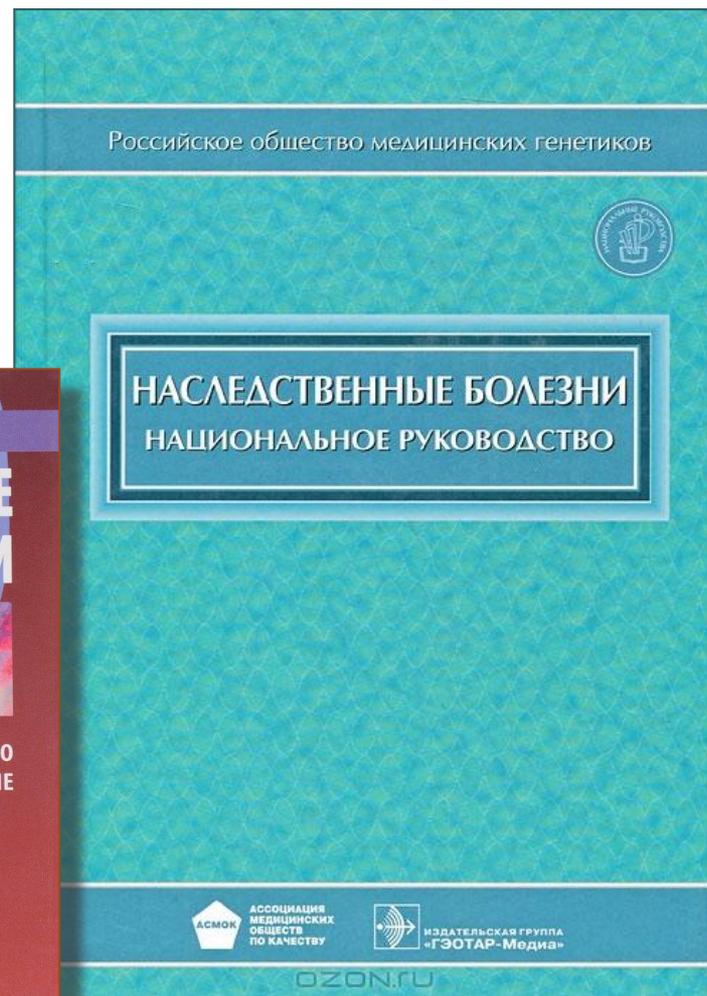
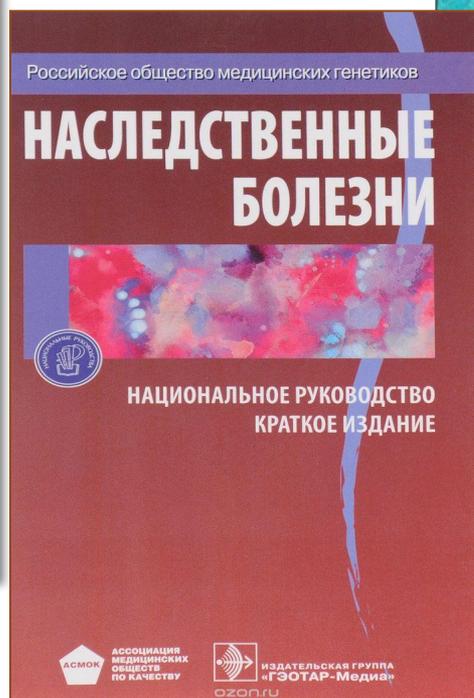
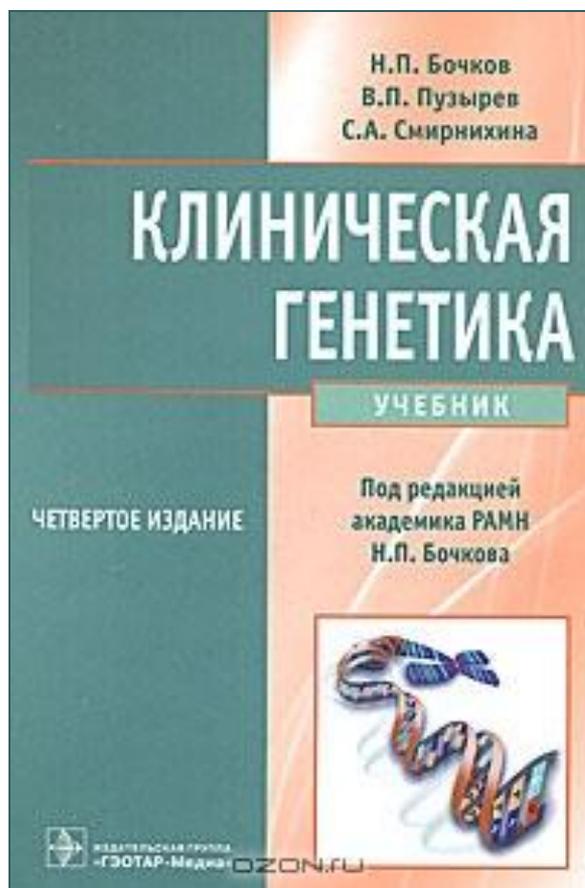


