

УДК 618.2:616.15-097.34:618.29-07

ЗНАЧЕНИЕ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ РЕЗУС-ФАКТОРА ПЛОДА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ БЕРЕМЕННЫМ С РЕЗУС-ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ КРОВЬЮ В СОВРЕМЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

© 2012 А.Н. Маркелова¹, В.А. Мельников¹, О.В. Тюмина²

¹ Самарский государственный медицинский университет

² Клинический центр клеточных технологий, г. Самара

Поступила в редакцию 26.09.2012

Число резус-сенсibilизированных женщин в России достигает 1,2% и не имеет тенденции к снижению. Это связано с плохой профилактикой резус-сенсibilизации путем введения антирезус-иммуноглобулина резус-отрицательным беременным женщинам на 28 недели беременности и в течение 72 часов после родов. Вводить данный дорогостоящий препарат необходимо только резус-отрицательным женщинам, чей плод резус-положительный. Диагностика резус-фактора плода ранее вызывала затруднения и была возможна с 20 недели беременности путем амниоцентеза или кордоцентеза. Данная процедура опасна как для матери, так и для плода. Благодаря новому инновационному методу неинвазивной пренатальной диагностики резус-фактора плода по крови матери удастся улучшить качество оказания медицинской помощи резус-отрицательным беременным женщинам в современных экологических условиях и снизить процент резус-сенсibilизированных женщин.

Ключевые слова: *резус-фактор плода, неинвазивная диагностика*

Открытие резус (Rh) системы крови тесно связано с первым описанием гемолитической болезни новорожденных (ГБН). Причиной данного заболевания чаще всего является иммунизация женщин с резус-отрицательной кровью при беременности плодом с резус-положительной кровью или после попадания резус-положительной крови в организм женщины. В России процент резус-сенсibilизированных женщин составляет 1,2% (Сидельникова В.М. и соавт. 2004; Савельева Г.М. и соавт., 2004). В развитых странах мира количество женщин с Rh-сенсibilизацией равно 0,1-0,2%. Столь низкий процент достигнут благодаря внедрению в клиническую практику специфической профилактики путем введения антирезус-иммуноглобулина несенсibilизированным резус-отрицательным

женщинам. Разница в количестве сенсibilизированных женщин возникла по нескольким причинам:

- высокая стоимость антирезус-иммуноглобулина, покупать который приходится за свой счет;
- плохая информированность женщины с резус-отрицательной кровью о необходимости введения антирезус-иммуноглобулина в течение 72 часов после родов;
- невнимательное ведение беременной женщины на этапе женской консультации и стационарного лечения.

Все это ведет к снижению качества оказания медицинской помощи беременным с резус-отрицательной кровью.

Цель исследования: оценить метод неинвазивной диагностики резус-фактора плода по крови беременной женщины и улучшить наблюдение беременных женщин с резус-отрицательной кровью, основанное на определении резус-фактора плода с ранних сроков беременности, для улучшения качества оказания медицинской помощи.

Материалы и методы. Кафедрой акушерства и гинекологии №1 СамГМУ совместно с Клиническим центром клеточных технологий (г. Самара) проводятся научные исследования,

Маркелова Анастасия Николаевна, старший лаборант кафедры акушерства и гинекологии №1. E-mail: Markelova-AN@mail.ru

Мельников Владимир Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии №1. E-mail: Melnikov_VA@bk.ru

Тюмина Ольга Владимировна, кандидат медицинских наук, директор. E-mail: director@cordbank.ru

основанные на неинвазивной диагностики резус-фактора плода по крови беременной женщины с использованием новых диагностических наборов для идентификации гена резус-фактора (RHD) плода в крови матери «ДНК-резус ребенка» производства ООО «Ген-технология» (Россия). Для определения резус-фактора плода была использована фетальная ДНК из плазмы крови беременной резус-отрицательной женщины. В исследовании принимало участие 150 беременных резус-отрицательных женщин. Были использованы образцы венозной крови объемом 7 мл. В каждом случае женщины подписывали информированное согласие.

