

ДИАГНОСТИКА И ВНУТРИУТРОБНАЯ КОРРЕКЦИЯ АНЕМИИ ПРИ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПЛОДА

М.В. Белуга

ГУ Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», г. Минск

В статье представлены результаты применения современных методов диагностики и внутриутробной коррекции анемии при гемолитической болезни плода и доказана их эффективность.

Ключевые слова: резус-сенсibilизация, гемолитическая болезнь плода, кордоцентез, внутриутробная гемотрансфузия.

Введение

Гемолитическая болезнь плода (ГБП) и новорожденного (ГБН) чаще всего развивается в результате несовместимости крови матери и плода по резус (Rh)-фактору. По данным «Отчетов о медицинской помощи беременным, роженицам и родильницам», число новорожденных с гемолитической болезнью (ГБ) в Республике Беларусь существенно не изменилось за последние 10 лет (2001-2010 гг.), и составило в 2001 г. – 534, и в 2010 г. – 509 случаев (рис. 1) [6].

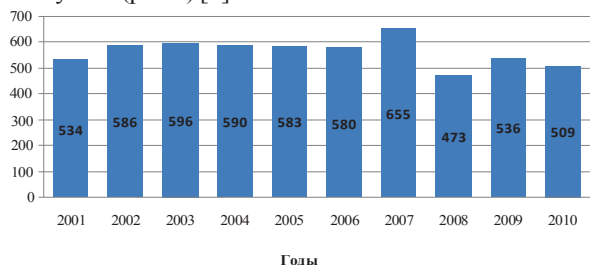


Рисунок 1 – Динамика абсолютного числа новорожденных с ГБН в Республике Беларусь за период с 2001 по 2010 годы

Среднегодовой темп прироста заболеваемости ГБН составил 0,55%. Перинатальные потери при ГБ за период 2001-2010 гг. составили 54 случая, из них 37 – ante- и интранатальная гибель плодов, 17 – смерть новорожденных в раннем неонатальном периоде. Интерес к проблеме гемолитической болезни плода и новорожденного в последние годы значительно возрос в связи с развитием и внедрением современных методов коррекции внутриутробного состояния плода при ГБ, одним из которых является внутриутробная гемотрансфузия (ВГТ) [11]. Данный метод был внедрен в медицинскую практику в РНПЦ «Мать и дитя» в 2009 году [1].

Целью нашего исследования явилась оценка результатов антенатальной диагностики и коррекции анемии плода при гемолитической болезни методом внутриутробной гемотрансфузии.

Материал и методы исследования

Работа выполнена в научных лабораториях репродуктивного здоровья и акушерской и гинекологической патологии, а также в отделениях патологии беременности Республиканского научно-практического центра «Мать и дитя».

За период с 2010 по 2011 гг. обследовано 79 пациенток с Rh-отрицательной принадлежностью крови, которые были разделены на 2 группы. В основную группу (ОГ) включены 54 пациентки с Rh-отрицательной принадлежностью крови, наличием антирезус-антител в сыворотке крови. Диагноз Rh-иммунизации, требующей предоставления медицинской помощи матери (О36.0), выставляли

в соответствии с Международной классификацией болезней X пересмотра [4]. Основная группа была разделена на 2 подгруппы. В 1 подгруппу вошли 22 (40,7%) беременные женщины с анемической формой ГБ плода, которым выполнялась ВГТ. Во 2 подгруппу включены 32 пациентки (59,3%), плодам которых оперативное лечение не проводилось. Группу сравнения (ГС) составили 25 пациенток с физиологическим течением беременности, Rh-отрицательной принадлежностью крови без иммунологического конфликта.

Средний возраст пациенток в 1 подгруппе ОГ составил $30,5 \pm 0,79$ лет, во 2 подгруппе ОГ – $30,4 \pm 0,81$ лет, в группе сравнения – $28,4 \pm 1,03$, Группы однородны по возрастному составу ($p > 0,05$).