# Медицинская генетика

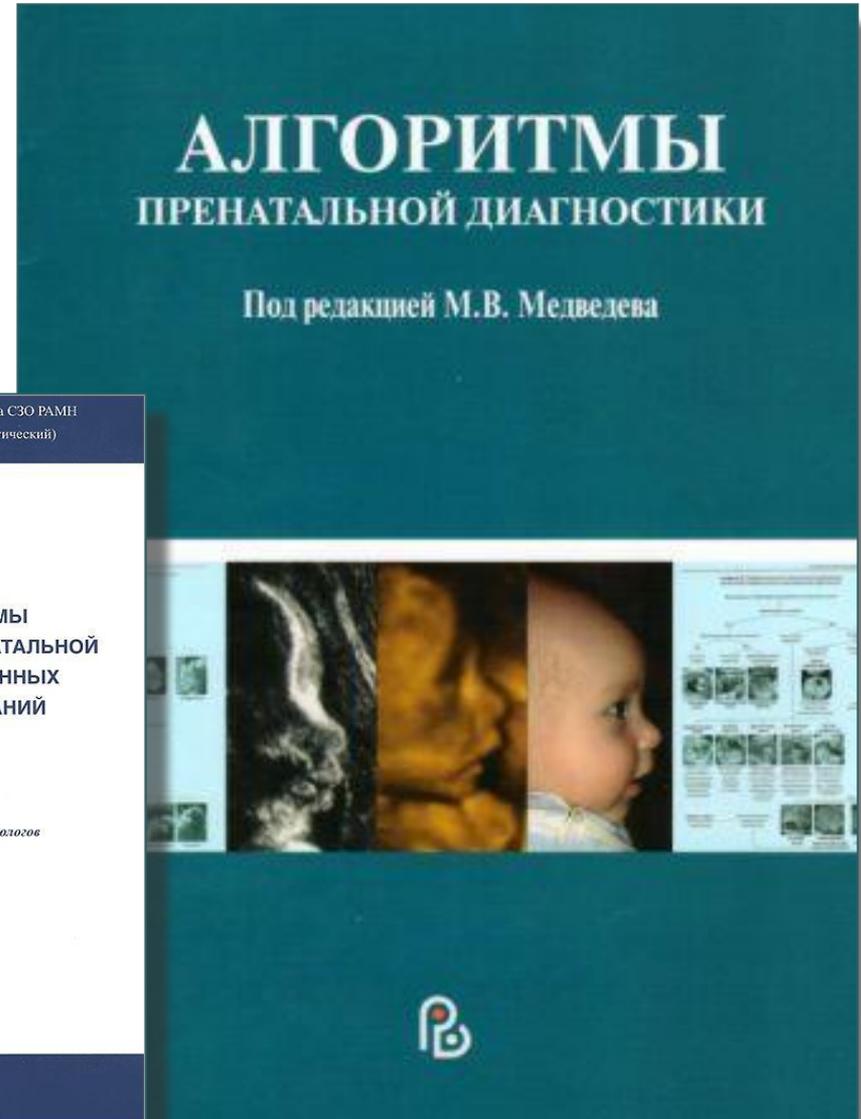
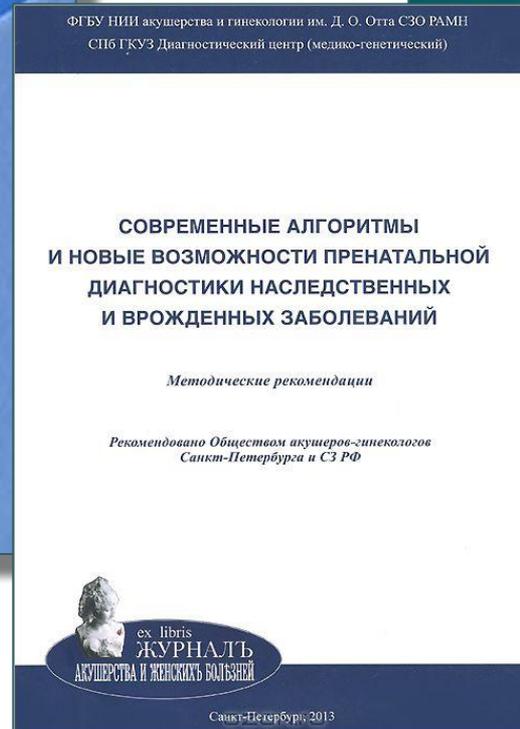
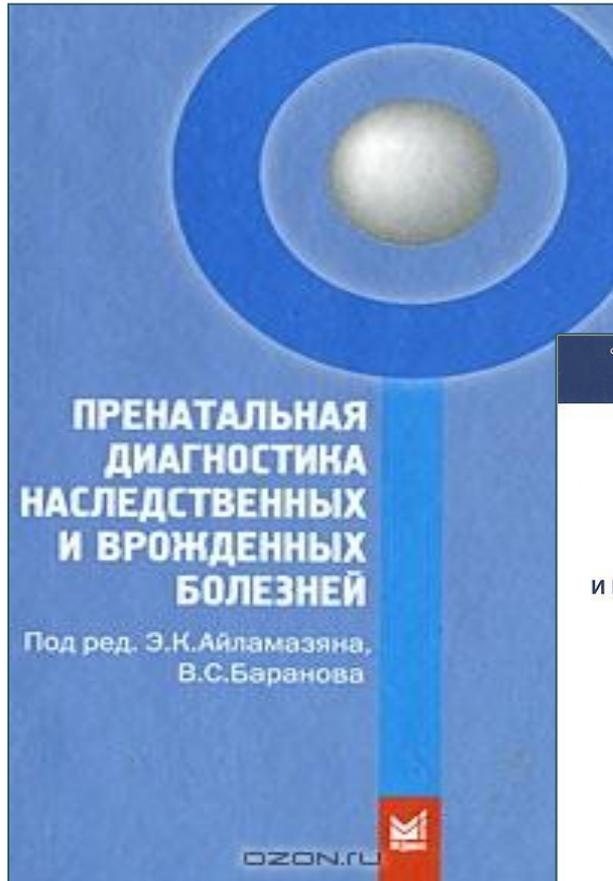