Определение резус-фактора плода по крови беременной резус-отрицательной женщины основывается на том, что в плазме крови беременной женщины присутствует внеклеточная фетальная ДНК. ДНК плода проникает в материнский кровоток за счет апоптоза клеток плаценты и деградации клеток плода и может быть обнаружена с 5-6 недели гестации. Количество внеклеточной ДНК к концу беременности возрастает и составляет примерно 0,4-11,4% от общего количества ДНК плазмы крови. Исследование проводится в несколько этапов:

1. Взятие крови и выделение плазмы. Исследуемым материалом для проведения анализа является венозная кровь беременной резус-отрицательной женщины. Кровь сдаётся натощак, собирается в пробирку с антикоагулянтом EDTA в количестве 7-10 мл. В течение 24 ч с момента взятия крови следует отобрать плазму и перенести в новую пробирку. Плазма должна доставляться в лабораторию в течение 16-24 ч после взятия материала.

2. Выделение ДНК. Проводится колоночно-адсорбционным методом с использованием рекомендуемых комплектов наборов, предназначенных для выделения циркулирующих нуклеиновых кислот из биологических жидкостей, согласно методике производителя.

3. Проведение амплификации с детекцией в режиме реального времени. Пробоподготовка – стандартная для проведения ПЦР. Подготавливаются реакции для непосредственного выявления гена резус-фактора в исследуемой пробе, а также контрольные реакции, подтверждающие правильность выполнения исследования. Реакция занимает от 1,5 до 2 часов (в зависимости от скорости изменения температуры амплификатором).

4. Регистрация и учёт результатов анализа.

Таким образом, для правильного определения резус-фактора плода по крови беременной женщины необходимо соблюдение следующих условий: срок беременности – с 10 недель; правильное обращение с плазмой, выделение ДНК в

максимально быстрые сроки; выделение ДНК с использованием надёжной технологии; организация работы в ПЦР-лаборатории согласно действующим национальным нормам; чёткое следование инструкции.

Результаты исследования. Все 150 женщин, вступившие в исследование, были резус-отрицательные по результатам серологического анализа. Для 111 из них стал известен резус-фактор рожденного ребенка. Резус-фактор рожденных детей оценивался серологическим методом в роддоме. ДНК-анализ 74 образцов указал на положительный резус-фактор плода, в 37 случае был установлен отрицательный резус-фактор. Результаты анализа были подтверждены анализом крови детей после их рождения. В одном случае результат анализа не совпал (при отрицательном резус-факторе по данным тест-системы фактический резус-фактор оказался резус-положительным). Следует отметить, что срок беременности для этой пациентки составил 9 недель, в то время как минимальным сроком, гарантирующим правильность результатов анализа, является срок 10 недель. Следовательно, данный результат не может использоваться при оценке аналитических характеристик тест-системы. Также у двух детей резус-фактор был определен неправильно в роддоме. После получения результата анализа на определение резус-фактора этих детей, не совпадающего с нашими результатами, у них был взят буккальный соскоб и проведено генетическое исследование резус-фактора. Результат данного анализа подтвердил правильность определенного нами резус-фактора плода по крови беременной женщины. Таким образом, чувствительность и специфичность применяемого метода диагностики составила 100%.

В соответствии с полученными данными женщины с резус-отрицательной кровью были разделены на 2 группы: Беременные, у которых плод резус-отрицательный и беременные, у которых плод резус-положительный. Женщины первой группы велись и родоразрешались по стандартному плану, им не было необходимости в динамике определять титр антител, а также вводить с профилактической целью антирезус-иммуноглобулин. Тем женщинам, чей плод резус-положительный, уделялось пристальное внимание в женских консультациях и родильных домах в связи с опасностью возникновения ГБПиН. Им проводились:

- анализ на наличие титра антител 1 раз в месяц в течение всей беременности.

