

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.-005.1-08;618
©Коллектив авторов

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА И ТРОФОБЛАСТИЧЕСКИЙ БЕТА 1-ГЛИКОПРОТЕИН ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

Р.Н. Богданович¹, И.В. Чикаловец², Т.А. Берестовая³

¹Медицинское объединение ДВО РАН, 690022 Владивосток, ул. Кирова 95;
эл. почта: anastasia.1981@mail.ru

²Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, 690022
Владивосток, пр. 100 лет Владивостоку 159, fax: 7(4232)-314050;
эл. почта: IVChik@piboc.dvo.ru

³Медицинский центр ЭКО, 690022 Владивосток, ул. Кирова 66.

Целью настоящего исследования было выявление взаимосвязи между увеличением концентрации трофобласт-специфического бета 1-гликопротеина (ТБГ) и показателей системы гемостаза, определяемых в сыворотке и плазме материнской крови. Концентрацию ТБГ определяли в сыворотке 234 беременных женщин с угрозой прерывания беременности, 115 соматически здоровых беременных женщин и 75 небеременных женщин детородного возраста. Между показателями системы гемостаза и уровнем ТБГ выявлена прямая корреляционная зависимость. Обнаружено, что нарушения в системе гемостаза влияют на синтез некоторых плацентарных белков, в частности ТБГ.

Проведенные нами исследования подтвердили важную роль ТБГ в репродуктивной функции и показали возможность его использования для выявления патологических изменений в организме женщин.

Ключевые слова: трофобластический бета 1-гликопротеин, гемостаз, физиологическая, осложненная, неразвивающаяся беременность.

ВВЕДЕНИЕ. Патогенетическим механизмом отторжения плодного яйца при привычных выкидышах ранних сроков беременности наиболее часто является отслойка трофобласта хориона или плаценты вследствие развития локальных тромбофилических реакций. Это дало возможность предположить ведущую роль системы гемостаза в реализации механизма отслойки [1-3].

Трофобластический β 1-гликопротеин (ТБГ) - белок, синтезируемый синцитиотрофобластом на протяжении всей беременности. Он является специфическим маркером плодовой части плаценты. Определение уровня ТБГ позволяет объективно оценивать функцию фетоплацентарной системы.

Настоящая работа посвящена изучению отдельных звеньев гемостаза при физиологической, осложненной, неразвивающейся беременности. На основании оценки специальных тестов сделана попытка прогнозировать тромбогеморрагические осложнения и их влияние на синтез и транспорт ТБГ.

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

МЕТОДИКА. Обследованы 234 женщины с клинической картиной угрозы прерывания беременности, 115 соматически здоровых женщин со сроком беременности от 4 до 20 недель и 75 небеременных здоровых женщин в возрасте от 20 до 35 лет.

При исследовании системы гемостаза были использованы наборы реагентов, выпускаемые фирмой "Технология-стандарт" (Барнаул). Концентрацию ТБГ определяли в сыворотке капиллярной крови по методу описанному ранее [4]. При проведении иммуноферментного анализа (ИФА) использовали поликлональные кроличьи антитела против ТБГ человека и стандартные препараты ТБГ из ретроплацентарной крови рожениц, полученные по методу [5] в лаборатории химии неспецифического иммунитета Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН. Статистическую обработку результатов проводили с применением критерия Стьюдента-Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Для прогноза тромбообразования важное диагностическое значение имеет состояние свертывающей и антисвертывающей систем (СС) и (АСС) соответственно. Особенности системы гемостаза при физиологически протекающей беременности во многом определяются формированием маточно-плацентарного круга кровообращения. В таблице приведены показатели системы гемостаза, полученные нами при обследовании группы женщин с физиологической беременностью. В качестве контроля взяты показатели соматически здоровых небеременных женщин детородного возраста. При исследовании были использованы оценочные тесты системы гемостаза, применяемые в клинической практике [6,7].

Как видно из таблицы, с увеличением срока беременности отмечается повышение функциональной активности тромбоцитов: незначительное возрастание индекса адгезивности на 7,9% и агрегации тромбоцитов на 7,1% на фоне снижения их количества на 5,0% к 20 неделе беременности. Уменьшение числа тромбоцитов по мере прогрессирования беременности от 282 до 268×10^9 /л, видимо, обусловлено повышенным потреблением тромбоцитов в периферическом кровообращении и снижением продолжительности их жизни. Ранее при морфологическом исследовании плаценты в интервиллезном пространстве обнаружены множественные тромбоцитарные микротромбы; щели между

Таблица. Показатели системы гемостаза соматически здоровых женщин и женщин с неосложненным течением беременности.