Пренатальная диагностика  
врожденных и наследственных  
болезней

# Учебная и дополнительная литература



# Учебная и дополнительная литература



# Величина генетического груза

- **Генетический груз** – наследственная изменчивость в популяции, приводящая к появлению менее приспособленных особей, подлежащих естественному отбору  
(**Википедия: генетический груз** – накопление летальных и сублетальных отрицательных мутаций, вызывающих при переходе в гомозиготное состояние выраженное снижение жизнеспособности особей, или их гибель)
- Генетический груз в Европейских популяциях и в России  $\approx 5,5\%$
- Летальность -70% всех зигот человека
- Врожденные пороки развития – 2,5% новорожденных, к 5-6 годам увеличивается до 5%
- Этиология ВПР – генные мутации (20%), хромосомные нарушения (25%), внешнесредовые факторы (8%), множественные факторы (32%), идиопатические (15%)
- **Наследственные болезни** - 1,5% (хромосомные – 0,5%, генные – 1,0%)
- Многофакторные болезни  $\sim 10\%$
- Бесплодные супружеские пары – 10-15%

Ежегодно в России рождается около 100 000 детей-инвалидов  
Около 40-50% ранней младенческой (перинатальной) смертности и инвалидности с детства обусловлены наследственными факторами

# Ф.Г. Добржанский:



- «Если мы сохраняем слабых и генетически больных и даем им возможность продолжения рода, мы можем опасаться заката генетического. Но если мы дадим им умереть или страдать, в то время как можем помочь, мы, несомненно, предвидим закат моральный»

Цитируется по С.Г. Инге-Вечтомов «Генетика с основами селекции»

# Система профилактики врожденных и наследственных заболеваний (ВНЗ)

## *1-й тип*

**Преконцепционная профилактика** - направлена на обеспечение оптимальных условий для развития половых клеток, оплодотворения и начальных этапов эмбриогенеза.

- ✓ Медико-генетическое консультирование для оценки риска наследственной патологии
- ✓ Тератологическое консультирование с целью минимизации возможного неблагоприятного действия внешних повреждающих факторов
- ✓ Дието- и витаминотерапия
- ✓ Своевременное лечение некоторых хронических заболеваний женщины (диабет, тиреотоксикоз и др.)
- ✓ Определение Rh-принадлежности супругов
- ✓ При необходимости вакцинация против краснухи

# Система профилактики врожденных и наследственных заболеваний (ВНЗ)

## *2-й тип*

**Пренатальная диагностика (ПД)** – направлена на раннюю диагностику и предупреждение рождения детей с тяжелыми инвалидизирующими и не поддающимися коррекции ВНЗ

