgА. Примерно 1 из 10 проб анти-резус сыворотки содержит наряду с IgG-антителами небольшое количество IgA-антител. “Блокирующие” антитела обладают способностью сенсибилизировать эритроциты без их агглютинации. 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 160000. Поэтому они легко проникают через плаценту и являются основной причиной развития гемолитической болезни у плода.

Образовавшиеся антирезус-антитела принадлежат в большинстве случаев к типу IgG, легко проходят через плаценту в организм плода и от 20-ой недели связываются с резус-рецепторами на поверхности кровяных телец. Таким образом поврежденные эритроциты задерживаются в избирательном порядке в печени и селезенке и распадаются. Происходит вне сосудистый гемолиз, при котором гемоглобин не освобождается в кровоток, а превращается в ретикуло-эндотелиальных клетках в желчный пигмент (Полачек,1986).

**1.3. Изоиммунизация по АВО - системе**

Систему АВО составляют два генетически детерминированных агглютиногена (антигена) - А и В, и два аглютинина (антитела) - α и β . Агглютиногены А и В содержатся в эритроцитах, а агглютинины альфа (анти-А) и бета (анти-В) - в сыворотке. При встрече одноименных антигенов и антител возникает реакция агглютинации, т. е. разрушения форменных элементов крови.

По сочетанию агглютиногенов (А и В ) и агглютининов ( α и β ) выделяют четыре группы крови. У людей с первой группой крови в эритроцитах нет агглютиногенов, а в плазме содержатся оба агглютинина. Вторая группа крови имеет в эритроцитах агглютиноген А, а в плазме агглютинин β . Для третьей группы характерно наличие агглютиногена В в эритроцитах и агглютинина α в плазме. О четвертой группе речь ведут тогда, когда в эритроцитах присутствуют агглютиногены АВ, а в плазме нет агглютининов. Учитывая высокую вариабельность агглютиногена А выделяют не четыре, а более 100 подгрупп крови.

Агглютинины α и β являются антителами по отношению к агглютиногенам А и В. Они способны агглютинировать эритроциты, содержащие соответсвующий агглютиноген. У одного и того же человека не могут быть одноименные агглютиногены и агглютинины (А и α, В и β ) (Заривчацкий, 1995).

Как показали наблюдения, гемолитическая болезнь новорожденных (ГБН) не всегда обязана своим происхождением несовместимости, крови матери и плода по резус-фактору. Резус-несоответствие ведет к развитию гемолитической болезни новорожденных в 90-92 % всех случаев. Причина заболевания у остальных 8-10 % может быть изоиммунизация организма матери как разновидностями резус-фактора, так и еще мало изученными факторами крови (Воробьев, 1985).

Несовместимость по АВО-антигенам, приводящая к гемолитической болезни новорожденных, обычно бывает при группе крови матери О(I) и группе крови ребенка А(II). По данным американских акушеров, риск резус-аллоиммунизации - 16 %, если мать и ребенок не совпадают по АВО групповым антигенам, и 1,5%, если они по ним совместимы. И все же, если ГБН развивается при двойной несовместимости ребенка и матери, т. е. мать О(I) Rh(-), а ребенок А(II) Rh(+) или В(III) Rh(+), то как правило, она обусловлена А- или В-антигенами (Шабалов, 1996).

В крови лиц группы О(I) всегда имеются так называемые нормальные анти-А- и анти-В-антитела, обычно типа IgМ, которые через плаценту не проходят и плод не повреждают. По не совсем ясным причинам их спектр иногда может обогащаться антителами типа IgG, которые по отношению к плоду агрессивны (Полачек, 1986).

Сравнивая титр α - и β -агглютининов в венозной и плацентарной крови в тех случаях, когда ребенок имел несовместимость крови по АВО-факторам с матерью, автор отметил значительную их задержку в плацентарном пространстве. Это явление он объяснил так: групповые факторы А и В содержатся у человека не только в эритроцитах, но и в клетках тканей, в жидкостях организма, в секретах и даже в околоплодных оболочках плода. В случаях различной групповой принадлежности плода и матери околоплодные оболочки наследуют различные антигены: хорион-антигены крови матери, амнион-антигены крови плода. При различной групповой принадлежности плода и матери, основную барьерную функцию выполняет плацента и, возможно, околоплодные воды. Предохранительный механизм плаценты в отношении плода в условиях его различной групповой принадлежности с кровью матери можно объяснить связыванием групповых антител матери соответствующими антигенами амниона (и, возможно, антигенами околоплодных вод). Этим же механизмом объясняется снижение титра изоантител в пуповинной крови; благодаря последнему в плаценте происходит нейтрализация многих материнских агглютининов прежде, чем они попадают в кровь плода (Таболин, 1967).

Другим защитным механизмом от воздействия α - или β -агглютининов может быть недостаточное развитие к моменту родов А- или В-рецепторов на эритроцитах ребенка. Это ведет к тому, что эритроциты не так легко агглютинируются и гемолизируются под влиянием этих антител. Антитела, прошедшие через плаценту, связываются зрелыми эритроцитами, что ведет к их распаду. Незрелые эритроциты связываться с антителами не могут, поэтому и живут дольше. Отсюда при высоком проценте зрелых эритроцитов и незначительной продукции антител матерью у ребенка возникает заболевание в слабой форме. В то же время, при тяжелом заболевании происходит быстрый распад зрелых эритроцитов; у ребенка остаются незрелые эритроциты (Бойтлер,1981).

Хотя при гемолитической болезни новорожденных, связанной с АВО-несовместимостью, имеется тот же механизм изоиммунизации, что и при резус-несовместимости, тем не менее между этими двумя заболеваниями выявлен ряд отличительных особенностей как серологического, так и клинического характера:

1. α - и β -агглютинины в норме имеются в сыворотке матери и могут проникать к плоду. Резус-антител в норме нет ни у матери, ни у плода.

2. Анти-А и анти-В, являясь полными агглютининами, так же как и другие антитела, могут проходить через плаценту, в то время как полные резус-антитела через нее не проходят.

3. Ткани плода у “выделителей” (люди, у которых вещества А и В обнаруживаются не только в крови, но и в секретах) и “ невыделителей” содержат А- и В-вещество, которое обычно нейтрализует анти-А- или анти-В-антитела. Резус-антитела тканевыми антителами не нейтрализуются, поэтому их попадание к резус-положительному плоду и вызывает гемолиз. Такое отличительное свойство групповых антител ведет к развитию гемолитической болезни без предварительной сенсибилизации, так как кровь матери уже имеет естественные α - или β - агглютинины.

При наблюдении установлено, что не во всех случаях гемолитической болезни новорожденных, обусловленной АВО-несовместимостью, имеется повышение естественных α - или β - агглютининов в сыворотке крови матери. Недавние исследования показали, что ответственными за возникновение заболевания являются “иммунные” анти-А- или анти-В-антитела, которые возникают при парентеральном проникновении антигена, появляющегося у плода довольно рано. Способностью к образованию иммунных антител в ответ на проникновение агглютиногенов А и В обладают не все матери, кровь которых несовместима с кровью ребенка. Эти иммунные тела проходят через плацентарный барьер легче и чаще, чем естественные антитела. Поэтому факт установления различий крови матери и ребенка по основным группам еще не является окончательным критерием для утверждения, что мы имеем дело с групповой несовместимостью как причиной болезни, так как известно, что патологический процесс вызывают антитела. В то же время наблюдения показали, что трудно не считаться с наличием высокого уровня естественных антител, отмеченных у ряда детей при тяжелом течении заболевания (Садыков, 1998).

Таким образом, повышение естественных α - и β - агглютининов в крови матери до высокого уровня не является решающим фактором для развития гемолитической болезни новорожденных, связанных с групповой несовместимостью. Важное значение имеет повышение титра неполных (иммунных) антител. Иммунные антитела по своим свойствам отличаются от естественных антител (Таболин, 1967).

**1.4. Распад гемоглобина в тканях (образование билирубина)**

Продолжительность жизни эритроцитов составляет 120 дней; после этого происходит их разрушение и освобождение гемоглобина. Главными органами, в которых осуществляется разрушение эритроцитов и распад гемоглобина, являются печень, селезенка и костный мозг, хотя, в принципе, оба процесса могут происходить и в клетках других органов (Березов, 1990).

Общий объем эритроцитов (гематокритная величина), или показатель гематокрита, дает представление о соотношении между объемами плазмы и форменных элементов крови (главным образом эритроцитов), полученном после центрифугирования крови. Принято гематокритной величиной выражать объем эритроцитов (Меньшиков, 1987).

Гемоглобин - основной дихательный пигмент эритроцитов, относящийся к хромопротеидам и обеспечивающий ткани кислородом; состоит из белка - глобина и гема - соединения протопорфирина IX с железом. Последний придает гемоглобину характерную окраску (Коржуев, 1964).

Молекула гемоглобина здорового человека (Hb А) состоит из четырех субъединиц, образованных комплексом группы гема - и полипептидной цепи глобина. Гем представляет собой протопорфириновое кольцо с поливалентным атомом железа в центре (Черниговский и др., 1968). Парные полипептидные цепи гемоглобина (2 α и 2 β) различаются по количеству аминокислотных остатков и по последовательности их расположения: α -цепь состоит из 141 аминокислотного остатка, β - цепь - из 146.

Гемоглобин F (фетальный, от анг. foetus-плод), (α2 , γ2 ) - главный компонент в крови новорожденных, где он составляет 60-80 %. В течении первого года после рождения Hb F почти полностью заменяется Hb А. В крови взрослого человека содержание Hb F в норме не превышает 1-2 %. α - цепи этого гемоглобина не отличаются по своей структуре от β - цепей Hb А, в то время как другая пара цепей - γ - цепи - отличается от β - цепей Hb А. Аминокислотный анализ γ - цепей показал, что γ - цепи Hb F, как и β - цепи Hb А, состоят из 146 аминокислотных остатков, но отличаются порядком аминокислот в 39 позициях. Кроме того, γ - цепь является единственной, в состав которой входят остатки изолейцина. Фетальный гемоглобин в 155 раз более устойчив к воздействию щелочи, чем Hb А, имеет лучшую растворимость в концентрированных солевых растворах (Идельсон, 1975).