Показатель	Здоровые небеременные женщины (75)	Беременные женщины, 6-12 недель (115)	Беременные женщины, 12-20 недель (87)
Количество тромбоцитов (1×10^9 /л)	$278 \pm 9,9$	$282 \pm 10,8^*$	$268 \pm 12,7^*$
Индекс адгезивности (%)	$42,5 \pm 6,8$	$44,1 \pm 4,9^*$	$47,9 \pm 4,8^*$
АЧТВ (сек.)	$40,9 \pm 3,2$	$39,1 \pm 3,4^*$	$36,9 \pm 2,2^*$
АВР (сек.)	$62,0 \pm 3,1$	$60,2 \pm 3,9^*$	$57,1 \pm 2,6^*$
ПИ (%)	$88,4 \pm 2,5$	$90,0 \pm 3,2^*$	$93,8 \pm 8^*$
Фибриноген (г/л)	$3,06 \pm 0,4$	$2,90 \pm 0,38^*$	$3,19 \pm 0,31^*$
ТВ (сек.)	$16,2 \pm 0,8$	$15,6 \pm 0,5^*$	$15,3 \pm 0,4^*$
АТ-III (%)	$110,0 \pm 3,8$	$105,0 \pm 2,2^*$	$95,0 \pm 2,8^*$
Протеин С (%)	$114,0 \pm 4,4$	$98,6 \pm 7,6^*$	$106,8 \pm 6,8^*$
Эуглобулиновый лизис (сек.)	$218,4 \pm 20,3$	$221,0 \pm 23,3^*$	$254,7 \pm 18,8^*$
РФМК (мг/%)	$3,5 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,4^*$	$3,5 \pm 0,5^*$

Примечание: АЧТВ-активированное частичное тромбиновое время; АВР-активированное время рекальцификации; ПИ-протромбиновый индекс; ТВ-тромбиновое время; АТ-III-активность антитромбина III; РФМК-растворимые фибрин-мономерные комплексы; * $p < 0,05$ -по сравнению с группой здоровых небеременных женщин.

клетками эндотелия и трофобласта заполнены агрегатами тромбоцитов [8]. Полученные данные свидетельствуют о том, что потребление основной массы тромбоцитов происходит в маточно-плацентарном кровообращении и возрастает в процессе развития беременности.

При физиологическом течении беременности повышается активность прокоагуляционного звена. Экспериментальные данные свидетельствуют о повышении активности внутреннего механизма свертывания крови. К 20 неделе беременности установлено укорочение АЧТВ и АВР, что обусловлено, вероятно, увеличением содержания факторов внутреннего прокоагуляционного звена (факторы II, V, VIII, IX, X, XII). Повышение уровня факторов VIII, IX, X, XII возникает в результате стимуляции их синтеза эстрогенами, продукция которых заметно увеличивается с ростом беременности [8]. До 12 недели беременности значение ПИ колеблется в пределах нормальных значений. К 20 неделе отмечается увеличение ПИ. Это связано, по-видимому, с повышением активности факторов коагуляции II, V, VIII, X. С увеличением срока беременности отмечается определенная тенденция к нарастанию основного субстрата свертывания крови фибриногена. Нам не удалось выявить достоверных изменений активности фибринолитической системы в ранние сроки беременности, хотя в литературе отмечается подавление спонтанной фибринолитической активности на протяжении всего течения беременности [9,10]. Вероятно, в ранние сроки велики компенсаторные возможности организма, и явных изменений фибринолитической активности не наблюдается. Отмечено изменение в звене ингибиторов гемостаза АТ-III и протеина-С. К 20 неделе беременности АТ-III снижается на 13,7%, протеин-С на 6,3%. Таким образом, в организме женщин с увеличением срока беременности происходит повышение общего коагуляционного потенциала, функциональной активности тромбоцитов при некотором снижении их количества, снижение активности АТ-III и протеина-С. Увеличение коагулянтной активности тромбоцитов и повышенный суммарный потенциал факторов свертывания на фоне умеренного снижения активности их ингибиторов во многом отражают тенденции к относительной гиперкоагуляции к 20 неделе беременности (без видимых признаков патологического внутрисосудистого свертывания крови). Это в основном обусловлено активностью естественных антитромбинов (АТ-III, протеина-С), которые компенсируют гиперактивность системы гемостаза во время беременности, предотвращая срыв адаптационных изменений систем гемостаза. Очевидно, развивающаяся беременность сопровождается активацией СС, что приводит к компенсаторному увеличению синтеза фибриногена и других факторов свертывания. Активация системы гемостаза наблюдается как непрерывный локальный процесс в маточно-плацентарном кровотоке. Такое повышение свертываемости следует отнести к защитной реакции организма. Подобное состояние во время беременности рассматривается как физиологическое функционирование системы гемостаза, и эти особенности носят компенсаторно-приспособительный характер для нормально формирующегося фетоплацентарного комплекса [2,8,10-15].