- ✓ Предимплантационная генетическая диагностика
- ✓ Неинвазивные методы ПД
- ✓ Инвазивные методы ПД
- ✓ Лечение плода (медикаментозная терапия, заменные переливания крови при гемолитической анемии плода, некоторые типы оперативных вмешательств, клеточная терапия)

## *3-й тип*

**Тактика ведения детей с ВНЗ** – направлена на обеспечение не проявления (минимизацию) патологического фенотипа

- ✓ Неонатальный скрининг на наследственные болезни (фенилкетонурия, муковисцидоз, адреногенитальный синдром, врожденный гипотериоз, галактоземия)
- ✓ Социальная адаптация ребенка с ВНЗ

# Пренатальная диагностика

**научно-практическое направление,  
возникшее как новый раздел  
медицинской генетики в 70-х гг. XX в.  
на стыке клинических дисциплин  
(акушерства, гинекологии, неонатологии)  
и фундаментальных наук  
(патофизиологии, эмбриологии, биохимии,  
молекулярной биологии, генетики)**

**Пренатальная диагностика** – комплекс методов, направленных на выявление морфологических, структурных, стойких функциональных или молекулярных нарушений внутриутробного развития человека

***Основные руководящие документы МЗ РФ, Комитета по здравоохранению Администрации СПб:***

- Приказ МЗ РФ N 316 от 30 декабря 1993 г. "О дальнейшем развитии медико-генетической службы Министерства здравоохранения Российской Федерации"
- Приказ МЗ РФ №457 от 28 декабря 2000 г. "О совершенствовании пренатальной диагностики в профилактике наследственных и врожденных заболеваний у детей"
- Распоряжение Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга N 39-р от 02.02.2012г. «О мерах по снижению наследственных и врожденных заболеваний у детей в Санкт-Петербурге»
- Приказ МЗ РФ № 572 от 12.11.2012 Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)»
- Приказ МЗ РФ от 15.11.2012 N 917н "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным с врожденными и (или) наследственными заболеваниями

# Истоки ПД

- Steele & Breg, 1966 г. - впервые показана возможность культивирования и карiotипирования клеток амниотической жидкости (АЖ)
- Valenti et al. D 1968 г. – первая ПД трисомии 21 на клетках АЖ
- Tietung Group, Anshan, China, 1975 - трансцервикальная аспирация ворсин хориона через канюлю, "вслепую», первое использование инвазивной диагностики в целях практической медицины (определение полового хроматина)
- Kazy Z., Rozovsky IS, Bakarev VA, 1982 - трансцервикальная аспирация хориона под контролем ультразвука
- Smidt-Jensen S, Hahnemann N, 1984 - трансабдоминальная биопсия хориона под контролем ультразвука
- Daffos F, Capella Pavlovsky M, Forestier F., 1983 - кордоцентез под контролем ультразвука
- Niazi M., Coleman D., Loeffler F., 1981 - разработан способ культивирования ворсин хориона, повышена точность цитогенетических исследований
- Williamson R., Eskdale J., Coleman D. et al., 1981 - впервые проведен прямой анализ ДНК (диагностика гемоглобинопатии) - открыт путь к диагностике моногенных заболеваний
- Simoni G., Brambati B., Danesino C et al., 1983 - разработан и описан усовершенствованный метод анализа прямых препаратов ворсин хориона

# Методы оценки состояния плода



# Медико-генетическое консультирование в ПД

*Задачи врача-генетика при первичном консультировании семьи:*

- Оценка риска различных видов патологии при настоящей беременности;
- Определение необходимости инвазивной ПД;
- Оценка возможности проведения ПД в конкретной семье;
- Определение объема всех пренатальных мероприятий и оптимальных сроков обследований;
- Уточнение возможностей и ограничений диагностических методов;
- Обсуждение с семьей вероятных результатов и вариантов возможных решений;

*Критерии включения нозологии в группу заболеваний для инвазивной ПД:*

- Тяжелое заболевание у будущего ребенка, наличие которого является достаточным основанием для прерывания беременности;
- Лечение предполагаемого заболевания отсутствует или малоэффективно;
- Диагноз заболевания (наличие мутации) в семье подтвержден методами лабораторной генетики;
- Имеются надежные лабораторные тесты для ПД заболевания;
- Высокий генетический риск при данной беременности;
- Исследование необходимо для уточнения состояния плода, тактики ведения беременности и родов, а также срочной медицинской помощи ребенку после рождения.