Результаты анализа акушерского анамнеза в группах обследованных женщин представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика акушерского анамнеза в группах беременных женщин

Акушерский анамнез	Клинические группы					
	Основная группа				Группа сравнения	
	1 подгруппа		2 подгруппа		Группа сравнения	
	n	%	n	%	n	%
Роды	22	100*	31	96,9*	10	40,0
Rh-конфликт, из них:	7	31,8*	3	9,4	-	-
Аntenатальная гибель плода из-за ГБ	3	13,6*	-	-	-	-
Отягощенный акушерский анамнез:	17	77,3*	26	81,3*	10	32,5
- Медицинский аборт	11	50,0*	19	59,4*	1	4,0
- Выкидыш	4	18,2	6	18,8	6	24,0
- Неразвивающаяся беременность	1	4,5	-	-	3	12,0*
- Внезапная беременность	1	4,5	1	3,1	-	-

Примечание: n – абсолютное количество женщин; % – удельный вес в группах; * – достоверные различия в группах по сравнению с ГС (χ^2 , $p < 0,05$); – достоверные отличия между 1 и 2 подгруппами (χ^2 , $p < 0,05$).

По паритету родов пациентки обеих групп значительно различались. Так, роды в анамнезе имели в 1 подгруппе ОГ 22 (100%) женщины, во 2 подгруппе ОГ – 31 (96,9%) и в ГС – 10 (40,0%) женщин (χ^2 (подгруппа 1, ГС) = 19,4, $p < 0,05$; χ^2 (подгруппа 2, ГС) = 22,5, $p < 0,05$). При этом у 7 (31,8%) пациенток 1 подгруппы предыдущая беременность осложнилась Rh-сенсibilизацией, из них антенатальная гибель плода из-за ГБ была у 3 (42,9%) пациенток. Во 2 подгруппе лишь у 3 (9,4%) женщин предыдущая беременность осложнилась резус-конфликтом (χ^2 (подгруппа 1, подгруппа 2) = 4,35, $p < 0,05$), случаев антенатальной гибели плода в связи с ГБ не было (χ^2 (подгруппа 1, подгруппа 2) = 4,62, $p < 0,05$). В ГС у всех пациенток прошлая беременность протекала без иммунизации (χ^2 (подгруппа 1, ГС) = 9,4, $p < 0,05$; χ^2 (подгруппа 2, ГС) = 2,5, $p > 0,05$).

Отягощенный акушерский анамнез (ОАА) в 1 подгруппе ОГ был у 17 (77,3%), и во 2 подгруппе ОГ – у 26 (81,3%) пациенток, что достоверно чаще, чем в ГС – 10 (32,5%) женщин ($\chi^2_{(подгруппа\ 1,\ ГС)}=4,7, p<0,05; \chi^2_{(подгруппа\ 2,\ ГС)}=7,5, p<0,05$). Медицинские аборт в анамнезе в подгруппе 1 были у 11 (50,0%) женщин и в подгруппе 2 – у 19 (59,4%), в отличие от группы сравнения, где их не было ($\chi^2_{(подгруппа\ 1,\ ГС)}=11,5, p<0,05; \chi^2_{(подгруппа\ 2,\ ГС)}=14,1, p<0,05$). Самопроизвольные выкидыши в анамнезе в подгруппе 1 составили 4 (18,2%), в подгруппе 2 – 6 (18,8%) и в ГС – 6 (24,0%). Достоверных различий по удельному весу самопроизвольных абортов между группами выявлено не было ($\chi^2_{(подгруппа\ 1\ и\ 2,\ ГС)}=0,2, p>0,05$). Неразвивающаяся беременность в анамнезе была у 1 (4,5%) пациентки 1 подгруппы и у 3 (12,0%) – ГС. Случаев неразвивающейся беременности в анамнезе у беременных 2 подгруппы не было. Достоверные различия были выявлены только между пациентками 2 подгруппы и ГС ($\chi^2_{(подгруппа\ 1,\ ГС)}=0,84, p>0,05; \chi^2_{(подгруппа\ 2,\ ГС)}=4,1, p<0,05$). Внематочной беременностью был отягощен анамнез у пациенток 1 и 2 подгруппы (1 случай (4,5%) и 1 случай (3,1%), соответственно). Достоверных различий между группами не выявлено ($\chi^2_{(подгруппа\ 1,\ ГС)}=1,16, p>0,05; \chi^2_{(подгруппа\ 2,\ ГС)}=0,8, p>0,05$).

Ультразвуковое исследование (УЗИ) проводилось в динамике беременности всем пациенткам на аппарате Voluson 730 Expert с использованием датчиков с частотой 3,5 МГц. Оценивались фетометрические показатели, наличие или отсутствие свободной жидкости в серозных полостях, индекс амниотической жидкости (ИАЖ), локализация, размеры и степень зрелости плаценты, доплерометрическое (ДПМ) исследование фетоплацентарного кровотока в артерии пуповины, аорте и средней мозговой артерии (СМА) плода [4, 9, 11, 12].