Главным источником билирубина в организме является гемоглобин. Распад гемоглобина и его превращение в билирубин протекает в клетках ретикуло-эндотелиальной системы. Посчитано, что ежедневно у человека разрушается около 1% всей массы гемоглобина. Существует несколько путей поступления гемоглобина в ретикуло-эндотелиальные клетки (Иржак, 1975). При нормальных состояниях основным и главным источником гемоглобина является фагоцитоз состарившихся эритроцитов с последующим их разрушением и выделением гемоглобина. Гемоглобин может попадать в ретикуло-эндотелиальную систему и непосредственно из плазмы (Каллаева, 1991). Так, при быстром внутрисосудистом гемолизе в плазме может появиться необычный пигмент- метгемальбумин, который также превращается в билирубин в ретикуло-эндотелиальной системе. Метгемальбумин обнаружен в крови здоровых новорожденных. Как и следовало ожидать, метгемальбумин часто обнаруживают в высокой концентрации в сыворотке крови детей с тяжелой гемолитической болезнью новорожденных (Таболин, 1967).

Распад гемоглобина в печени начинается с разрыва - метиновой связи между I и II кольцами порфиринового кольца. Этот процесс катализируется НАДФ-содержащей оксидазой и приводит к образованию зеленого пигмента вердоглобина (холеглобина) (Измайлов, 1968).

Дальнейший распад вердоглобина, вероятнее всего, происходит спонтанно с освобождением железа, белка-глобина и образованием одного из желчных пигментов - биливердина. Спонтанный распад сопровождается перераспределением двойных связей и атомов водорода в пиррольных кольцах и метиновых мостиках. Образовавшийся биливердин ферментативным путем восстанавливается в печени в билирубин, являющийся основным желчным пигментом у человека и плотоядных животных.

Основным местом образования билирубина являются печень, селезенка и, по-видимому, эритроциты (при распаде которых иногда разрывается одна из метиновых связей в протопорфирине). Образовавшийся во всех этих клетках билирубин поступает в печень, откуда вместе с желчью изливается в желчный пузырь (Березов, 1990). Билирубин, образовавшийся вклетках системы макрофагов, имеет название свободного, или НБ, поскольку из-за плохой растворимости в воде он легко адсорбируется на белках плазмы крови, и для его определения в крови необходимо предварительное осаждение белков спиртом. После этого билирубин вступает во взаимодействие с диазореактивом Эрлиха (Комаров, 1981).

Неконъюгированный (свободный или непрямой) билирубин не может преодолевать почечный барьер, токсичен для головного мозга, особенно у грудных детей (снижены функции гематоэнцефалического барьера). Транспортировку НБ по кровеносной системе осуществляет в основном альбумин (альбумин-лигандин). При значительном увеличении концентрации непрямого билирубина в сыворотке крови (до 171,0-256,5 ммоль/л) часть пигмента не связывается с альбумином. Обычно отсутствие связи с белком объясняется полным использованием мощности альбумина (Хазанов, 1988). Каждая молекула альбумина может связывать 2 молекулы НБ, но одну из них прочно, а другую - рыхло. 1г альбумина прочной связью захватывает 14,4 ммоль НБ и столько же - непрочно. НБ в прочной связи с альбумином, хотя и может проникнуть в мозг, но нейротоксичностью, по - видимому, не обладает (Шабалов, 1996).

НБ в плазме крови может вести себя как анион за счет карбоксилазных групп диссоциированной пропионовой кислоты, а при присоединении 2 атомов водорода - как кислота. Если НБ-анион имеет линейную структуру, то НБ-кислота - узловую. Последнее соединение не растворимо в воде, но способно адгезировать к мембранам клеток вследствие образования комплексного соединения с фосфолипидами и далее проникать в цитоплазму путем аутофагоцитоза. Это и есть токсичный билирубин, вызывающий поражение мозга, ядерную желтуху (Рябов, 1978).

Уровень свободного НБ в крови невелик (около 0,4 мкмоль/л). Большее же количество узловой формы НБ связано с альбумином, но эта связь непрочная. В мозге “узловой” НБ теряет связь с альбумином и под влиянием кислой внутриклеточной pH образует агрегаты обусловливающие поражение нейронов В норме в пуповинной крови новорожденных допустимо содержание НБ 3,4 - 22,2 мкмоль/л, а ПБ 0 - 5,1 мкмоль/л (Шабалов, 1996).

**1.5. Роль печени в пигментном обмене**

В печени билирубин соединяется (коньюгирует) с глюкуроновой кислотой. Эта реакция катализируется ферментом УДФ-глюкуронилтрансферазой. При этом глюкуроновая кислота вступает в реакцию в активной форме, т. е. в виде УДФГК. Образующийся глюкуронид билирубина получил название ПБ (конъюгированного билирубина). Он растворим в воде и дает прямую реакцию с диазореактивом. Большая часть билирубина соединяется с двумя молекулами глюкуроновой кислоты, образуя диглюкуронид билирубина.

Образовавшийся в печени ПБ вместе с очень небольшой частью НБ выводится с желчью в тонкий кишечник. Здесь от ПБ отщепляется глюкуроновая кислота и происходит его восстановление с последовательным образованием мезобилирубина и мезобилиногена (уробилиногена). Принято считать, что около 10% билирубина восстанавливается до мезобилиногена на пути в тонкий кишечник, т. е. во внепеченочных желчных путях и желчном пузыре. Из тонкого кишечника часть образовавшегося мезобилиногена (уробилиногена) резорбируется через кишечную стенку, попадает в кровяное русло и током крови переносится в печень, где расщепляется полностью до ди- и трипирролов. Таким образом, в норме в общий круг кровообращения и мочу мезобилиноген не попадает (Гаврюшов, 1977).

Основное количество мезобилиногена из тонкого кишечника поступает в толстый кишечник, где восстанавливается до стеркобилиногена при участии анаэробной микрофлоры. Образовавшийся стеркобилиноген в нижних отделах толстого кишечника (в основном в прямой кишке) окисляется до стеркобилина и выделяется с калом.

Определение в клинике содержания ОБ и его фракций, а также уробилиногеновых тел имеет важное значение при дифференциальной диагностике желтух различной этиологии. При гемолитической желтухе гипербилирубинемия возникает в основном в результате образования НБ (Алексеев,1998). Вследствии усиленного гемолиза происходит его интенсивное образование в клетках системы макрофагов из разрушаегося гемоглобина. Печень оказывается неспособной образовать столь большое количество билирубин-глюкуронидов, что приводит к накоплению НБ в крови и тканях (Ленинджер, 1974).

При печеночной желтухе наступает деструкция печеночных клеток, нарушается экскреция ПБ в желчные капилляры и он попадает непосредственно в кровь, содержание его значительно увеличивается. Кроме того, снижается способность печеночных клеток синтезировать билирубин-глюкурониды; вследствии этого количество НБ в сыворотке крови также увеличивается (Березов, 1990).

**1.6. Классификация гемолитической болезни**

**новорожденных**

Легкое течение гемолитической болезни новорожденных диагностируют при наличии у ребенка умеренно выраженных клинико - лабораторных или только лабораторных данных. В этом случае требуется лишь консервативная терапия при отсутсвии каких - либо осложнений, тяжелых фоновых состояний и сопутствующих заболеваний. Уровень гемоглобина в пуповинной крови в первые часы жизни более 140 г/л, НБ в пуповинной крови не менее 60 - 85,5 мкмоль/л.

О средней тяжести гемолитической болезни новорожденных свидетельствует гипербилирубинемия, требующая ЗПК , но не сопровождающаяся билирубиновой интоксикацией мозга или развитием других осложнений. В частности, на среднюю тяжесть ГБН указывает желтуха, появившаяся в первые 5 ч жизни при резус - конфликте или первые 11 ч жизни при АВО - конфликте, концентрация Hb в первый час жизни менее 140 г/л, наличие у ребенка с желтухой 3 и более факторов риска билирубиновой интоксикацией мозга. Уровень НБ в пуповинной крови при средней тяжести ГБН - 85,6-136,8 мкмоль\л.

На тяжелое течение ГБН указывает тяжелая анемия (гемоглобин менее 100 г/л) или желтуха (гипербилирубинемия более 136,9 мкмоль/л) при рождении, наличие симптомов билирубинового поражения мозга любой выраженности и во все сроки заболевания, нарушения дыхания и сердечной деятельности при отсутствии данных за сопутствующую пневмо- или кардиопатию, необходимость более 2 заменных переливаний крови, отечная форма болезни (Мидля,1986).

**1.7. Клиническая картина гемолитической болезни**

**новорожденных**

*Анемическая форма* диагностируется у 10 - 20 % больных с ГБН. Дети бледные, несколько вялые, плохо сосут и прибавляют массу тела. У них обнаруживают увеличение размеров печени и селезенки. Уровень НБ обычно нормальный или умеренно повышенный. Признаки анемии обнаруживают в конце 1-й или даже на 2-й неделе жизни (Шабалов, 1996).

*Билирубиновая энцефалопатия*. В случае недостаточной защиты билирубин накапливается в сером веществе мозга, в особенности в базальных узлах, мозжечке и продолговатом мозге. Такого рода пигментации, называемые ядерной желтухой, являются морфологическим коррелятом тяжелых нарушений деятельности мозга, превращающихся в необратимые повреждения. Воздействие билирубина на другие ткани не столь резко выражено (Берман, 1994). Токсическое влияние билирубина состоит в том, что прекращается образование соединений, богатых энергией АТФ, как последнего звена энергетического метаболизма. Клетки ганглии, лишенные энергии, отмирают, фагоцитируются и наконец заменяются глиозным рубцом.

Было обнаружено, что опасность развития в связи с ГБН ядерной желтухи минимальна в случаях, если уровень билирубина в плазме не превышает 340 мкмоль\л. С нарастанием его концентрации быстро увеличивается вероятность развития ядерной желтухи, однако точно определить границу, представляющую опастность, невозможно (Полачек, 1986).

БЭ клинически редко выявляется в первые 36 часов жизни, и обычно ее первые проявления диагностируют на 3-6 день жизни. Характерны фазы течения: 1) доминирование признаков билирубиновой интоксикации - вялость, снижение мышечного тонуса и аппетита, бедность движений и эмоциональной окраски крика (монотонный крик), неполная выраженность рефлекса Морро (есть только его первая фаза), срыгивания, рвота, “блуждающий” взгляд; 2) появление классических признаков ядерной желтухи - спастичность, ригидность затылочных мышц, вынужденное положение тела с опистонусом, “негнущимися” конечностями и сжатыми в кулак кистями; периодическое возбуждение и резкий “мозговой” крик, выбухание большого родничка, подергивание мышц лица или полная амимия, крупноразмашистый тремор рук, судороги; симптом “заходящего солнца”; исчезновение рефлекса Морро, сосательного рефлекса, остановки дыхания, брадикардия; 3) период ложного благополучия и исчезновения спастичности (начиная со второй недели жизни), когда создается впечатление, что обратное развитие неврологической симптоматики приведет даже к почти полной реабилитации ребенка. Отмечено, что невсегда у новорожденных, особенно недоношенных, с диагностированной на секркции ядерной желтухой клинически были классические ее признаки. Считается, что в первой фазе БЭ поражение мозга в принципе обратимо.