# Пренатальные скринирующие программы

*Скрининг – это массовые исследования, направленные на выявление среди пациентов группы риска, угрожаемой по развитию изучаемой патологии.*

*Предмет скрининга – это патология с неблагоприятным прогнозом для жизни и здоровья и высокой популяционной частотой, лечение которой требует больших социально-экономических затрат*

*Эффективность скрининга определяется чувствительностью и специфичностью анализа*

- Цитогенетический скрининг
- Биохимический скрининг
- Ультразвуковой скрининг
- Иммунологический скрининг
- Скрининг на моногенные болезни

# Пренатальные скринирующие программы

## **1. "Цитогенетический"**

Группы риска рождения ребенка с хромосомной патологией на основе возраста беременной и семейного репродуктивного анамнеза

## **2. Биохимический**

Группы риска возникновения некоторых ВПР (дефекты нервной трубки) и хромосомных болезней (синдром Дауна) у плода на основе анализа маркерных белков в сыворотке крови беременной.

## **3. Ультразвуковой**

Выявление УЗ-маркеров хромосомных болезней и ВПР у плода

## **4. Молекулярно-генетический**

Группы риска рождения детей с генными болезнями на основе выявления досимптоматических больных и бессимптомных гетерозиготных носителей наиболее частых моногенных болезней (серповидно-клеточная анемия, муковисцидоз).

## **5. Иммунологический**

Группы риска возникновения ВПР у плода вследствие инфекций (краснуха, герпес, цитомегаловирус) и Rh-конфликта.

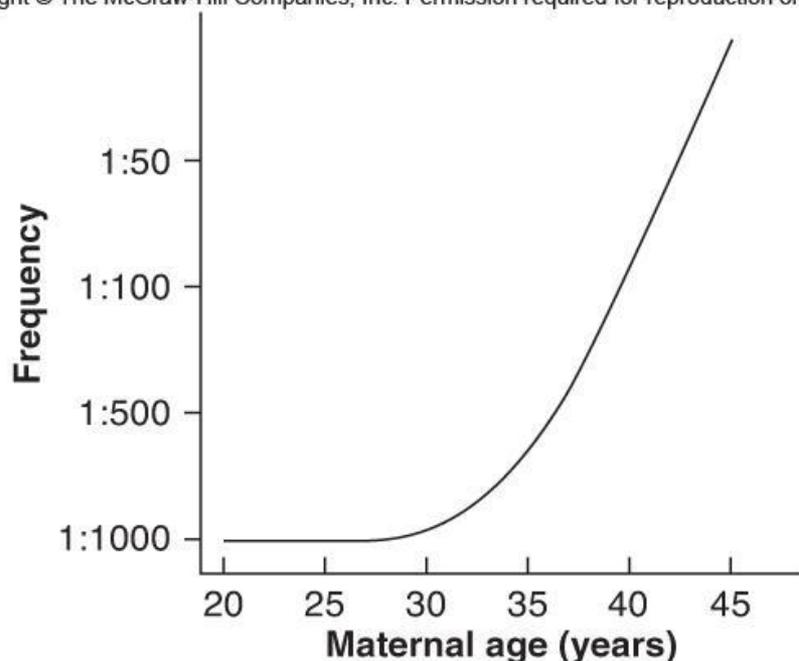
# Цитогенетический скрининг

- ❖ *Группы риска формируются на консультативном приеме акушерами-гинекологами женских консультаций и других родовспомогательных учреждений, осуществляющих наблюдение за беременными, и врачами других специальностей.*
- ❖ **Группа риска рождения ребенка с хромосомной болезнью формируется на основе:**
  - **возраста беременной**
  - **анамнестических данных (рождение ребенка с хромосомной патологией, МВПР у ребенка)**
  - **носительства аномального кариотипа в семье**

# Цитогенетический скрининг

Зависимость частоты рождения ребенка с синдромом Дауна от возраста матери

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Trisomy 21 in liveborn infants

From *Color Atlas of Genetics* by Eberhard Passage, p. 401. Copyright © 2001.  
Reprinted by permission of Thieme Medical Publishers, Inc.

Возраст матери	Частота с. Дауна у плода
----------------	--------------------------