Консервативная терапия проводилась всем беременным с Rh-сенсибилизацией согласно «Клиническим протоколам динамического наблюдения при физиологически протекающей беременности, ведения физиологических родов, диагностики и лечения болезней беременных, рожениц, родильниц, гинекологических болезней» №66 от 05.02.2007 года [2].

Для определения степени тяжести анемии плода пациенткам основной группы выполнялся диагностический кордоцентез (КЦ) [1], основным показанием для выполнения которого было изменение показателей доплерометрии в СМА (увеличение пиковой систолической скорости кровотока (ПССК) выше гестационной нормы – 100% случаев).

Кордоцентез выполняли под контролем УЗИ в операционной в асептических условиях с помощью пункционной иглы диаметром 20G. В шприц набирали 2,0-3,0 мл крови плода для определения группы крови и резус-фактора плода, выполнения общего и биохимического анализов крови [1].

При снижении уровня гемоглобина и гематокрита в крови плода на 15% и более от гестационной нормы [3] выполнялась внутриутробная гемотрансфузия эритроконцентрата, облученного суммарной дозой α -излучения 30 Гр.

Объем гемотрансфузии определяли с учетом уровня исходного гематокрита крови плода, гематокрита крови донора, должного гематокрита для данного срока гестации и предполагаемой массы плода согласно формуле [7]:

$$V_2 = \frac{Ht_3 - Ht_1}{Ht_2} \times M \times V_1,$$

где V_2 – объем эритроконцентрата, необходимый для

предстоящего переливания (в мл),

Ht_3 – показатель гематокрита для данного срока гестации,

Ht_1 – гематокрит крови плода (%),

Ht_2 – гематокрит крови донора,

M – предполагаемая масса плода (кг),

V_1 – фетоплацентарный объем крови (150 мл/кг).

Всего выполнена 41 операция ВГТ. Кратность выполнения внутриутробной гемотрансфузии зависела от срока гестации, тяжести течения ГБП, показателей ПССК в средней мозговой артерии плода. В 12 случаях ВГТ выполнено однократно, 4 пациенткам – дважды, также 4 беременным – по 3 операции, имели место единичные случаи, где потребовалось выполнение 4 и 5 процедур.

Анализ полученных результатов выполнен при помощи компьютерного пакета программ STATISTICA (версия 6,0) и стандартного приложения Microsoft Office Excel 2007 [8].

При анализе количественных показателей выполнялся расчет основных параметров описательной статистики (среднее арифметическое, медиана, 25-й и 75-й процентиля, доверительный интервал – 95,00% - +95,00%, стандартное отклонение, стандартная ошибка) с последующей проверкой правильности распределения величин (Shapiro-Wilk's W-test и Kolmogorov-Smirnov test). При нормальном распределении величин результаты обработаны методом вариационной статистики с определением среднего арифметического и ошибки среднеквадратичного отклонения для каждой группы сравниваемых показателей. Достоверность различий (p) между сравниваемыми группами признана значимой по критерию t (Стьюдента-Фишера) при вероятности безошибочного прогноза α 95% ($p<0,05$). В случае отличного от нормального распределения данных для дальнейшего анализа применяли методы непараметрической статистики. Для подтверждения гипотезы о наличии различий между 2 независимыми выборками использовали критерий Манна-Уитни (U) [8]. Достоверность различия данных, характеризующих качественные признаки в исследуемых группах, определяли на основании величины критерия соответствия (χ^2). Результаты исследований считали достоверными, а различия между показателями значимыми при вероятности безошибочного прогноза не менее 95% ($p<0,05$) [8].

Результаты и обсуждение

При проведении доплерометрии в СМА плодов основной и контрольной групп были выявлены достоверные различия между показателями ПССК (рис. 2).

Пиковая систолическая скорость кровотока в СМА плодов 1 подгруппы до операции внутриутробной гемотрансфузии составила в среднем $72,85 \pm 1,79$ см/сек, что было значительно выше, чем во 2 подгруппе ($50,93 \pm 1,40$ см/сек) и контрольной группе ($45,57 \pm 1,72$) (t -test, $p<0,001$). Диагностическая чувствительность данного метода исследования составила 91,7%, специфичность – 91,3%.

