

# РОЛЬ НЕИНВАЗИВНОГО ПРЕНАТАЛЬНОГО ТЕСТА В ПРОФИЛАКТИКЕ РЕЗУС-КОНФЛИКТНОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

<sup>1,2</sup> Хабаров С.В., <sup>1</sup> Хадарцева К.А.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», медицинский институт

<sup>2</sup>Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России

**Аннотация:** Статья посвящена возможностям проведения неинвазивного пренатального определения резус-фактора плода на раннем сроке беременности на основе анализа ДНК плода, циркулирующей в периферической крови беременной женщины. Рассмотрены медико-экономическая эффективность неинвазивного пренатального скрининга резус-фактора плода резус-отрицательным беременным, возможности, ограничения и перспективы применения молекулярно-генетических неинвазивных лабораторных методов для определения резус-фактора плода.

**Ключевые слова:** беременность, резус-фактор плода, резус-сенсibilизация, гемолитическая болезнь плода, диагностика, профилактика, внеклеточная фетальная ДНК, пренатальная диагностика, неинвазивная диагностика, молекулярно-генетическая диагностика.

Иммунологическая несовместимость плода и матери по резус-фактору является основной причиной *гемолитической болезни плода и новорожденного* (ГБПН). До 95% всех клинически значимых случаев ГБПН обусловлены несовместимостью именно по этому фактору [7].

Резус-фактор крови – это белковый антигенный комплекс на поверхности эритроцитов. В настоящее время в системе Резус различают 50 антигенов, среди которых наиболее важны 5 антигенов: *D*, *C*, *c*, *E* и *e*. Наиболее иммуногенным является антиген *D*, кодируемый доминантно наследуемым геном, присутствие которого и обуславливает положительный резус-фактор. В порядке убывания иммуногенной активности среди антигенов системы Резус за *D*-антигеном следуют *c*, *E*, *C*, *e*. Около 15% людей европейской популяции имеют отрицательный резус-фактор (при этом данный показатель варьирует в различных этнических группах). Практически все они гомозиготны по рецессивной форме антигена *dd* [5]. Лица с положительным по лабораторным результатам по резус-фактору имеют или гомозиготный вариант антигена *D* (*DD*) или его гетерозиготную версию (*Dd*) (у представителей негроидной расы распространены другие аллели гена *RHD*, что необходимо учитывать при молекулярной диагностике резус-фактора). В беременности резус-отрицательной женщины резус-положительным плодом возможно развитие иммунного ответа материнского организма на эритроциты плода. Аллоиммунизация против эритроцитарного

*D*-антигена является наиболее частой причиной ГБПН у людей белой расы и развивается у одной из 20–25 резус-отрицательных беременных, имеющих резус-положительного мужа. Изоиммунизация может наступать в исходе фето-материнской трансфузии как в гестационный период, так и при его завершении. При первой беременности иммунизируется 10% женщин. Если резус-отрицательная женщина избежала резус-иммунизации после первой беременности, то при последующей беременности резус-положительным плодом риск иммунизации также составляет 10% [4]. Первичным ответом материнского организма на проникновение чужеродного антигена является образование *IgM*-антител к *D*-антигену. Последующее воздействие приводит к выработке материнского *IgG*-антител к *D*-антигену, единственных из иммуноглобулинов, способных благодаря малому размеру и наличию на плаценте специального рецептора к *Fc*-фрагменту молекулы *IgG* проникать трансплацентарно. Повторное поступление в материнский кровоток даже незначительного количества фетальных эритроцитов вызывает быструю и массивную выработку антирезусных *IgG*-антител. В половине случаев для развития первичного иммунного ответа достаточно попадания 50–75 мл эритроцитов, а для вторичного – 0,1 мл. Период между началом фето-материнской трансфузии и возникновением первичного иммунного ответа пока точно неизвестен, ввиду отсутствия чувствительных лабораторных методов, способных уловить малые количества материнских антиэритроцитарных антител. Однако, как правило, проходит от 8–9 недель до полугода, прежде чем в крови матери начнут выявляться антирезус-антитела. Выраженность самой фето-материнской трансфузии и динамика выработки материнских антирезусных антител является индивидуальной особенностью каждой конкретной беременности.