20	1/1500
----	--------

25	1/1350
----	--------

30	1/900
----	-------

35	1/400
----	-------

36	1/300
----	-------

37	1/250
----	-------

38	1/200
----	-------

39	1/150
----	-------

40	1/100
----	-------

41	1/85
----	------

42	1/65
----	------

43	1/50
----	------

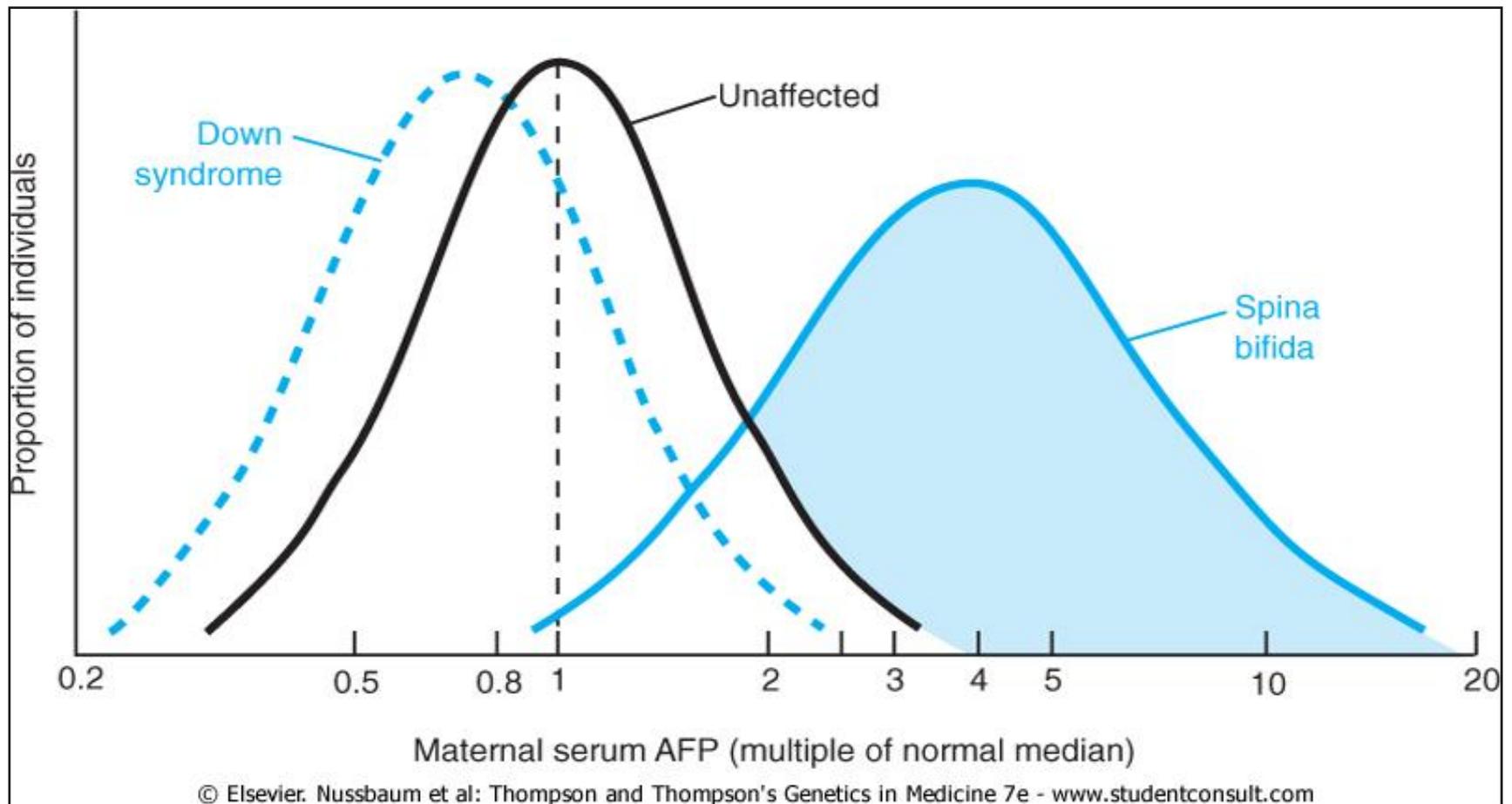
44	1/40
----	------

45	1/30
----	------

# Биохимический скрининг (применяется с 1972 г.)

- ❖ *Исследование уровня эмбрионспецифических белков в сыворотке периферической крови беременной*
- ❖ Цель: формирование группы риска наличия:
  - пороков развития плода (spina bifida, анэнцефалия, омфалоцеле)
  - хромосомной патологии плода (с-м Дауна, с-м Эдвардса, триплоидия, пр.)
  - акушерских осложнений
- ❖ *Расчет риска ВПР и хромосомных болезней у плода по биохимическим маркерам проводится с учетом возраста и анамнестических данных*

# Биохимический скрининг



# Биохимический скрининг

- 1 триместр беременности: *диагностически значимый срок 10-13(+6 дн.) недель*

- PAPP-A (pregnancy associated plasma protein A)
- βХГ (бета-субъединица хорионического гонадотропина)

Синдром Дауна                      ↓ PAPP-A  
↑ βХГ

Синдром Эдвардса                  ↓ PAPP-A

↓ βХГ Синдром Патау                  ↓ PAPP-A

- 2 триместр беременности: *диагностически значимый срок 15-20 недель*

- АФП (альфафетопротеин)
- ХГ (хорионический гонадотропин)