При обследовании группы женщин с привычным невынашиванием беременности отмечалась широкая вариабильность показателей системы гемостаза в первой половине беременности. Общескрининговые тесты (АЧТВ, АВР, ПИ, фибриноген) колебались в широких пределах, характерных для гипо-, изо- и гиперкоагуляции. Это связано с большой неоднородностью обследуемой группы больных по исходному уровню гормонов и показателей иммунного статуса. Кроме того, у некоторых женщин выявлялись аутоантитела к гормонам и волчаночному антикоагулянту, обнаруживалась вирусная и/или бактериальная инфекции и т.д.

В период с 5 до 20 недели для женщин с привычным невынашиванием беременности наблюдалось определенное взаимодействие между СС и АСС, проявляющееся каждый раз, когда нарушался баланс между ними. В том случае, если более активна СС, развивается гиперкоагуляция, и это вызывает защитную

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

реакцию со стороны АСС, активность которой в свою очередь тоже возрастает. Такая последовательность реакции вызывает гипокоагуляцию. В случае же повышения активности АСС возникает защитная реакция со стороны СС, и развивается вторичная гиперкоагуляция. Наличие такого взаимодействия между СС и АСС позволяет понять, почему вслед за сильным подъемом коагуляционного потенциала обычно наступает фаза гипокоагуляции. При невынашивании беременности происходит сбой в сбалансированной системе, который сопровождается бурным выделением тромбопластина из поврежденных тканей, стимуляцией СС, депрессией АСС или ее истощением. Это приводит к осложнению в виде дессеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС).

Показатели системы гемостаза женщин с угрожающим выкидышем можно условно разделить на 3 типа: I тип - гиперкоагуляция, II тип - гипокоагуляция, III тип - изокоагуляция или сочетание изокоагуляции с незначительно выраженной гипо-, гиперкоагуляцией.

Выраженные изменения коагуляционных свойств крови часто наблюдаются при низкой белковосинтетической функции плаценты, что является одной из причин плацентарной недостаточности (П.Н.), приводящей к задержке внутриутробного развития зародыша. Одним из белков, синтезируемым трофобластом, является ТБГ. Содержание его у небеременных женщин колеблется в очень низких концентрациях (0-10 нг/мл). ТБГ обнаруживается иммуноферментным методом с 13-29 дня после оплодотворения яйцеклетки. В ранний период беременности (3-5 недель) уровень его варьирует от 450 до 5000 нг/мл. По мере увеличения срока содержание ТБГ резко возрастает и к 20 неделе достигает до 60000 нг/мл.

У женщин с низким содержанием ТБГ на ранних этапах формирования П.Н. по анализу параметров гемостазиограмм в 64% случаев выявлены нарушения микроциркуляции крови. Показателем развития П.Н. и перинатальной патологии являются низкие уровни секреции ТБГ (в 2-6 раз ниже по сравнению с нормой) и отсутствие тенденции к его активному нарастанию, в большинстве случаев связанное со снижением или потерей компенсаторных возможностей свертывающей системы.

Резкому снижению уровня ТБГ часто предшествует развитие локальных тромбофилических реакций. Низкий уровень ТБГ может быть как причиной, так и следствием нарушений в системе гемостаза. Следует отметить, что высокие показатели ТБГ также требуют динамического наблюдения за его уровнем, так как в 16% случаев выявлена прямая корреляционная связь между повышенной концентрацией ТБГ и острой плацентарной недостаточностью. Патологическое повышение ТБГ наиболее характерно в I триместре беременности.