Распределение гематологических показателей в венозной крови по степени тяжести анемии у плодов 1 подгруппы представлено в таблице 2.

При анемии III степени у плодов количество эритроцитов и тромбоцитов, концентрация гемоглобина и гематокрита были достоверно ниже ($p<0,01$), чем при анемии I и II ст.

Выявлена достоверная обратная корреляционная связь средней силы между степенью тяжести анемии и концентрациями общего белка и альбумина ($R=-0,57$ и $R=-0,51$, соответственно; $p<0,05$) (табл. 3).

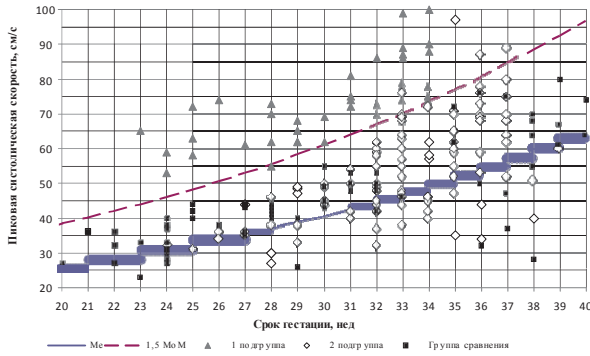


Рисунок 2 – Показатели пиковой систолической скорости кровотока в СМА у плодов ОГ и ГС

Таблица 2 – Гематологические показатели в венозной крови плодов до ВУГТ

Исследуемый показатель	Анемия I ст. (n=2)	Анемия II ст. (n=12)	Анемия III ст. (n=8)
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	3,5 \pm 0,15	2,9 \pm 0,15 ^{p3}	1,4 \pm 0,11 ^{p2}
Гемоглобин, г/л	120 \pm 4,0 ^{p1}	89,0 \pm 2,59 ^{p3}	50,0 \pm 3,16 ^{p2}
Гематокрит, %	34,5 \pm 1,15 ^{p1}	25,8 \pm 0,69 ^{p3}	15,6 \pm 0,83 ^{p2}
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	7,1 \pm 1,2	5,5 \pm 0,78	9,2 \pm 2,18
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	351,5 \pm 43,5 ^{p1}	220,9 \pm 13,46	193,3 \pm 27,28 ^{p2}

Примечание: p1 – достоверные различия между I и II ст. анемии, t-test, p<0,01; p2 – достоверные различия между I и III ст. анемии, t-test, p<0,01; p3 – достоверные различия между II и III ст. анемии, t-test, p<0,01.

Таблица 3 – Биохимические показатели в венозной крови плодов

Исследуемый показатель	Анемия I ст. Me(25%-75%)	Анемия II ст. Me(25%-75%)	Анемия III ст. Me(25%-75%)
Общий белок, г/л	41,0 (40,0-42,0)	37,0 (34,0-39,0) ^{p3}	34,0 (30,0-35,0) ^{p2}
Альбумин, г/л	32,1 (30,4-33,7)	28,8 (24,9-30,9)	25,4 (24,0-26,5)
Общий билирубин, мкмоль/л	50,5 (40,0-61,0) ^{p1}	87,1 (84,6-111,1)	124,3 (84,7-140,0) ^{p2}
Глюкоза, ммоль/л	3,5 (3,4-3,6)	3,8 (3,6-4,4)	3,9 (3,6-4,3)

Примечание: p1 – достоверные различия между I и II ст. анемии, U-test, p<0,05; p2 – достоверные различия между I и III ст. анемии, U-test, p<0,05; p3 – достоверные различия между II и III ст. анемии, U-test, p<0,05.

При анемии III степени уровень общего белка (34,0 (30,0-35,0) г/л) и альбумина (25,4 (24,0-26,5) г/л) были значительно ниже в сравнении с анемией I и II степени (p<0,05). При этом уровень общего билирубина был значительно выше (124,3 (84,7-140,0) мкмоль/л, p<0,05), что свидетельствует о более тяжелом течении гемолитической болезни плода в исследуемой группе пациенток.

Показатели ПССК в СМА плода до внутриутробной гемотрансфузии достоверно отличались в зависимости от степени тяжести анемии плода (рис. 3).