Синдром Дауна                      ↓ АФП                      ↑ βХГЧ

Синдром Эдвардса                  ↓ АФП                      ↓ βХГЧ

Компьютерный обсчет  
Высокий риск 1/250 (0,4%)

# Возможности биохимического скрининга для выявления плодов с синдромом Дауна

тест	уровень детекции*
<b>II триместр</b>	
Double (АФП+ ХГ)	59-63%
Triple (АФП+ ХГ+uЕз)	65%
Double (АФП+ $\beta$ -ХГ)	65-68 % (+5%)
Triple (АФП+ $\beta$ -ХГ+uЕз)	69 % (+5%)
Double + ингибин А	70-75 % (+7%)
Triple + ингибин А	73-76 % (+7%)
<b>I триместр</b>	
PAPP-A + $\beta$ -ХГ	62 %
PAPP-A + $\beta$ -ХГ + УЗ маркеры (ТВП + НК)	92-96 %

\* С учетом возрастного риска, при уровне ложноположительных результатов 5% и пороговом риске 1:250

# Ультразвуковой скрининг

- ❖ Дородовая эхография характеризуется:
  - ✓ *высокой информативностью*
  - ✓ *безопасностью*
  - ✓ *возможностью массового использования*
- ❖ Цель: диагностика ВПР, формирование группы риска, угрожаемой по рождению детей с врожденными и наследственными заболеваниями

# Условия для эффективного ультразвукового скрининга

- Сроки проведения исследования
- Квалификация врачей УЗД
- Диагностические возможности ультразвукового оборудования
- Единый протокол исследования
- Единая система учета (регистр врожденных и наследственных болезней)
- Верификация диагноза (патологоанатомическая служба)



# УЗИ маркеры хромосомной патологии

- **1 триместр**

- **КТР** – копчико-теменной размер (оценка соответствия сроку развития)
- **ТВП** – толщина воротникового пространства (не более 2,5 мм)
- **НК** – оссификация носовой кости

- **2 триместр**

- **Мажорные маркеры:** шейная складка (более 6мм), мезобрахифалангия, укорочение длинных трубчатых костей
- **Минорные** (нужно более 2 для формирования показания для ПД): «гольфный мяч», кисты сосудистых сплетений, гиперэхогенный кишечник, пиелозктазия, единственная артерия пуповины, многоводие

# УЗИ маркеры хромосомной патологии



*норма*



*увеличение ТВП*

# УЗИ маркеры хромосомной патологии



**Рис. 32-14.** Изображение кисти плода с синдромом Дауна во втором триместре. Гипоплазия средней фаланги пятого пальца.

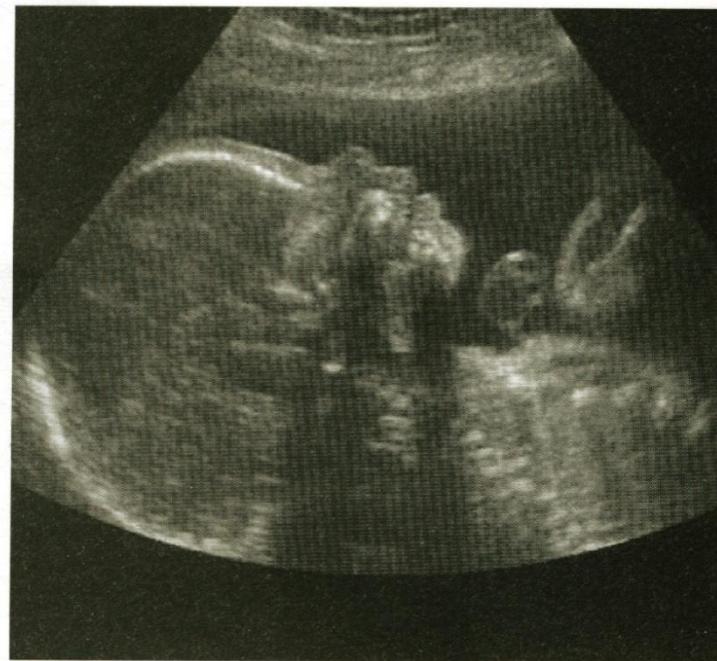


**Рис. 32-15.** Изображение основания стопы у плода с синдромом Дауна во втором триместре. Широкое разделение первого и второго пальцев.