*Желтушная форма* - наиболее часто диагностируемая форма ГБН. У части детей желтуха имеется уже при рождении (врожденная желтушная форма), у большинства она появляется в первые сутки жизни. Чем раньше появилась желтуха, тем обычно тяжелее течение ГБН. При тяжелых послеродовых формах резус-ГБН желтуха появляется в первые 6-12 ч жизни, а при средней тяжести и легких - во второй половине первых суток жизни. При АВО-ГБН желтуха появляется на 2-3-й день жизни и даже позже. Интенсивность и оттенок желтухи постепенно меняются - вначале апельсиновый оттенок, потом бронзовый, затем лимонный и, наконец, цвет незрелого лимона. Характерны также увеличение печени и селезенки, желтушное прокрашивание склер, слизистых оболочек, нередко наблюдается пастозность живота.

Хотя степень иктеричности кожи и отражает выраженность гипербилирубинемии, но, к сожалению, не всегда. Вместе с тем желтушность ладоней обычно бывает при уровне НБ более 257 мкмоль\л. И все же ориентироваться в оценке выраженности гипербилирубинемии лишь на цвет кожных покровов нельзя. Необходимо определение уровня билирубина в крови биохимическим методом.

*Отечная форма* - наиболее тяжелое проявление резус-ГБН. При ультразвуковом исследовании плода характерна поза Будды - голова вверху, нижние конечности из-за бочкообразного увеличения живота согнуты в коленях, необычно далеко расположены от туловища; ”ореол” вокруг свода черепа. Уже при рождении у ребенка имеются: резкая бледность и общий отек, особенно выраженный на наружных половых органах, ногах, голове, лице; резко увеличенный в объеме бочкообразный живот; приглушение тонов сердца. Очень часто сразу после рождения развиваются растройства дыхания. Нередок у детей с отечной формой геморрагический синдром (кровоизлияния в мозг, легкие , желудочно-кишечный тракт).

Характерны: гипопротеинемия (уровень белка сыворотки крови падает ниже 40-45 г/л), тяжелая анемия (концентрация гемоглобина менее 100 г/л), разной степени выраженности нормобластоз и эритробластоз, тромбоцитопения. Анемия у таких детей бывает настолько тяжелой, что в сочетании с гипопротеинемией, повреждением сосудистой стенки может привести к сердечной недостаточности. (Шабалов, 1996).

Клиническая картина ГБН по АВО-системе отличается некоторыми отклонениями в развитии, обусловленными поздним появлением и сильно варьирующей интенсивностью гемолитической реакции.

1. Почти никогда гемолитическая анемия более тяжелой формы не развивается у плода и в антенатальном периоде не угрожает ребенку.

2. Желтушная форма развивается только у доношенных новорожденных, у недоношенных лишь в исключительных случаях. Причины гипербилирубинемии у недоношенных обычно другого характера, даже в тех случаях, если сочетание групп матери и ребенка типично.

3. Гемолизу подвергается только часть кровяных телец в кровотоке новорожденного, вследствии чего интенсивность желтухи не достигает такой степени тяжести, какую имеет гипербилирубинемия при резус-изоиммунизации. Кривая билирубина иногда резко поднимается, однако ее подъем обычно раньше останавливается и начинает падать. Тем не менее в некоторых случаях уровень билирубина может быть значительно высоким, и новорожденный подвергается опасности со стороны развития ядерной желтухи. Развитие вторичной анемии в дальнейшем течении болезни наблюдается только исключительно редко.

4. Клиническая картина ГБН, связанной с АВО-несовместимостью, при последующих беременностях не ухудшается (Полачек, 1986).

**1.8. Постнатальное лечение гемолитической**

 **болезни новорожденных**

Постнатальное лечение ГБН направлено главным образом на предупреждение развития тяжелой гипербилирубинемии и ядерной желтухи. Желтушный синдром вместе с умеренной или среднетяжелой анемией обнаруживается не менее чем у 90% живыми родившихся детей с гемолитической болезнью при резус-несовместимости и оказывается единственной клинической формой АВО-болезни.

**1.8.1. Оперативный метод лечения**

ЗПК является основным средством борьбы за предотвращение подъема уровня неконъюгированного билирубина до концентрации, угрожающей развитием ядерной желтухи, и является одновременно и оптимальным методом коррекции анемии, если она присутствует. Механизм действия замены крови двоякий:

1. Удаляются кровяные тельца, поврежденные антителами и “обреченные” на распад, а заменяются не связывающимися с антителами матери эритроцитами соответствующего донора..

2. Путем ЗПК удаляется большинство уже образовавшегося неконъюгированного билирубина и снижается тем самым его концентрация в жидкостях тела. Этот механизм имеет решающее значение при повторных переливаниях, когда гемолитическая система крови ребенка уже редуцирована (Полачек, 1986).

Показания к ЗПК. Абсолютным показанием у доношенных детей является гипербилирубинемия выше 342 мкмоль/л, темп нарастания билирубина выше 6,0 мкмоль/л-ч и уровень его в пуповинной крови выше 60 мкмоль/л.

У детей с очень низкой массой при рождении как показанием к ЗПК руководствуются данными: вес менее 1250 - 222 мкмоль/л; вес до 1500 - 257 мкмоль/л; вес до 2000 - 291 мкмоль/л; вес до 2500 кг - 308 мкмоль/л; вес от 2500 и более - 342 мкмоль/л.

При резус-конфликте для ЗПК используют кровь той же группы, что и у ребенка, резус-отрицательную не более 2-3 дней консервации в количестве 170-180 мл/кг (при НБ сыворотке крови более 400 мкмоль/л в объеме 250-300 мл/кг). При АВО-конфликте переливают кровь О(I) с низким титром альфа- и бета-агглютининов, но в количестве 250-400 мл. Если у ребенка имеется одновременно несовместимость по резус- и АВО-антигенам, то обычно ГБН возникает по групповым антигенам, а значит, переливать надо ребенку кровь О(I) группы.

Упомянутый объем крови для ЗПК равен 2 объемам циркулирующей крови (у новорожденных с средним объемом циркулирующей крови - 85 мл/кг массы тела), что обеспечивает при правильном проведении ЗПК замену 85% циркулирующей у ребенка крови (Тимошенко, 1968).

При проведении ЗПК необходимо помнить о следующем: кончик правильно установленного пупочного венозного катетера должен находиться в полой вене между диафрагмой и левым предсердием; длина пупочного венозного катетера от его конца до метки на уровне пупочного кольца равен расстоянию в см. от плеча до пупка - 5 см; начинают процедуру с выведения 30-40 мл (у недоношенных 20 мл) крови ребенка; количество введенной крови должно быть на 50 мл больше выведенной; операция должна проводиться медленно 3-4 мл в 1 мин чередованием выведения и введения по 20 мл крови (у недоношенных 10 мл) с длительностью всей операции не менее 2 ч, на каждые 100мл введенной крови надо ввести 1 мл 10% раствора кальция глюконата. В сыворотке крови ребенка до ЗПК и сразу после него определяют уровень билирубина.

При врожденной отечной форме ГБН необходимо немедленно (в течение 5-10 сек) пережать пуповину, ибо отсрочка может стимулировать развитие гиперволемии (Халл, 1983). Температурная защита. Срочное начало ЗПК. Сердечной недостаточности при рождении нет, но она легко развивается после рождения. Поэтому вначале эритроцитную массу переливают лишь в объеме 10 мл, а при проведении первого ЗПК его общий объем иногда снижают до 75-80 мл/кг или если проводят ЗПК в полном объеме, то выпускают крови на 50 мл больше, чем вводят. Развитие сердечной недостаточности - назначение дигоксина (доза насыщения 0,03 мг/кг дается за 2-3 дня). На 2-3-й день жизни назначают фуросемид. После ЗПК начинают инфузионную терапию по общим правилам.

**1.8.2. Консервативные методы лечения**

Фототерапия в настоящее время наиболее широко используемый метод консервативного лечения желтух новорожденных с НБ в крови. Обычно источник света распологают на 45-50 см над ребенком и облучение должно быть не меньшим, чем 5-6 мкВт/см2/нм. Обычно фототерапию начинают при величинах НБ в сыворотке крови, на 85-100 мкмоль/л. Доношенным новорожденным фототерапию начинают при уровне НБ в крови 205 мкмоль/л и более, а недоношенным - 171 мкмоль/л и более. У детей с очень низкой массой тела при рождении фототерапию начинают при уровне НБ в сыворотке крови 100-150 мкмоль/л.

Положительный эффект фототерапии заключается в увеличении экскреции билирубина из организма со стулом и мочой, уменьшение токсичности НБ и риска ядерной желтухи при высоких непрямых гипербилирубинемиях. Считают, что это связано с фотоокислением НБ с образованием биливердина, дипирролов или монопирролов, которые водорастворимы и выводятся из организма с мочой. Продолжительность фототерапии - 72-96 ч, но она может быть и меньшей, если уровень НБ достиг физиологических для ребенка соответствующего возраста величин (Гаврюшов, 1977).

Эффективность фототерапии повышается при сочетании ее с инфузионной, ибо стимуляция диуреза ускоряет выведение водорастворимых фотоизомеров билирубина.В первый день жизни обычно вливают 50-60 мл/кг 5% раствора глюкозы, далее добавляя по 20 мл/кг ежедневно, доводя к 5-му дню объем до 150 мл/кг.

Со вторых суток жизни на каждые 100 мл 5% раствора глюкозы добавляем 1 мл 10% раствора кальция глюконата, 13 мл изотонического раствора натрия хлорида и 1 мл 7% раствора калия хлорида. Скорость вливания 3-4 капли в минуту.

Фототерапия - единственный метод консервативного лечения гипербилирубинемий, эффективность которого общепризнана. Из других методов лечения рассматривают:

*Фенобарбитал,* назначенный после рождения, способствует активации образования билирубина диглюкуронида и улучшению оттока желчи, а значит, и уменьшению интенсивности желтухи (Шабалов, 1986).