Было изучено изменение концентрации ТБГ и гемостаза при неразвивающейся беременности в зависимости от времени задержки плодного яйца в матке. Проводили наблюдение за 32 женщинами. Гибель эмбриона и плода происходила на 5-20 неделе беременности. Погибшее плодное яйцо в матке обнаруживали на 6-24 день. У 12 больных задержка мертвого плодного яйца в матке была менее 10 дней, у 30 - более 10 дней. У женщин с задержкой плодного яйца менее 10 дней концентрация ТБГ менялась и в 5-12 недель составляла от 25 до 1800 нг/мл (при норме от 4500 до 24000 нг/мл), в 12-20 недель от 1200 до 5800 нг/мл (при норме от 24000 до 60000 нг/мл.). У женщин с задержкой плодного яйца более 10 дней концентрация ТБГ в 5-12 недель составляла 15-800 нг/мл, в 12-20 недель 640-3200 нг/мл. Резкое понижение уровня ТБГ в крови матери после гибели плода и в некоторых случаях почти полное прекращение его синтеза можно объяснить потерей продуцирующей активности синцитиотрофобласта. После удаления плодного яйца у 12 женщин на 5-7 сутки было обнаружено присутствие ТБГ, что свидетельствовало о наличии остатков плодного яйца. У женщин с полным удалением плодного яйца к 5-7 суткам ТБГ практически исчезал. Такое быстрое исчезновение ТБГ из крови объясняется строением его молекулы.

Достаточно только разрыва одной связи, чтобы часть молекулы ТБГ с эпитопами, присущими только ей, превратилась в большие агрегаты и в значительной степени утратила свою активность.

Следовательно, пролонгированный синтез ТБГ после гибели эмбриона (плода) свидетельствует о продолжении продукции трофобластом белков, гормонов, что и препятствует отторжению плодного яйца и наступлению выкидыша.

У женщин с задержкой плодного яйца менее 10 дней с 5-12 недели беременности были отмечены изменения в системе гемостаза, характерные для ДВС-синдрома. ДВС протекал в хронической, компенсированной форме. С 12 до 20 недели у больных этой группы отмечали переход хронической формы в подострую, у 15% женщин при этом развивался выраженный дефицит большинства компонентов крови. У большинства больных с задержкой плодного яйца более 10 дней с 5 до 12 недели беременности прогрессирование нарушений гемостаза приводило к декомпенсации свертывания крови. В 18% случаев развивалась подострая форма ДВС: тромбоциты (140-160 тыс в 1 мм), агрегация тромбоцитов (более 17 сек), адгезия тромбоцитов (менее 35%), удлинялись показатели суммарной активности факторов свертывания крови - АЧТВ (50-70 сек.), АВР (70-90 сек.), снижался ПИ (менее 80%), уменьшался фибриноген (1,5-1,8 г/л), снижалась активность АТ-III (менее 80%), а также отмечалось наличие в сосудистом русле повышенной концентрации РФМК (более 4,0 мг/%). С 12 до 20 недели беременности развивалась выраженная хроническая форма синдрома ДВС: нормальное или умеренно сниженное количество тромбоцитов (60-280 тыс в 1 мм), гиперадгезивность тромбоцитов (более 60%), гиперагрегация тромбоцитов (менее 15 сек), укорочение АЧТВ (менее 37 сек), АВР (менее 50 сек), гиперфибриногенемия (4 г/л и более), АТ-III (более 120%), появление РФМК (более 4 мг-%). При этом в 29% случаев происходило прогрессирование ДВС из хронической в подострую форму, с выраженными признаками коагулопатии и тромбоцитопении потребления, т.е. расходование компонентов крови превалировало над их синтезом в организме.

Данные патолого-анатомического исследования проведены у 8 женщин с беременностью, "замершей" в сроки 8-12 недель, под острой формой ДВС-синдрома и низким уровнем ТБГ (200-1800 нг /мл) свидетельствуют о том, что отслойка плаценты происходит на фоне определенного дефекта коагуляции.

Таким образом, при неразвивающейся беременности установлено значительное падение уровня ТБГ. В большинстве случаев отмечены выраженные изменения в гемостазе после гибели плода. Механизмом прерывания беременности, вероятно, является либо неадекватное образование фибрина, геморрагии в области прикрепления эмбриона и нарушение процесса имплантации при дефектах свертывания, либо дисцидуальная и плацентарная несостоятельность из-за тромботической тенденции.