- введение антирезус-иммуноглобулина при отсутствии титра антител в 28 недель беременности и в течение 72 часов после родов.

- УЗИ при резус-сенсibilизации начиная с 20 недели беременности повторно через 4 недели, с 32-каждые 14 дней.

Были расширены показания к оперативному родоразрешению.

Выводы:

1. Пренатальная диагностика резус-фактора плода и деление женщин на 2 группы в зависимости от данного резус-фактора начиная с 10 недели беременности способствуют улучшения качества оказания медицинской помощи беременным с резус-отрицательной кровью в амбулаторно-поликлинической практике;

2. Введение антирезус-иммуноглобулина всем резус-отрицательным женщинам, беременным резус-положительным плодом в дальнейшем приведет к снижению процента резус-сенсibilизированных женщин в России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Коноплянников, А.Г. Новые технологии в диагностике, лечении и профилактике гемолитической болезни плода и новорожденного. Автореферат

2. Маркелова, А.Н. Новый подход к ведению беременных женщин с резус-отрицательной кровью с ранних сроков беременности / А.Н. Маркелова, О.В. Тюмина, А.Н. Тороповский // *Фундаментальные исследования*. 2011. №11 (часть 2). С. 330-332.
3. Митря, И.В. Оптимизация методов профилактики, диагностики и лечения резус-сенсibilизации. Автореферат диссертации кандидата медицинских наук. – М., 2010. 21 с.
4. Савельева, Г.М. Современные методы диагностики, лечения гемолитической болезни плода и новорожденного при резус-сенсibilизации: Пособие для врачей / Г.М. Савельева, М.А. Курцер, О.Б. Панина и др. – М.: Издательство МЗ РФ, 2004. 28 с.
5. Сидельникова, В.М. Гемолитическая болезнь плода и новорожденного. – М.: Издательство Триада-Х, 2004. 192 с.
6. Lo, Y.M. Prenatal diagnosis of fetal RhD status by molecular analysis of maternal plasma / Y.M. Lo, N.M. Hjelm, C. Fidler et al. // *N. Engl. J. Med.* 1998. Vol. 339.P. 1734-1738.

**IMPORTANCE OF FETUS RHESUS FACTOR PRENATAL
DIAGNOSTICS FOR IMPROVEMENT THE QUALITY OF
MEDICAL CARE TO PREGNANT WOMEN WITH RH-NEGATIVE
BLOOD IN MODERN ECOLOGICAL CONDITIONS**

© 2012 A.N .Markelova¹, V.A. Melnikov¹, O.V. Tyumina²

¹ Samara State Medical University

² Clinical Center of Cellular Technologies, Samara

The number of Rh-sensibilized women in Russia reaches 1,2% and has no tendency to decrease. It is connected with bad prevention of Rh-sensitization by injection anti-D antibodies to Rh-negative pregnant women for the 28th weeks of pregnancy and within 72 hours after the delivery. Injection this expensive drug is necessary only for Rh-negative women, whose fetus has Rh-positive. Diagnostics of Rhesus factor of a fetus earlier caused troubles and was possible from 20th week of pregnancy by amniocentesis or cordocentesis. This procedure is dangerous both to mother, and for a fetus. Thanks to a new innovative method of noninvasive prenatal diagnostics of Rhesus factor of a fetus by mother's blood will manage to improve quality of medical care of Rh-negative pregnant women in modern ecological conditions and to reduce percent of Rhesus factor-sensibilized women.

Key words: *Rhesus factor of fetus, noninvasive diagnostics*

Anastasiya Markelova, Senior Laboratory Assistant at the Obstetrics and Gynecology Department N1. E-mail: Markelova-AN@mail.ru

Vladimir Melnikov, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Obstetrics and Gynecology Department N1. E-mail: Melnikov_VA@bk.ru

Olga Tyumina, Candidate of Medicine, Director. E-mail: director@cordbank.ru