**1.9. Влияние климатических и экологических факторов**

**севера на репродуктивную функцию женщин и**

**здоровье детей**

Интенсивное промышленное освоение районов проживания народностей Севера накладывает глубокий отпечаток на жизнедеятельность коренного населения, вызывая адаптивную перестройку организма на всех уровнях (физиологическом, морфологическом, биохимическом, иммунологическом) (Казначеев, 1983).

Освоение газоконденсатных месторождений на территории Ямальского и Надымского районов Ямало-Ненецкого автономного округа связано с исключением значительных площадей из традиционного природопользования. Это является одним из важных звеньев проблемной ситуации, изменяющей образ жизни коренного населения Тюменского севера и формирующей состояние его здоровья (Мефодьев, 1998).

Разработка нефтегазовых месторождений в отдельных регионах России прямым и косвенным образом влияет на состояние здоровья различных этнических групп населения, коренных и пришлых популяций. Факторы окружающей среды могут воздействовать на различные ступени репродуктивного процесса, приводить к повышенному риску аборта, врожденных пороков, задержке роста плода, перинатальной смертности (Казначеев, 1980).

Одним из важных критериев состояния здоровья населения является уровень материнской смертности. В Ямало-Ненецком автономном округе он довольновысок - 120 случаев на 100 000 живорожденных, а по области - 108 (почти в 2 раза выше, чем в Российской Федерации, где он составляет 52,3). Смертность женщин коренного населения высокая - в 36,8 раза выше, чем по Российской Федерации. По структуре причин материнская смертность среди коренного населения не отличается от таковой в России и обусловлена прежде всего кровотечением при родах, гестозами беременных, сепсисом.

Особое значение придается перинатальной и младенческой смертности. Под перинатальной смертностью понимается отношение числа родившихся мертвыми и умерших на первой неделе жизни к общему числу родившихся (живыми и мертвыми), умноженное на1000. Увеличение уровня перинатальной смертности с изменением ее структуры целесообразно учитывать при выявлении экологически неблагополучных территорий. Показатель младенческой смертности характеризует смертность детей от рождения до одного года жизни и складывается из показателей неонатальной (0 - 27дней) и постнеонатальной (28 - 365 дней) смертности.

Высокий уровень младенческой смертности в значительной степени обусловлен летальностью от состояний, возникающих в перинатальном периоде, врожденных аномалий, т. е. от заболеваний, тесно связанных со здоровьем матери. Умершие от этих причин состовляют в России ежегодно две трети общего числа погибших на первом году жизни. Величина перинатальной смертности зависит от биологических, социально-экономических, экологических факторов (Казначеев, 1985).

Крайне высокие показатели постнеонатальной смертности отмечены в Приуральском (27,8), Тазовском (18,5), Шурышкарском (14,0), Ямальском (21,9%) районах, где значителен удельный вес детей коренной национальности. Показатели младенческой и перинатальной смертности в 1994 г. в указанных районах превышали в 1,5 - 3 раза аналогичные показатели в Российской Федерации, состовлявшие 18,6 - 17,1 на 1000 родившихся.

В структуре причин младенческой смертности среди коренного населения на первом месте стоят болезни органов дыхания, на втором - несчастные случаи, на третьем - болезни новорожденных. Ситуация обусловлена рядом обстоятельств: суровый климат, труднодоступность медицинской помощи, поздняя обращаемость за медицинской помощью, отсутствие рации в ряде бригад оленеводов и охотников,недостаточная обеспеченность транспортом, неполная укомплектованность квалифицированными медицинскими кадрами. Следует отметить, что врожденные аномалии среди новорожденных как пришлого, так и коренного населения особенно часто наблюдались в городах Салехарде, Новом Уренгое, Надымском районе.

Значительный удельный вес в структуре патологии перинатального периода занимали внутриутробные гипотрофии, физиологическая незрелость. Увеличение числа маловесных детей указывает на ряд причин, связанных с патологией матерей, а также с воздействием неблагоприятных факторов внешней Среды.

Высокой остается смертность детей, особенно в возрасте до одного года, проживающих в тундре. В структуре причин смерти отмечаются несчастные случаи, заболевания органов дыхания, инфекционные и паразитарные болезни (Мефодьев, 1998).

**II. материалы и методы исследований**

**2.1. Материалы исследований**

 Все новорожденные были разделены на три группы: новорожденные с ГА по АВО-системе, новорожденные с ГА по Rh-фактору и новорожденные с ГА по АВО-системе и Rh-фактору одновременно.

 В первую группу вошло 20 детей, во вторую - 69 детей, в третью - 27 детей.

 Кроме того, новорожденные второй группы были разделены на две подгруппы по типу применяемого лечения: в первую группу вошли дети, пролеченные оперативным путем (n = 30), во вторую группу - пролеченные консервативным путем (n = 39).

Так же, было проанализировано течение заболевания у детей рожденных от матерей, приехавших с юга и севера Тюменской области.

У больных детей брали кровь для исследования тяжести течения ГА при рождении, в пик заболевания и при выписке из стационара.

Нами были исследованы следующие показатели крови:

1. Определение количества Нb;

2. Определение общего объема эритроцитов (Ht);

3. Определение количества эритроцитов;

4. Определение количества общего билирубина;

5. Определение количества прямого билирубина;

6. Определение количества непрямого билирубина.

**2.2. Определение количества гемоглобина**

Унифицированный гемоглобинцианидный метод (1974).

Гемоглобин окисляют в метгемоглобин железосинеродистым калием (красная кровавая соль); образующийся с ацетонциангидрином окрашенный цианметгемоглобин (гемиглобинцианид) определяют колориметром.

Реактивы:

1. Трансформирующий раствор;

2. Калибровочный раствор гемиглобинцианида.

Можно использовать стандартный раствор фирмы “Имуна” с концентрацией гемиглобинцианида 61,23 мг / 100 мл и фирмы “Реанал” с концентрацией вещества 59,75 мг / 100 мл. Это соответствует концентрации гемоглобина в крови 15,4 г / 100 мл и 15 г / 100 мл при разведении ее в 251 раз. Стандартные растворы хранят в холодильнике (в незамороженном виде) в защищенном от света месте (Кост, 1975).

 Специальное оборудование: фотоэлектроколориметр (ФЭК - 56 М). В пробирку к 5 мл трансформирующего раствора добавляют 0,02 мл крови (разведение в 251 раз). Содержимое пробирки тщательно перемешивают и оставляют стоять на 10 мин. Измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 500-560 нм (зеленый светофильтр) в кювете с толщиной слоя 1 см против холостой пробы (трансформирующий раствор). Измеряют при тех же условиях стандартный раствор.

 Расчет содержания гемоглобина производят по калибровочному графику, построенному по стандартному раствору гемоглобинцианида, или по формуле:

Hb (г %) = Еопт • С • К • 0,001, где

 Ест

Еопт - зкстинкция опытной пробы;

Ест - экстинкция стандартного раствора;

С - концентрация гемиглобинцианида в стандартном растворе, мг %;

К - коэффициент разведения крови;

0,001 - коэффициент для подсчета мг / 100 мл в г / 100 мл.

**2.3. Определение общего объема эритроцитов (гематокрита)**

 Определение гематокрита с помощью микроцентрифуги (1979). Принцип. Центрифугирование крови определенное время при постоянном числе оборотов центрифуги с последующим определением результата по специальной шкале.

 Реактивы. Антикоагулянты: гепарин - 5000 ЕД/мл разводят дистиллированной водой в соотношении 1 : 5 или этилендиаминтетрауксусной кислоты динатревая соль (ЭДТА Na2, трилон Б), 40 г / л.

 Оборудование:

1. Микроцентрифуга МЦГ - 8;

2. Капиллярные трубки (в комплекте с центрифугой). Можно использовать капиляры для определения С - реактивного белка.

 Ход определения. Предварительно обработанный антикоагулянтом и высушенный капилляр заполняют кровью из пальца на 7/ 8 длины. Укупоривают капилляр с одного конца специальной пастой. Помещают в ротор центрифуги так, чтобы укупоренные концы упирались в резиновую прокладку, и центрифугируют 5 мин при 8000 об /мин. По отсчетной шкале, приложенной к центрифуге МЦГ - 8, определяют гематокритную величину.

**2.4. Определение количества эритроцитов**

Унифицированный метод подсчета в счетной камере (1972). Принцип. Подсчет эритроцитов под микроскопом в определенном количистве квадратов счетной сетки и пересчет на 1 мл крови, исходя из объема квадратов и разведения крови.

Реактивы. 0,9 % раствор хлорида натрия или раствор Гайема. Специальное оборудование:

1. Счетная камера Горяева;

2. Микроскоп.

Разводят исследуемую кровь в 200 раз. Для этого в сухую пробирку отмеривают 4 мл реактива 1 или 2. Пипеткой набирают 0,02 мл крови. Кончик пипетки вытирают фильтровальной бумагой или марлей и кровь выдувают на дно пробирки, пипетку тщательно промывают в верхнем слое жидкости, повторно набирая ее и выдувая в пробирку, содержимое пробирки перемешивают и оставляют стоять до момента счета.

Подготавливают счетную камеру: протирают насухо камеру с сеткой и покровное стекло, затем покровное стекло притирают к камере, слегка надавливая на стекло таким образом, чтобы по краям его появились радужные полосы (это свидетельствует о требуемой высоте камеры - 0,1 мм).

Заполняют счетную камеру разведенной кровью: предварительно несколько раз тщательно встряхивают содержимое пробирки, затем стеклянной палочкой отбирают каплю разведенной крови и подносят ее к краю покровного стекла, следя за тем, чтобы она равномерно без пузырьков воздуха заполнила всю поверхность камеры с сеткой, не затекая в бороздки. Заполненую камеру оставляют в горизонтальном положении 1 мин (для оседания эритроцитов).

Для подсчета эритроцитов, не меняя горизонтального положения камеры, помещают ее на столик микроскопа (объектив 8 х, окуляр 10 х) находят верхний левый край сетки. Счет производят в 5 больших квадратах, разделенных на 16 малых, т. е. в 80 малых квадратах.

Рекомендуется считать клетки в квадратах сетки, расположенных по диагонали. Для того чтобы одни и те же эритроциты, лежащие на линиях, не попали дважды в счет, принято для каждого квадрата считать расположенные на определенных двух линиях.