Определение в динамике уровня ТБГ и показателей системы гемостаза может являться дополнительным критерием диагностики и прогноза неразвивающейся беременности и возможных коагулопатических осложнений. На основе полученных нами данных прослеживается прямая корреляционная зависимость между системой гемостаза и белково-синтетической функцией трофобласта. Нарушения в системе гемостаза матери приводят к тромбозу сосудов плаценты, что ведет к нарушению процесса имплантации и плацентации. Определение дополнительно к гемостазу уровня ТБГ позволяет уже в ранних сроках беременности выявить внутриутробные страдания плода и прогнозировать течение беременности. Разумеется, нельзя объяснить полученные нами результаты только взаимосвязью гемостаза и продукцией ТБГ, так как генез развития гиперкоагуляции и ингибирования фибринолиза значительно сложнее. При невынашивании беременности возникает гормональный дисбаланс, усиливается продукция гормонов, ускоряющих свертывание крови и угнетающих фибринолиз. Одновременно происходят изменения в иммунном статусе. И, тем не менее, нами сделана попытка проведения сравнительного анализа системы гемостаза при

СИСТЕМА ГЕМОСТАЗА ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

различных концентрациях ТБГ. Не исключено, что именно ТБГ, ассоциированный с беременностью, является одним из участников запуска механизма активации антисвертывающего потенциала крови беременных женщин.

Работа выполнена в рамках Программы "Фундаментальные науки - медицине" (грант № 03-1-0-05-001).

ЛИТЕРАТУРА

1. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. (1999) Акуш. и гин., №1 13-17.
2. Макацария А.Д., Мищенко А.Л. (1997) Акуш. и гин., №1, 38-41.
3. Демидова Е.М. (1993) Привычный выкидыш. Автореф. дисс. док. мед. наук. М.
4. Богданович Р.Н. (1993) Трофобластический β 1-гликопротеин в диагностике и мониторинге беременности. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Владивосток.
5. Мороз С.В. (1983) Выделение, физико-химическая характеристика и иммунохимические свойства трофобласт-специфического бета-1 гликопротеина. Автореф. дисс. канд. хим. наук. Владивосток.
6. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольберг Е.Д. и др. (1980) Лабораторные методы исследования системы гемостаза. Красное знамя, Томск.
7. Баркаган Е.С., Мамот А.П. (1999) Основы диагностики нарушений гемостаза. Пьюдимед-АО, М.
8. Абдурахманов Ф.М. (1989) Акуш. и гин., №11, 6-8.
9. Jahlman T., Hellgren M., Blomback M. (1985) Gynecol. Obstet. Invest., 20, 1, 37-44.
10. Липников В.И. (1982) Состояние системы гемостаза при физиологически протекающем гестационном процессе. Автореф. дисс. канд. мед. наук. М.
11. Аляутдина О.С., Смирнова Л.Н., Брагинская С.Г. (1999) Акуш. и гин., №2, 18-22.
12. Alautdina O.S., Mishenko A.L., Mukatsaria A.D. (1997) Congr. Int. Soc. Thromb., France, 772.
13. Forbes C.D., Geer G.A. (1992) Haemostasis and Thrombosis in Obstetrics and Gynecology, 1-26.
14. Hathaway W.E., Bonnar I. (1981) Perinatal Coagulation, London, pp. 225-235.
15. MacKay D. (1981) Kidney and Pregnancy, Basel, pp. 108-121.

Поступила 11.06.2001

SYSTEM OF HEMOSTASIS AND PREGNANCY-SPECIFIC BETA 1-GLYCOPROTEIN IN TREATENED ABORTION

R.N. Bogdanovich¹, I.V. Chikalovets², T.A. Berestovay³

Far Eastern Institute of Bioorganic chemistry

¹Hospital DVO RAN, Kirova, 95, Vladivostok, 690022 Russia; e-mail: anastasia.1981@mail.ru

²Far Eastern Institut of bioorganic Chemistry DVO RAN, 100 let Vladivostoku, 159, Vladivostok. 690022 Russia; fax: 7(4232)-314050; e-mail: piboc@stl.ru

³Medical Centre ECO, Kirova, 66, Vladivostok, 690022 Russia;

The relationship between the increase in maternal serum concentration of pregnancy-specific beta 1-glycoprotein (SP1) and levels of components of hemostasis system was investigated. The concentrations of SP1 were measured in the blood sera of 234 pregnant women with recurrent spontaneous abortions, in 115 somatically healthy pregnant women and 75 donors. A direct correlation between serum SP1 and levels of components of hemostasis system was shown. Results suggest that disturbances in hemostasis system influence synthesis of some placental proteins, including SP1.

Key words: pregnancy-specific beta 1-glycoprotein, hemostasis, normal, suppressed undeveloped pregnancy.