Так, при анемии II степени ПССК превышала нормальные значения в среднем на 8,8 \pm 1,77 см/сек (\square PS до ВУГТ – 1,5 МоМ \square PS до ВУГТ = 7,35 (3,35-9,35) см/сек), в отличие от плодов с анемией III степени – 18,6 \pm 3,07 см/сек (\square PS до ВУГТ – 1,5 МоМ \square PS до ВУГТ = 14,7 (8,0-19,0) см/сек) (U-test, p<0,05). После ВУГТ регистрировались нормальные показатели скорости кровотока в СМА во всех случаях (U-test, p<0,05), и достоверно не отличались в зависимости от степени тяжести анемии (\square PS до ВУГТ – PS после ВУГТ \square PS до ВУГТ = 29,0 (25,0-38,0) см/сек; \square PS до ВУГТ – PS после ВУГТ \square PS до ВУГТ = 30,5 (21,0-32,0) см/сек; U-test, p>0,05).

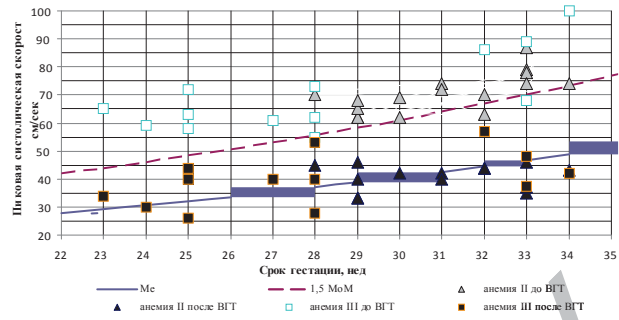


Рисунок 3 – Показатели пиковой систолической скорости кровотока в СМА в I подгруппе в зависимости от степени тяжести анемии плода до и после ВУГТ

Значительное улучшение гематологических и биохимических показателей было отмечено у новорожденных детей, которым на пренатальном этапе выполнено внутриутробное лечение анемии. Сравнительная характеристика результатов лабораторного обследования новорожденных в исследуемых группах представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Гематологические и биохимические показатели в венозной крови в сравниваемых группах новорожденных детей

Исследуемый показатель	Основная группа		Группа сравнения
	подгруппа 1	подгруппа 2	
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	4,9 \pm 0,36	4,9 \pm 0,29	5,4 \pm 0,24
Гемоглобин, г/л	147,2 \pm 10,42	168,8 \pm 9,25	192,6 \pm 6,73 ^{t2}
Гематокрит, %	40,8 \pm 3,16 ^{t1}	52,1 \pm 2,9	53,8 \pm 2,45 ^{t2}
Общий белок, г/л	45,4 \pm 2,06	47,8 \pm 2,07 ^{t3}	56,4 \pm 2,78 ^{t2}
Альбумин, г/л	32,3 \pm 4,96	31,6 \pm 0,56	43,7 \pm 1,74 ^{t2}
Общий билирубин, мкмоль/л	89,2 (73,6-125,8) ^{U1}	59,5 (46,0-84,0) ^{U3}	42,6 (32,5-49,5) ^{U2}
Мочевина, ммоль/л	2,9 \pm 0,30	3,1 \pm 0,23	3,6 \pm 0,64
Глюкоза, ммоль/л	3,7 \pm 0,60	3,7 \pm 0,44	3,7 \pm 0,33

Примечание: t – критерий Стьюдента (p<0,05); U – критерий Манна-Уитни (p<0,05); t1, U1 – достоверные отличия между 1 и 2 подгруппами; t2, U2 – достоверные отличия между 1 подгруппой и ГС; t3, U3 – достоверные отличия между 2 подгруппой и ГС.

Из представленных данных следует, что в результате выполнения внутриутробной гемотрансфузии у новорожденных детей I подгруппы ОГ количество эритроцитов, гемоглобин и гематокрит были практически в 2 раза выше, чем до лечения. Уровень общего белка значительно вырос (с 36,3 до 45,4 г/л), а уровень общего билирубина при рождении не отличался от такового до начала лечения. Данные показатели свидетельствуют о стабилизации состояния новорожденных и об эффективности проведенной терапии.

Анализ гематологических показателей выявил значимые различия только по более высокому уровню гемоглобина и гематокрита во 2 подгруппе и ГС новорожденных в сравнении с 1 подгруппой (p<0,05). Вместе с тем, общеклинические показатели крови у обследованных младенцев при рождении были в пределах возрастной нормы.