Расчет количества эритроцитов в 1 мкл крови производят, исходя из разведения крови (200), числа сосчитанных квадратов (80) и объема 1 малого квадрата ( 1 мкл), по следующей формуле:

 4000

Х = а • 4000 • 200 , где

80

Х - число эритроцитов в 1 мкл крови;

а - число сосчитанных эритроцитов.

В результате сокращения Х = а • 10000 (Меньшиков, 1987).

**2.5. Определение общего билирубина**

Метод Ендрасика - Грофа (1972).Принцип. Под воздействием HCI разрывается тетрапироловая связь билирубина и образуются два дипиррола, которые диазотируются диазобензосульфоновой кислотой с образованием розового-фиолетового азобилирубина. Связанный билирубин реагирует быстро, несвязанный билирубин реагирует после добавления кофеинового реактива.

Реактивы: 1. Кофеиновый реактив 1,75 мл;

 2. Диазосмесь 0,25 мл;

 3. Сыворотка 0,5 мл.

В две пробирки (одна опытная и одна холостая) вводят сыворотку и реактивы. Для холостой пробы требуется: 0,5 мл сыворотки, 1,75 мл кофеинового реактива и 0,25 мл раствора хлорида натрия. Для определения общего билирубина пробу оставляют стоять 20 мин, после чего измеряют на фотометре. При дальнейшем стоянии краска не изменяется. Измерение проводят при длине волны 500-560 нм в кювете с толщиной слоя 0,5 см против воды. Из показателя общего билирубина вычитают показатель холостой пробы. Расчет производят по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика. Калибровочный график строится по готовому набору реактивов “Билирубин-эталон” (“Лахема”). Набор Био-Ла-Тест “Билирубин-эталон” включает:

1.Билирубин лиофилизированный;

2. Альбумин лиофилизированный;

3. Калибровочная линейка до 170 мкмоль/л.

**2.6. Определение прямого билирубина**

Реактивы: 1. Сыворотка 0,5 мл;

 2. Раствор хлорида натрия 1,75 мл;

 3. Диазосмесь 0,25 мл.

В две пробирки (одна опытная и одна холостая) вводят реактивы. Для определения связанного билирубина измерение проводят спустя 5-10 мин после добавления диазосмеси, так как при длительном стоянии в реакцию вступает несвязанный билирубин.

Измерение проводят при длине волны 500 - 560 нм в кювете с толщиной слоя 0,5 см против воды. Из показателей, полученных при измерении связанного билирубина, вычитают показатель холостой пробы. Расчет производят по калибровочному графику.

**2.7. Определение непрямого билирубина**

В сыворотке крови на долю непрямого билирубина приходится 75%. Исходя из этого, находим НБ по формуле:

НБ = ОБ - ПБ.

**2.8. Методы статистической обработки результатов**

Полученные данные были обработаны статистически (Лакин, 1980). Применялся параметрический метод вариационной статистики.

1. Нахождение среднего арифметического значения членов совокупности (М) и среднего квадратичного оклонения (m) велось по формуле:

М = ∑ ; σ = ± √ Σ a2

 n n - 1 ,

где Σ - сумма вариант;

 n - число вариант;

 σ - среднее квадратичное отклонение.

2. Определение m - средней квадратичной ошибки:

 m = ± σ

 √ n

3. Определение критерия достоверности (t) велось по Стьюденту:

 t = М1 - М2

 √ m12 + m22

**III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**3.1. Сравнительная характеристика показателей периферической крови у новорожденных с ГА по АВО-системе, пролеченных консервативным путем**

Как видно из таблицы 1, при ГА новорожденных по АВО-системе, среднее количество эритроцитов и ПБ существенно не изменялось до и после лечения и составляли: эритроциты 4,4 0,16 1012 л и 4,3 0,12 1012 л, ПБ 14,19 4,68 1012 л и 9,00 2,40 1012 л. В пик заболевания повышение ПБ не наблюдалось.

При консервативном лечении новорожденных с ГА по АВО-системе происходило стабильное достоверное (р<0,05) снижение Hb при рождении, в пик заболевания и при выписке 189,39 5,54 г/л, 183,50 5,29 г/л и 169,45 5,07 г/л соответственно. По аналогии, мы наблюдали достоверное (р<0,01) снижение Ht с 59,29 1,97 % до 51,45 1,59 %.

Напротив, в пик заболевания наблюдалось незначительное повышение ОБ с 187,05 15,93 мкмоль/л до 213,95 13,06 мкмоль/л, а при выписке резкое достоверное (р<0,001) снижение этого параметра до136,60 8,15 мкмоль/л.

По показателю НБ мы наблюдали небольшой подъем к середине заболевания с 172,25 15,68 мкмоль/л до 199,25 11,77 мкмоль/л. В результате лечения эти цифры достоверно (р<0,001) снизились до 126,80 8,12 мкмоль/л.

Таблица 1

Показатели периферической красной крови у детей с ГБН

по АВО-системе (n = 20)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Период заболеванияПоказатели | I | II | III |
| Hb, г/л | 189,39 ± 5,54 | 183,50 ± 5,29ΔΔ | 169,45 ± 5,07ΔΔΔ, \*(II,III)  |
| Ht, % | 59,29 ± 1,97 | 55,09 ± 1,76ΔΔ | 51,45 ± 1,59ΔΔΔ, \*\*(I,III) |
| Эритроциты, 1012л | 4,44 ± 0,16 | - | 4,30 ± 0,12ΔΔ |
| ОБ,мкмоль/л | 187,05 ± 15,93ΔΔΔ | 213,95 ± 13,06 | 136,60 ± 8,15ΔΔ, \*\*\*(II,III), \*\*(I,III) |
| ПБ,мкмоль/л | 14,19 ± 4,68 | 12,44 ± 3,73 | 9,00 ± 2,40 |
| НБ,мкмоль/л | 172,25 ± 15,68ΔΔΔ | 199,25 ± 11,77 | 126,80 ± 8,12ΔΔΔ, \*\*\*(II,III), \*(I,III) |

 Примечание: период заболевания - I - рождение, II - пик заболевания, III - выписка; достоверность различий внутри группы - \* р < 0,05; \*\* р < 0,01; \*\*\* р < 0,001. Достоверность различий между группами новорожденных с ГБН по АВО-системе и Rh-фактору (таб.2) и АВ-системе (таб.1) - ΔΔ р < 0,01; ΔΔΔ р < 0,001;

n - количество детей в группе.

**3.2. Сравнительная характеристика показателей периферической крови у новорожденных с ГА по АВО-системе и Rh-фактору пролеченных оперативным и консервативным путем**

При ГА новорожденных по АВО системе и Rh фактору (таблица 2) среднее количество эритроцитов и ПБ до и после лечения не изменялось: эритроциты составляли 4,11 0,16 1012 л - 3,81 0,12 1012, ПБ 14,78 4,80 мкмоль/л - 14,53 3,31 мкмоль/л с небольшим увеличением в пик заболевания 26,04 5,79 мкмоль/л.

Количество Нb у новорожденных резко снизилось в пик заболевания 183,66 7,37 г/л - 161,78 5,92 г/л (р<0,05), и еще более резко снизилось к моменту выписке 139,81 5,92 %, достоверность (р<0,001). Соответственно произошло и резкое снижение Нt к середине заболевания с 54,78 2,42 % до 48,22 1,88 % (р<0,05) и к моменту выписке до 40,93 1,79 %, достоверность (р<0,001).

Как видно из таблицы 2, произошло значительное повышение ОБ с 84,70 13,83 мкмоль/л до 191,67 21,99 мкмоль/k в пик заболевания достоверность (р<0,001), а к моменту выписке резкое его снижение до 98,25 8,24 мкмоль/л, достоверность (р<0,001). Также мы отметили и резкое повышение НБ с 60,85 8,35 мкмоль/л до 158,26 18,55 мкмоль/л достоверность(р<0,001) к пику заболевания, и его достоверное (р<0,001) снижение до 83,22 7,90 мкмоль/л.

Таблица 2

Показатели периферической красной крови у детей с ГБН

по АВО-системе и Rh-фактору (n = 27)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Период заболеванияПоказатели | I |  II | III |
| Hb, г/л | 183,66 ± 7,37 | 161,78 ± 5,92\*(I,II) | 139,81 ± 5,92\*(II,III), \*\*\*(I,III) |
| Ht, % | 54,78 ± 2,42 | 48,22 ± 1,88\*(I,II) | 40,93 ± 1,79\*\*(II,III), \*\*\*(I,III) |
| Эритроциты, 1012л | 4,11 ± 0,16 | - | 3,81 ± 0,12 |
| ОБ, мкмоль/л | 84,70 ± 13,83 | 191,67 ± 21,99\*\*\*(I,II) | 98,25 ± 8,24\*\*\*(II,III) |
| ПБ, мкмоль/л | 14,78 ± 4,80 | 26,04 ± 5,79 | 14,59 ± 3,31 |
| НБ, мкмоль/л | 60,85 ± 8,35 | 158,26 ± 18,55\*\*\*(I,II) | 83,22 ± 7,90\*\*\*(II,III) |

 Примечание:период заболевания: I - рождение, II - пик заболевания, III - выписка; достоверность различий внутри группы - \* р < 0,05; \*\* р < 0,01; \*\*\* р < 0,001;

 n - количество детей в группе.

**3.3. Сравнительная характеристика показателей периферической крови у новорожденных с ГА по Rh-фактору пролеченных оперативным путем**

Как видно из таблицы 3, число эритроцитов у новорожденных с ГА по Rh-фактору с момента рождения и до выписки практически оставалось неизменным и составляло 4,16 0,55 1012 л и 3,79 0,13 1012 л.

Количество Hb у новорожденных уже в начале заболевания достаточно низкое 165,57 5,69 г/л и в процессе заболевания идет стабильное его снижение. В пик заболевания Hb составляет 153,00 5,70 г/л а к моменту выписки достоверно (р<0,01) снижается до 139,73 5,09 г/л.

Соответственно подобное достоверное (р<0,01) снижение наблюдается и у Ht от 48,93 1,74 % до 41,77 1,43 %.

При таком виде заболевания ОБ в момент пика резко возрастает с 111,03 15,29 мкмоль/л до 266,10 21,48 мкмоль/л достоверность (р<0,001),а в результате проведенного оперативного лечения достоверно (р<0,001) снижается до 137,73 10,74 мкмоль/л.