До 60 годов XX века ГБПН обуславливала гибель одного из 2200 новорожденных. Наибольшее влияние на снижение уровня заболеваемости ГБПН оказало внедрение профилактических мероприятий, связанных с введением анти-*D*-иммуноглобулина в период гестации и после родов.

В РФ число беременных женщин с резус-сенсбилизацией не имеет тенденции к снижению, формируя необходимость изменения стратегии мониторинга и профилактики резус-конфликта матери и ребенка включением в алгоритм ведения беременности метод определения резус-фактора плода на ранних сроках гестации с высоким уровнем чувствительности и специфичности.

До 80-х годов прошлого века считалось, что ДНК находится лишь в структурах клетки: преимущественно в ее ядре и некоторое количество – в митохондриях, где она выполняет роль носителя генетической информации.

В конце 1990-х годов исследователь *Yuk Ming Dennis Lo* и его коллеги, работавшие в больнице им. Джона Рэдклиффа (Оксфорд, Англия), впервые выделили ДНК плода (*ffDNA – fetal free DNA*), извлеченную из венозной крови беременной женщины. Открытие явилось стимулом к интенсивному изучению *ffDNA* в качестве возможного субстрата для неинвазивной дородовой диагностики, а результаты привели к разработке клинических тестов, которые позволили получить доступ к генетической информации плода до его рождения без рисков, связанных с инвазивными методами генетического тестирования, потенциально наносящими вред плоду.

На сегодняшний день доказано, что циркулирующая *ffDNA* появляется в маточном кровотоке в исходе апоптоза и некроза ядродержащих клеточных элементов плаценты, созревания эритроцитов и тромбоцитов, активного выделения клетками нуклеиновых кислот во внеклеточное пространство, а также деградации плодовых эритроцитов, проникающих через фето-плацентарный барьер [1]. Количество *ffDNA* составляет от 0,4 до 11,4% от общего объема ДНК плазмы крови. Начиная уже с пятой недели гестации фетальная внеклеточная ДНК может быть обнаружена в материнском кровотоке и позволяет получить достоверный результат к семи неделям беременности (более 4%). При этом уровень ее увеличивается на протяжении всего гравидарного периода (на 0,1% в неделю с 10 по 21 неделю беременности и на 1% после 21 недели гестации), достигая максимума перед родами [12].

Полученные данные обусловили поиск подходов к проведению молекулярно-генетической неинвазивной лабораторной диагностики состояния плода с применением фетального материала, циркулирующего в крови матери.

Открытие привело к разработке клинических тестов, позволивших получить доступ к генетической информации плода до его рождения без рисков, связанных с инвазивными методами тестирования.

В конце 2011 года был сформирован новый лабораторный тест – *неинвазивный пренатальный тест (НИПТ)*, как метод неинвазивного пренатального обследования с помощью анализа *ffDNA*. Метод получил официальное признание Международной ассоциации по пренатальной диагностике (США) и стал использоваться сначала для детекции болезни Дауна, а затем и трисомий по другим аутосомам. После ряда усовершенствований технология НИПТ путем секвенирования ДНК стала использоваться и для определения резус-принадлежности плода после 10 недель гестации [5, 6, 7, 9, 11]. Чувствительность метода составляет 98,5%, а специфичность – до 96,6% [5].