Общий белок и фракция альбумина существенно не отличались у новорожденных основной группы. Однако их концентрация была значительно ниже, чем в группе контроля.

В биохимическом статусе крови новорожденных получены достоверные различия в показателе общего билирубина между ОГ и ГС обследованных младенцев.

Выводы

1. В 40,7% случаев у резус-сенсibilизированных пациенток беременность осложнилась развитием тяжелой гемолитической болезни плода, потребовавшей внутриутробной коррекции.

2. Измерение пиковой систолической скорости кровотока в средней мозговой артерии является информативным методом диагностики анемии плода.

3. Выявлена достоверная прямая корреляционная связь показателей ПССК в СМА со степенью тяжести анемии плода.

4. Подтверждена достоверная корреляция между показателями биохимического анализа крови плода и степенью тяжести анемии.

5. Внутриутробная гемотрансфузия способствовала нормализации гемодинамики в организме плода, что подтверждалось снижением пиковой систолической скорости кровотока в СМА.

6. В результате проведенной антенатальной коррекции анемии плода у новорожденных I подгруппы отмечено значительное улучшение гематологических и биохимических показателей.

Список использованной литературы

1. Алгоритм проведения кордоцентеза и внутриутробной гемотрансфузии: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь, 18 дек. 2009 г., № 080-0709 / разработ.: Респ. науч.-практ. центр «Мать и дитя»; Харкевич О.Н., Семенчук В.Л., Белуга М.В., Войнилович Т.И. – Минск: Изд. центр БГУ, 2010. - 12 с.

2. Клинические протоколы динамического наблюдения при физиологически протекающей беременности, ведения физиологических родов, диагностики и лечения болезней беременных, рожениц, родильниц, гинекологических болезней. № 66 от 05.02.2007г.

3. Конопляников, А.Г. Новые технологии в диагностике, лечении и профилактике гемолитической болезни плода и новорожденного: автореф. дис. ...докт. мед. наук: 14.00.01 / А.Г. Конопляников; Мин.здрав. и соц.разв. РФ – М., 2009. – 27 с.

4. Медведев, М.В. Допплерография в акушерской практике / М.В. Медведев // М.: Медицина, 2007. - 64 с.

5. Международная классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем: МКБ-10. ВЗ-х т. Т.1. Ч.2. – Мн.: «Интер-Дайджест», 2000. – с.123-124.

6. Отчет о медицинской помощи беременным, роженицам и родильницам за 2001-2009 гг. (форма № 32): Утв. пост. Мин-ва статистики и анализа Респ. Беларусь от 14.09.2001 № 77. – Минск, 2001.

7. Савельева, Г.М. Диагностика, лечение, профилактика гемолитической болезни и плода при резус-сенсibilизации / Г.М. Савельева [и соавт.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2006. – № 6. – С. 73-78.

8. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – Москва: Медиа Сфера, 2002. - 312 с.

9. Abel, D.E. Ultrasound assessment of the fetal middle cerebral artery peak systolic velocity: A comparison of the near-field versus far-field vessel / D.E. Abel [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2003. – Vol. 189. – P. 986-989.

10. Alshimmiri, M.M. Prediction of fetal anemia by middle cerebral artery peak systolic velocity in pregnancies complicated by rhesus isoimmunization / M.M. Alshimmiri [et al.] // J. Perinatol. – 2003. – Vol. 23. – P. 536-540.

11. American College of Obstetricians and Gynecologists: Management of alloimmunization. Practice Bulletin Vol. 75, August 2006b.

12. Mari, G. Noninvasive diagnosis by Doppler ultrasonography of fetal anemia due to maternal red-cell alloimmunization / G. Mari / N. Engl. J. Med. - 2000. – Vol. 342. – P. 9-14.

13. Moise, K.J.Jr. Management of rhesus alloimmunization in pregnancy / K.J.Jr Moise [et al.] // Obstet. Gynecol. – 2008. – Vol. 112. – P. 164-176.

Diagnosis and intrauterine correction of anemia in fetal hemolytic disease

M.V. Beluga

SI «The Republican Scientific and Practical Center «Mother and Child»

The article presents results of application of modern methods of diagnosis and intrauterine treatment of fetal anemia in hemolytic disease, and their effectiveness has been proved.

Key words: Rh-alloimmunization, fetal hemolytic disease, cordocentesis, intrauterine blood transfusion.

Поступила 29.03.2012