Также происходило и резкое достоверное (р<0,001) повышение НБ с 81,13 12,96 мкмоль/л до 211,63 ,07 мкмоль/л, к моменту выписки эта цифра достоверно (р<0,001) снизилась до 106,67 9,49 мкмоль/л.

Как видно из таблицы 3 ПБ достоверно (р<0,05) повышается к пику заболевания с 19,53 4,84 мкмоль/л до 47,00 9,79 мкмоль/л, но к моменту выписке наблюдаем незначительное его снижение до 25,67 6,38 мкмоль/л.

Таблица 3

Показатели периферической красной крови у детей с ГБН

по Rh-фактору, пролеченных оперативным путем (n = 30)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ПериодзаболеванияПоказатели | I | II | III |
| Hb, г/л | 165,57 ± 5,69 | 153,00 ± 5,70 | 139,73 ± 5,09\*\*(I,III) |
| Ht, % | 48,93 ± 1,74 | 46,70 ± 1,95 | 41,77 ± 1,43\*(II,III), \*\*(I,III) |
| Эритроциты, 1012л | 4,16 ± 0,15 | - | 3,79 ± 0,13 |
| ОБ, мкмоль/л | 111,03 ± 15,29 | 266,10 ± 21,48, \*\*\*(I,II) | 137,73 ± 10,74, \*\*\*(II,III) |
| ПБ, мкмоль/л | 19,53 ± 4,84 | 47,00 ± 9,79, \*(I,II) | 25,67 ± 6,38 |
| НБ, мкмоль/л | 81,13 ± 12,96 | 211,63 ± 22,07, \*\*\*(I,II) | 106,67 ± 9,49\*\*\*(II,III) |

 Примечание: период заболевания - I - рождение, II - пик заболевания, III - выписка; достоверность различий внутри группы - \* р < 0,05; \*\* р < 0,01; \*\*\* р < 0,001. Достоверность различий между группами новорожденных с ГБН по Rh-фактору с оперативным методом лечения (таб.3) и Rh-фактору с консервативным методом лечения (таб.4)- р < 0,05; р < 0,01; р < 0,001;

n - количество детей в группе.

**3.4. Сравнительная характеристика показателей периферической крови у новорожденных с ГА по Rh-фактору пролеченных консервативным методом**

Как видно из таблицы 4, число эритроцитов у новорожденных с ГА по Rh-фактору с момента рождения и до выписки осталось неизменным 3,95 0,14 1012 л и 3,79 0,10 1012 л.

Количество Hb у новорожденных стабильно достоверно (р<0,001) снижается с 190,10 5,15 г/л до 162,95 4,47 г/л в пик заболевания, а к моменту выписки происходит его достоверное (р<0,001) снижение до 147,36 +4,77 г/л.

Соответственно, достоверно (р<0,001) происходит снижение Ht с 57,Ю87 1,56 % до 49,02 1,48 %, а к моменту выписки он составляет 43,56 1,37 г/л, достоверность (р<0,001).

При лечении ГА новорожденных консервативным путем происходит резкое достоверное (р<0,001) повышение ОБ с 67,10 6,18 мкмоль/л до 157,26 11,19 мкмоль/л, а к моменту стабилизации мы наблюдаем резкое достоверное (р<0,001) его снижение до 101,92 7,43 мкмоль/л. Таким же образом, к середине заболевания, происходит резкое достоверное (р<0,001) повышение НБ с 56,59 5,66 мкмоль/л до 135,38 10,05 мкмоль/л, а к моменту выписки достоверное (р<0,001) его снижение до 90,64 6,89 мкмоль/л.

Как видно из таблицы 4, ПБ достоверно (р<0,05) повышается с 10,56 2,27мкмоль/л до 21,72 4,89 мкмоль/л, а к концу заболевания достоверно снижается до 11,02 2,05 мкмоль/л.

Таблица 4

Показатели периферической красной крови у детей с ГБН

по Rh-фактору, пролеченных консервативным путем (n = 39)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Период заболеванияПоказатели | I |  II | III |
| Hb, г/л | 190,10 ± 5,15 | 162,95 ± 4,47\*\*\*(I,II) | 147,36 ± 4,77\*(II,III), \*\*\*(I,III) |
| Ht, % | 57,87 ± 1,56 | 49,02 ± 1,48\*\*\*(I,II) | 43,56 ± 1,37\*\*(II,III), \*\*\*(I,III) |
| Эритроциты, 1012л | 3,95 ± 0,14 | - | 3,79 ± 0,10 |
| ОБ, мкмоль/л | 67,10 ± 6,18 | 157,26 ± 11,19\*\*\*(I,II) | 101,92 ± 7,43\*\*\*(II,III), \*\*\*(I,III) |
| ПБ, мкмоль/л | 10,56 ± 2,27 | 21,72 ± 4,89\*(I,II) | 11,02 ± 2,05\*(II,III) |
| НБ, мкмоль/л | 56,59 ± 5,66 | 135,38 ± 10,05\*\*\*(I,II) | 90,64 ± 6,89\*\*\*(II,III), \*\*\*(I,III) |

 Примечание: период заболевания - I - рождение, II - пик заболевания, III - выписка; достоверность различий внутри группы - \* р < 0,05; \*\* р < 0,01; \*\*\* р < 0,001;

n - количество детей в группе.

 **3.5. Сравнительный анализ показателей периферической**

**крови у новорожденных с ГА по АВО-системе и Rh-фактору и новорожденных с ГА по АВО-системе**

Данные о количественном изменении периферической крови у новорожденных с ГА по АВО-системе и Rh-фактору, и по АВО-системе представлены в таблицах 1 и 2.

При ГА новорожденных по АВО-системе и Rh-фактору к моменту выписке происходило достоверное (р<0,01) снижение числа эритроцитов с 4,11 0,16 1012 л до 3,81 0,12 1012 л, по сравнению с новорожденными с ГА по АВО-системе: с 4,44 0,16 1012 л до 4,30 0,12 1012 л.

Интересно отметить, что у новорожденных с ГА по АВО-системе и Rh-фактору среднее содержание Hb более резко достоверно (р<0,01) снизилось уже к середине заболевания до161,78 5,92 г/л, чем у новорожденных с ГА по АВО-системе: 183,50 5,29 г/л. После проведенного лечения у новорожденных с ГА по АВО-системе и Rh-фактору концентрация Hb была достоверно (р<0,001) ниже 139,81 5,92 г/л, по сравнению с таковым показателем у новорожденных с ГА по АВО-системе.

Соответственно, происходит и достоверное (р<0,001) снижение Ht до 40,93 1,79 % у новорожденных с ГА по АВО-системе и Rh-фактору, по сравнению с Ht новорожденных с ГА по АВО-системе: 51,45 1,59 %.

Как видно из таблицы 1 и 2, у детей с конфликтом по АВО-системе уже при рождении наблюдается достоверное (р<0,001) резкое повышение ОБ до 187,05 15,93 мкмоль/л, по сравнению с ОБ детей с конфликтом по АВО-системе и Rh-фактору. В результате лечения концентрация ОБ составляла 136,60 8,15 мкмоль/л у детей с ГА по АВО-системе, а у второй группы этот показатель достоверно (р<0,01) ниже, и составлял 98,25 8,24 мкмоль/л.

Мы также выявили, что количество НБ у новорожденных с АВО и Rh конфликтом в начале и в конце заболевания достоверно (р<0,001) различается с количеством НБ детей с ГА по АВО-системе, и составляет: 60,85 8,35 мкмоль/л и 83,22 7,90 мкмоль/л, и 172,25 15,68 мкмоль/л и 126,80 8,12 мкмоль/л соответственно.

**3.6. Сравнительный анализ показателей периферической крови у новорожденных с ГА по Rh-фактору, пролеченных оперативным путем и новорожденных с ГА с конфликтом по Rh-фактору, пролеченных консервативным путем**

Анализируя таблицы 3 и 4, мы выяснили, что достоверных различий между изменениями Hb, Ht и эритроцитов у новорожденных с ГА по Rh-фактору с проведенным ЗПК и новорожденных с ГА по Rh-фактору пролеченных консервативно нет.

 У детей с ГА по Rh-фактору с проведенным ЗПК, к пику болезни уровень ОБ повышается в среднем до 266,10 21,48 мкмоль/л, а у новорожденных с ГА по Rh-фактору с проводимым консервативным лечением этот показатель был достоверно (р<0,001) ниже, и составлял 157,26 11,19 мкмоль/л. К моменту выписке новорожденных уровень ОБ снизился в первом случае до137,73 10,74 мкмоль/л, а во втором случае до 101,92 7,43 мкмоль/л, что является достоверно значимым (р<0,05).

Как показывают таблицы 3 и 4, количество ПБ у новорожденных с проведенным ЗПК достоверно (р<0,05) выше в пике заболевания и к моменту выписке, чем у новорожденных с ГА по Rh-фактору без проведения ЗПК и составило: 47,00 9,79 мкмоль/л и 25,67 6,38 мкмоль/л, 21,72 4,89 мкмоль/л и 11,02 2,05 мкмоль/л соответственно.Интересно отметить, что уровень НБ у новорожденных с проведенным ЗПК достоверно (р<0,01) выше в пике заболевания и составляет 211,63 22,07 мкмоль/л, чем у новорожденных с консервативным методом лечения 135,38 10,05 мкмоль/л. В тоже время, между количеством НБ в начале заболевания, и количеством НБ при выписке новорожденных с проведенным ЗПК, и количеством тех же показателей НБ детей с консервативным типом лечения достоверных различий нет.

**3.7. Сравнительный анализ показателей периферической красной крови у детей с ГБН родившихся от матерей приехавших с севера Тюменской области**

Как видно из таблицы 5, при ГА новорожденных родившихся от матерей, приехавших с севера Тюменской области, происходило стабильное достоверное (p< 0,001) снижение Hb и Ht и в процессе лечения составляли: Hb 172,58 ± 5,34 г/л и 147,41 ± 4,75 г/л, Ht 53,17 ± 1,82 % и 44,23 ± 1,47 %. Аналогично происходило достоверное (р<0,05) снижение эритроцитов с 4,23 ± 0,10 ⋅ 1012 л до 3,92 ± 0,10 ⋅ 1012л.