Сложившийся на сегодня в РФ алгоритм мониторинга и профилактики резус-конфликта матери и ребенка рекомендует всем резус-отрицательным жен-

щинам (при положительном или неизвестном резус-факторе у отца ребенка) обязательное введение иммуноглобулина анти-*Rho(D)* в сроке 28 недель беременности и при ряде потенциально сенсibiliзирующих событий. Однако, среди людей европейской популяции резус-отрицательная беременная в 40–45% случаев вынашивает резус-отрицательный плод, и в этой ситуации потребность в динамическом лабораторном обследовании и иммунопрофилактике ГБПН отсутствует [10]. Иммунопрофилактика, как профилактическая мера, связанная с введением белкового препарата – иммуноглобулина анти-*Rho(D)*, проводимая в соответствии с Приложением 5 к Приказу Минздрава РФ от 01.11.2012 № 572н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» [2, 3], в этих случаях является бесполезным, небезопасным и дорогостоящим мероприятием.

**Цель работы.** Проведение ретроспективного анализа доли беременных с отсутствием резус-фактора, доли резус-отрицательных плодов у резус-отрицательных матерей, и определение информативности и диагностической значимости НИПТ резус-фактора плода.

**Материал и методы исследования.** Нами проведено обследование 964 женщин в возрасте от 19 до 54 лет, состоявших на учете по беременности в Клинике «ВитроКлиник» ООО «ВИТРОМЕД» (Москва).

По результатам анализа установлено, что резус-фактор отсутствовал у 103 беременных пациенток и их частота в изучаемой когорте составила 10,68%. Средний возраст резус-отрицательных пациенток составил  $32,7 \pm 5,3$  года (от 21 года до 53 лет). Развития ГБПН в предыдущих беременностях ни у одной обследуемой в анамнезе отмечено не было.

Резус-отрицательные беременные из группы обследования в 36,1% случаев родили резус-отрицательного ребенка. Следовательно, динамическое определение титра анти-*D*-антител и иммунопрофилактика, проводимые в соответствии с действующим в РФ алгоритмом, у них были не оправданы.

**Результаты и их обсуждение.** С 2017 г. в Клинике применяется НИПТ фетального резус-фактора, который за это время проведен 28 резус-отрицательным беременным. Из 28 образцов, проанализированных по резус-фактору плода, в 71,4% случаев (20 образцов) выявлен ген *RHD* и в 28,6% случаев (8 образцов) данный ген не выявлен. Все образцы, прошедшие анализ по идентификации резус-фактора плода, были верифицированы по этому же параметру при рождении ребенка. Совпадения составили 100%. Наши исследования подтверждают, что НИПТ является эффективным инновационным методом и

позволяет добиться целенаправленной, обоснованной профилактики резус-конфликта, которая будет выполняться только в случаях беременности резус-отрицательной женщины резус-положительным плодом.

Таким образом, НИПТ резус-фактора плода у резус-отрицательных беременных женщин является точным и надежным методом для клинического применения уже на 10-й неделе гестации благодаря высокой чувствительности и специфичности.

**Заключение.** Используя полученные результаты, врач-акушер-гинеколог принимает мотивированное персонализированное решение [8] о необходимости дальнейшего динамического лабораторного мониторинга уровня титра антирезусных антител в сыворотке крови пациентки и профилактического введения иммуноглобулина анти-*Rho(D)*, что не только улучшает качество оказания медицинской помощи резус-отрицательным беременным женщинам, снижает у них уровень тревожности, создавая атмосферу психологического спокойствия, но и уменьшает расходы на динамическое обследование и иммунопрофилактику в период гестации.