Количество ОБ и НБ к пику заболевания достоверно (р<0,001) резко увеличилось: с 100,66 ± 12,50 мкмоль/л до 205,51 ± 15,29 мкмоль/л и с 80,23 ± 10,17 мкмоль/л до 173,66 ± 14,46 мкмоль/л. При интенсивном лечении эти цифры к моменту выписке достоверно (р<0,001) снизились до 123,38 ± 6,90 мкмоль/л и 107,10 ± 6,28 мкмоль/л соответственно. По аналогии, мы наблюдали достоверное (р<0,05) повышение ПБ с 13,64 ± 3,03 мкмоль/л до 30,69 ± 7,49 мкмоль/л к пику заболевания,а затем снижение его к моменту выписке до 15,71 ± 3,81 мкмоль/л.

Таблица 5

Показатели периферической красной крови у детей с ГБН

родившихся от матерей, приехавших с севера Тюменской области

 (n = 39)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Период заболеванияПоказатели | I |  II | III |
| Hb, г/л | 172,58 ± 5,34Ο | 160,41 ± 5,35 | 147,41 ± 4,75 \*\*\*(I,III) |
| Ht, % | 53,17 ± 1,82 | 48,71 ± 1,72 | 44,23 ± 1,47 \*\*\*(I,III) |
| Эритроциты, 1012л | 4,23 ± 0,10 | - | 3,92 ± 0,10\*(I,III) |
| ОБ, мкмоль/л | 100,66 ± 12,50 | 205,51 ± 15,29\*\*\*(I,II) | 123,38 ± 6,90\*\*\*(II,III) |
| ПБ, мкмоль/л | 13,64 ± 3,03 | 30,69 ± 7,49\*(I,II) | 15,71 ± 3,81 |
| НБ, мкмоль/л | 80,23 ± 10,17 | 173,66 ± 14,46\*\*\*(I,II) | 107,10 ± 6,28\*(I,III),\*\*\*(II,III) |

 Примечание:период заболевания - I - рождение, II - пик заболевания, III - выписка; достоверность различий внутри группы - \* р < 0,05; \*\* р < 0,01; \*\*\* р < 0,001. Достоверность различий между группами новорожденных с севера (таб.5) и юга Тюменской области (таб.6) - Ο р < 0,05;

 n - количество детей в группе.

**3.8 Сравнительный анализ показателей периферической красной крови у детей с ГБН родившихся от матерей, приехавших с юга Тюменской области**

Как видно из таблицы 6, при ГА новорожденных родившихся от матерей, приехавших с юга Тюменской области, среднее количество эритроцитов и ПБ существенно не изменялось до и после лечения и составляли: эритроциты 4,05 ± 0,13 ⋅ 1012л и 3,90 ± 0,10 ⋅ 1012л, ПБ 15,10 ± 3,12 мкмоль/л и 15,35 ± 3,32 мкмоль/л. В пик заболевания повышение ПБ не наблюдалось.

По показателям Hb и Ht с рождения и к моменту выписке мы наблюдали стабильное достоверное (р < 0,001) снижение:Hb 188,75 ± 4,14 г/л и 151,58 ± 4,19 г/л, Ht 56,74 ± 1,32% и 45,11 ± 1,20%.

Количество ОБ и НБ к пику заболевания достоверно (р < 0,001) повысилось: ОБ с 115,26 ± 11,22 мкмоль/л до 207,60 ± 14,46 мкмоль/л и НБ с 99,23 ± 11,21 мкмоль/л до 176,82 ± 13,22 мкмоль/л. Напротив, к моменту выписке эти цифры достоверно (р< 0,001) снизились до 117,40 ± 8,05 мкмоль/л и 101,87 ± 7,33 мкмоль/л соответственно.

Таблица 6

Показатели периферической красной крови у детей с ГБН

родившихся от матерей, приехавших с юга Тюменской области

 (n = 50)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Период заболеванияПоказатели | I |  II | III |
| Hb, г/л | 188,75 ± 4,17 | 167,17 ± 3,84\*\*\*(I,II) | 151,58 ± 4,19\*\*(II,III), \*\*\*(I,III) |
| Ht, % | 56,74 ± 1,32 | 50,29 ± 1,30\*\*\*(I,II) | 45,11 ± 1,20\*\*(II,III), \*\*\*(I,III) |
| Эритроциты, 1012л | 4,05 ± 0,13 | - | 3,90 ± 0,10 |
| ОБ, мкмоль/л | 115,26 ± 11,22 | 207,60 ± 14,46\*\*\*(I,II) | 117,40 ± 8,05\*\*\*(II,III) |
| ПБ, мкмоль/л | 15,10 ± 3,12 | 24,73 ± 4,73 | 15,35 ± 3,32 |
| НБ, мкмоль/л | 99,23 ± 11,21 | 176,82 ± 13,22\*\*\*(I,II) | 101,87 ± 7,33\*\*\*(II,III) |

 Примечание:период заболевания: I - рождение, II - пик заболевания, III - выписка; достоверность различий внутри группы - \*\* р < 0,01; \*\*\* р < 0,001;

 n - количество детей в группе.

**3.9. Сравнительный анализ показателей периферической красной крови у новорожденных с ГА родившихся от матерей, приехавших с севера и юга Тюменской области.**

Как видно из таблиц 5 и 6, достоверных различий между показателями: Ht, эритроцитов, ОБ, ПБ, и НБ не обнаружено.

Различия были выявлены лишь при сравнении концентрации Hb в периферической крови у новорожденных в первые сутки жизни. У новорожденных с ГА, приехавших с юга Тюменской области, количество Hb при рождении достоверно (р<0,05) выше чем у новорожденных, приехавших с севера Тюменской области и составляет: 188,75 ± 4,17 г/л и 172,58 ± 5,34 г/л соответственно.

Таблица 7

Нормативные показатели красной крови детей

первого месяца жизни

(Тур, Шабалов, 1970г.; Доскин, 1997г.)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  ПоказателиСутки жизни | Hb,г/л | Ht,% | Эритроциты1012л | ОБ,мкмоль/л | ПБ,мкмоль/л | НБ,мкмоль/л |
| 0 | 215 | 57 | 5,8 | - | - | \_ |
| 1 | 212 | 56 | 5,7 | 23,1 | 8,7 | 14,4 |
| 2 | 210 | 55 | 5,6 | 54,2 | 8,7 | 45,5 |
| 3 | 207 | 55 | 5,5 | - | - | - |
| 4 | 203 | 55 | 5,4 | 90,1 | 7,9 | 82,3 |
| 5 | 201 | 53 | 5,3 | - | - | - |
| 6 | 198 | 52 | 5,2 | 72,0 | 8,7 | 63,3 |
| 7 | 196 | 50 | 5,1 | - | - | - |
| 9 | - | - | - | 53,0 | - | 44,3 |
| 14 | 180 | 47 | 5,0 | - | - | - |
| 30 | 156 | 45 | 4,7 | 3,4 | 0,86 | 2,57 |

**IV. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В результате проведенного исследования нами были выявлены следующие изменения со стороны системы эритрона, играющие основную роль в транспорте кислорода: у всех новорожденных детей всех четырех групп количество эритроцитов находилось ниже нормы как до лечения, так и после лечения.

При ГА у новорожденных отмечается снижение объема циркулирующей крови, которое связано с гемолизом эритроцитов.

Эритроциты - наиболее многочисленные форменные элементы крови, основное содержимое которых составляет гемоглобин. Эритроциты обладают антигенными свойствами, участвуют в гомеостазе, но основная роль их - снабжение тканей кислородом и участие в транспорте углекислоты.

Более сильный гемолиз наблюдается у детей с ГА по АВО-системе и Rh-конфликту, по сравнению с ГА по АВО-системе, так как первым начинается гемолиз, обусловленный АВО-конфликтом, вследствии того, что антигены группы АВО расположены на наружной поверхности мембраны эритроцита. Позднее присоединяется гемолиз, вызванный резус-несовместимостью крови матери и новорожденного. По этой причине ГБН по АВО-системе и Rh-фактору протекает гораздо тяжелее, чем ГБН по АВО-системе. В комплексном лечении этих новорожденных, кроме консервативного лечения, присутствует и оперативный метод лечения.

В процессе лечения уровень эритроцитов в крови новорожденных с ГА по Rh-конфликту снижается, а к моменту перевода новорожденных из отделения восстанавливается до первоначальных цифр. Но эти цифры далеки от нормы: 5,94 ± 0,59 ⋅ 1012 (Тур, 1963).

Косвенным отражением величины объема циркулирующих эритроцитов являются: показатель Ht и содержание Hb.

Гемоглобин - основной дыхательный пигмент эритроцитов, относящийся к хромопротеидам и обеспечивающий ткани кислородом.

Гематокритная величина, или показатель гематокрита, дает представление о соотношении между объемами плазмы и форменных элементов крови (главным образом эритроцитов). Принято гематокритной величиной выражать объем эритроцитов. Чем меньше число Ht, тем меньше объем циркулирующих в крови эритроцитов.

Как показали клинические данные о концентрации гемоглобина и гематокрита в периферической крови - эти показатели были достоверно понижены, несмотря на проведенное лечение у детей с ГБН по АВО-системе и Rh-фактору, по сравнению с новорожденными с ГА по АВО-системе. Полученные результаты далеки от нормы: гемоглобин 214,40 35,15 г / л, гематокрит 54,20 8,70 % (Тур, 1963).

Можно отметить, что эти же показатели у новорожденных при ГА по Rh-конфликту с консервативным и оперативным методами лечения также имеют достоверные различия. У детей с ГБН по Rh-фактору с ЗПК уже при рождении мы наблюдаем достаточно низкие показатели Hb и Ht по сравнению с Hb и Ht новорожденных с консервативным методом лечения. К моменту стабилизации эти показатели еще более снижены.

Экологические условия севера отягощают течение ГА новорожденных. Снижение Hb у новорожденных севера свидетельствует о тяжести течения заболевания.

Исходя из того, что билирубин играет большую роль в определении тяжести заболевания ГБН, мы сочли необходимым выявить изменения этого показателя у новорожденных.

Билирубин - пигмент, представляющий линейный тетрапиррол. Большая часть его в организме образуется в печени и селезенке при распаде гемоглобина. Он плохо растворим в воде, является токсичесим веществом, медленно реагирует с диазореактивом, что требует добавления акселератора - непрямореагирующий. При поступлении его в печень в гепатоцитах происходит его обезвреживание путем присоединения глюкуроновой кислоты. Диглюкуронид билирубина в отличие от свободного билирубина - вещество индифферентное, растворим в воде и быстро реагирует с диазореактивом - прямореагирующий билирубин.