### Литература

1. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации. / М.: Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения Министерства здравоохранения Российской Федерации, ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2018. 169 с.
2. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 01.11.2012 № 572н (в ред. Приказов Минздрава РФ от 17.01.2014 № 25н, от 11.06.2015 № 333н, от 12.01.2016 № 5н) «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)».
3. Резус-сенсбилизация. Гемолитическая болезнь плода. Клинические рекомендации (Протокол лечения) / Г.М. Савельева [и др.] // М.; 2017. 16 с.
4. Ткаченко Л.В., Костенко Т.И., Свиридова Н.И., Гриценко И.А., Складановская Т.В., Углова Н.Д. Профилактика резус-изоиммунизации беременных женщин. // Лекарственный вестник. 2018. Т. 12, № 3 (71). С. 27-30.
5. Трубникова Л.И., Тороповский А.Н., Жмырко Е.В., Никитин А.Г., Бурганова Р.Ф., Лысова О.В. Опыт внедрения в клиническую практику методики неинвазивного пренатального исследования пола и резус-фактора плода на раннем сроке по крови беременной женщины. // Ульяновский медико-биологический журнал. 2015. № 2. С. 71-79.
6. Тюмина О.В., Тихонова О.М., Ключников Д.Ю., Мельников В.А. Оценка медико-экономической эффективности пренатального неинвазивного скрининга резус-фактора плода.

// Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2017. Т. 16, № 6. С. 30-35. DOI: 10.20953/1726-1678-2017-6-30-35

7. Федорова Н.И., Тетруашвили Н.К., Файзуллин Л.З., Карнаухов В.Н., Амбрумянц Д.В., Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Неинвазивная диагностика резус-принадлежности плода по крови матери на ранних сроках беременности. // Вестник РУДН: Серия Медицина. 2009. № 6. С. 137-141.

8. Филатова О.Е., Хадарцева К.А., Еськов В.В. Два типа подходов в развитии персонализированной медицины // Сложность. Разум. Постнеклассика. 2015. № 1. С. 81-88.

9. Хабаров С.В., Денисова О.В., Девиченский В.М. Роль молекулярно-генетической неинвазивной лабораторной диагностики в профилактике резус-конфликтной беременности // Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория». 2019. Т. 3. 22(397). С. 78-83.

10. Хабаров С.В., Денисова О.В., Девиченский В.М. Лабораторная диагностика при резус-конфликтной беременности: реалии и перспективы // Лабораторная служба. 2020. Т. 9. № 1. С. 65-66.

11. Rouillac-Le Sciellour C., Sérazin V., Brossard Y., Oudin O., Le Van Kim C., Colin Y., Guidicelli Y., Menu M., Cartron J-P. Noninvasive fetal RHD genotyping from maternal plasma. Use of a new developed Free DNA Fetal Kit RhD // Transfus. Clin. Biol. 2007. Vol. 14, N 6. P. 572-577.

12. Wang E., Batey A., Struble C., Musci T., Song K., Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma // Prenat Diagn. 2013; Vol. 33, N 7. P. 662-666. DOI: 10.1002/pd.4119

## **ТЕЧЕНИЕ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 (SARS-CoV-2) У ДЕТЕЙ ДО ГОДА.**

**Балко О.А., Кондаурова Е.В., Бакланова С.В., Кочережникова Л.В.**

*ГУЗ «ТГКБ СМП им. Д.Я.Ваныкина»*

**Аннотация.** В свете текущей эпидемиологической ситуации изучение особенностей клинического течения новой коронавирусной инфекции COVID-19 стало одной из первоочередных задач здравоохранения. Детский организм, хотя и более легко переносящий это заболевание, тем не менее, также является уязвимым и требует пристального внимания со стороны педиатров. Младенческий возраст представляет собой особый интерес ввиду наличия анатомо-физиологических особенностей, осложняющих течение любой острой респираторной вирусной инфекции. Узость носовых ходов и гортаноглотки, тенденция к разрастанию носоглоточной лимфоидной ткани, слабость дыхательной мускулатуры, повышенная воздушность и полнокровность легких, а также прочие факторы, – все это может усугублять течение заболевания, приводя к фатальным осложнениям. А невозможность родителей вовремя распознать начальные проявления заболевания, уверенность, что младенцы не могут заразиться новой коронавирусной инфекцией SARS-CoV-2 является отягчающим фактором. По-