Гипербилирубинемия развивается у новорожденных, родившихся с легкой и среднетяжелой анемией, и является основным признаком и угрозой в случаях АВО-конфликта. Гемолизу подвергается только часть кровянных телец в кровотоке новорожденного, вследствии чего интенсивность желтухи не достигает такой степени тяжести, какую имеет гипербилирубинемия при резус-изоиммунизации. Желтуха обычно становится видимой в течении первых суток жизни и кривая билирубина иногда резко поднимается, однако ее подъем обычно останавливается и начинает падать, не достигая критических цифр. Тем не менее в некоторых случаях уровень билирубина может быть значительно высоким и новорожденный подвергается опасности со стороны развития ядерной желтухи.

Клиническая картина ГА, связанной с АВО-несовместимостью, при последующих беременностях не ухудшается. Случаи с легким течением постепенно переходят в так называемую физиологическую желтуху, так как при ГБН по АВО-системе первоначальный гемолиз, сопровождающийся резким подъемом концентрации билирубина, становится в дальнейшем более медленным или прекращается. В данном случае показан метод инфузионной терапии в сочетании с фототерапией. ЗПК проводится крайне редко.

В тех случаях, когда у новорожденного с ГА возможно наличие несовместимости по обеим системам (по АВО-системе и по Rh-фактору), то болезнь протекает по АВО-системе. Если же заболевание протекает по Rh-фактору, то оно протекает более легко. Анализируя таблицу 2, мы наблюдаем, что средние значения билирубина (ОБ, ПБ, НБ) в этом случае гораздо ниже, чем у новорожденных с ГА по АВО-системе.

Исходя из данных таблиц 3 и 4, мы видим, что ГБН по Rh-фактору делится на две степени тяжести: легкая степень и тяжелая. В первом случае уровень билирубина не превышает предельно допустимых цифр. В данном случае к новорожденным применяется консервативный метод лечения. Такие больные довольно быстро стабилизируются.

Однако при высокой степени изоиммунизации и анемии, когда уровень Hb и Ht резко падает в первые часы жизни, а уровень билирубина резко возрастает, почасовой темп прироста составляет более 5,13 мкмоль/л у доношенных детей, более 1,71 мкмоль/л у недоношенных детей, важной задачей является выведение резус-антител и восполнение дефицита эритроцитов, метод инфузионной терапии без сочетания с операцией ЗПК применятся не может. При тяжелых формах ГБН операцию ЗПК необходимо производить в течении первых суток жизни, а затем по показаниям с целью предотвращения билирубиновой интоксикации мозга, которая наступает при концентрации билирубина 307,80-342,00 мкмоль/л у доношенных и 256,5 мкмоль/л у недоношенных детей.

После ЗПК происходит повышение объема циркулирующей крови за счет увеличения как плазмы, так и эритроцитов. Однако он остается более низким, чем у здоровых новорожденных.

Недоношенность, незрелость новорожденного, является неблагоприятным фактором, влияющим на эфективность проводимого лечения. Это связано с незрелостью у них ЦНС, системы дыхания и функции печени.

**ВЫВОДЫ**

1. Результаты исследований показали, что заболевание ГБН по Rh-конфликту протекает гораздо тяжелее, чем заболевание ГБН по АВО-системе. В связи с этим процент возникновения осложнений у новорожденных детей гораздо выше.

2. В случаях, когда ГБН протекает по АВО-системе и по RH-фактору одновременно, дети переносят заболевание гораздо легче, чем новорожденные с ГА по АВО-системе. Стабилизация параметров непрямого и общего билирубина у таких детей происходит гораздо раньше.

3. Изучение процессов, возникающих в организме человека при резус-конфликте, позволило значительно улучшить профилактику и лечение различных форм гемолитической болезни новорожденных, а так же предотвратить развитие ядерной желтухи новорожденных.

4. Экологические условия севера отягощают течение ГА новорожденных. Снижение Hb у новорожденных севера свидетельствует о тяжести течения заболевания.

**Список литературы**

1. Алексеев Н. А. Гематология детского возраста. Санкт-Петербург : Гиппократ, 1998. С. 122-235.

2. Андрущенко Л. И. Гемолитическая болезнь плода и новорожденного при групповой несовместимости крови матери и плода. / Автореф. дисс. канд. мед. наук. М. , 1990. С. 30.

3. Березов Т. Т. , Коровкин Б. Ф. Биологическая химия. М. : Медицина, 1990. С. 396-436.

4. Берман Р. Е. , Воган В. К. Педиатрия. М. : Медицина, 1994. С. 15-36.

5. Бойтлер, Эрнест. Нарушение метаболизма эритроцитов и гемолитическая анемия. М. : Медицина, 1981. С. 256.

6. Волкова П. С. Иммуно-биологические взаимоотношения организмов матери и плода. М. : Медицина, 1970. С. 29-56.

7. Воробьев А. И. Руководство по гематологии. М. : Медицина, 1985. Т. 2, С. 3-100.

8. Гаврюшов В. В. , Митрофанова Г. П. Особенности билирубинового обмена в периоде новорожденности. М. : Медицина, 1977. С. 3-19.

9. Доскин В. А. , Мураенко Н. М. и др. Морфофункциональные константы детского организма. М. : Медицина, 1997. С. 13-15.

10. Збарский Б. И. , Иванов И. И. , Мардашев С. Р. Биологическая химия. М. : Медицина, 1965. С. 386-390.

11. Здоровье коренного населения Ямала. / Под. ред. В. В. Мефодьева. Новосибирск : Наука, 1998. С. 150-162.

12. Зуева Г. В. Динамика объема циркулирующей крови и ее компонентов в первые дни жизни у здоровых доношенных детей. // Вопросы охраны материнства и детства. 1976. № 1. С. 18-22.

13. Идельсон Л. И. , Дидковский Н. А. , Ермильченко Г. В. Гемолитические анемии. М. : Медицина, 1975. С. 23-29.

14. Измайлов Е. Р. Физиология системы крови. М. : Медицина, 1968. С. 304-307.

15. Иржак Л. И. Гемоглобины и их свойства. М. : Наука, 1975. С. 61-68.

16. Казначеев В. П. Очерки теории и практики экологии человека. М. : Наука, 1983. С. 28-35.

17. Казначеев В. П. Современные аспекты адаптации. М. : Наука, 1980. С. 41-50.

18. Казначеев В. П. Механизмы адаптации человека в условиях высоких широт. М. : Наука, 1985. С. 45-50.

19. Каллаева А. Х. , Кущ И. Б. и др. Состояние эритроцитарных мембран у плодов с гемолитической болезнью. // Вопросы охраны материнства и детства. 1991. № 4. С. 48-53.

20. Киеня А. И. , Бандажевский Ю. И. Здоровый человек. Минск : ИП Экоперспектива, 1997. С. 45-50.

21. Козловская Л. В. , Николаев А. Ю. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования. М. : Медицина, 1984. С. 22-56.

22. Комаров Ф. И. , Коровкин Б. Ф. , Меньшиков В. В. Биохимические исследования в клинике. Л. : Медгиз, 1981. С. 218-229.

23. Коржуев П. А. Гемоглобин. Сравнительная физиология и биохимия. М. : Наука, 1964. С. 38-51.

24. Кост Е. А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. М. : Медицина, 1975. С. 5-60.

25. Лакин Г. Ф. Биометрия. М. : Наука, 1990. С. 50-51.

26. Ленинджер А. Биохимия. М. : Мир, 1974. С. 956-958.

27. Леонова В. Г. , Рапопорт Ж. Ж. Количественные показатели красной крови у детей. Новосибирск : Наука, 1989. С. 15-17

28. Меньшиков В. В. , Лабораторные методы исследования в клинике. М. : Медицина, 1987. С. 106-122.

29. Мидля В. , Воцел Й. Практическая неонатология. М. : Медицина, 1986. С. 184-189.

30. Основы трансфузиологии / Под ред. М. Ф. Заривчацкого. Пермь : Изд-во Пермского универ. , 1995. С. 44-53.

31. Персианинов Л. С. , Сидельникова В. М. , Елизарова И. П. Гемолитическая болезнь плода и новорожденного. М. : Медицина, 1981.

С. 6-28.

32. Полачек К. и др. Физиология и патология новорожденных детей. Прага, 1986. С. 324-340.

33. Прокоп О. , Гелер В. Группы крови человека / Под ред. В. В. Томилина. М. : Медицина, 1991. С. 23-103.

34. Руководство по гематологии / Под ред. А. И. Воробьева. М. : Медицина, 1985. Т. 2, С. 185-121.

35. Рябов С. И. Основы физиологии и патологии эритропоэза. Л. : Медицина,1978. С. 148-150.

36. Садыков Б. Г. , Абдрахманова Л. Р. Гемолитическая болезнь новорожденных, обусловленная АВО-конфликтом. // Казанский мед. журнал. 1998 №1. С.49-51.

37. Соколов В. В. , Грибова И. А. Гематологические показатели здорового человека. М. : Медицина, 1972. С. 45-60.

38. Суздальцев А. Е. Состав периферической крови у здоровых детей грудного возраста. // Лабораторное дело. 1976. № 4. С. 248-256.

39. Таболин В. А. Билирубиновый обмен и желтухи новорожденных. М. : Медицина, 1967. С. 30-45.

40. Тимошенко Л. В. , Бондарь М. В. , Дашкевич В. Е. Гемолитическая болезнь плода и новорожденного. М. : Медицина, 1968. С. 15-20.

41. Тур А. Ф. Гематология детского возраста. Л. : Медгиз, 1963. С. 116-125.

42. Тур А. Ф. , Шабалов Н. П. Кровь здоровых детей разных возрастов. Л. : Медицина, 1970. С. 224-225.

43. Физиология системы крови. / Под ред. В. Н. Черниговского и др. Л. : Наука, 1968. С. 88-90.

44. Хазанов А. И. Функциональная диагностика болезней печени. М. : Медицина, 1988. С. 29-30.

45. Халл Д. Последние достижения в педиатрии. М. : Медицина, 1983. С. 287-319.

46. Шабалов Н. П. Неонатология. Санкт - Петербург, 1996. Т. 1,

С. 113-114.

47. Шабалов Н. П. Неонатология. Санкт - Петербург, 1996. Т. 2,

С. 100-117.

 48. Шаган Б. Ф. Основы учения о новорожденном ребенке. Л. : Медгиз,

 1959. С. 200-215