# УЗИ маркеры хромосомной патологии

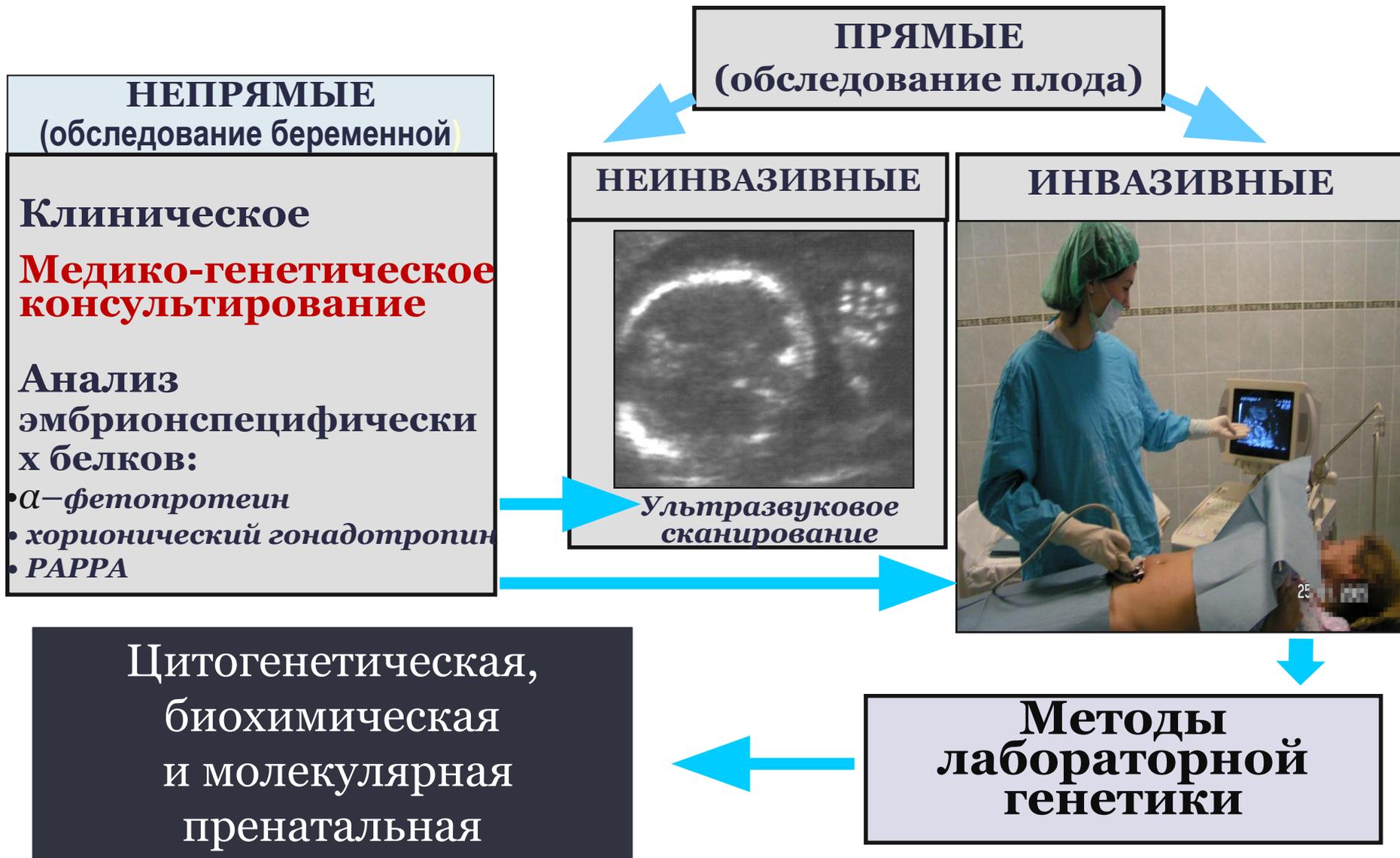


**Рис. 32-16.** На срединном сагиттальном срезе у плода с нормальным набором хромосом визуализируется нормальная носовая кость.



**Рис. 32-17.** Срединный сагиттальный срез у плода с синдромом Дауна. Отсутствие носовой кости.

# Методы оценки состояния плода

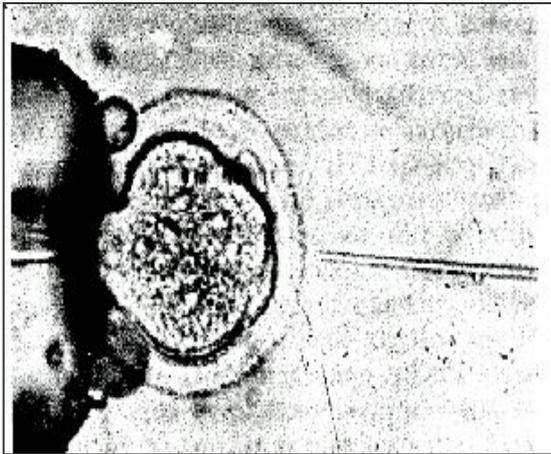


## Показания для проведения инвазивной ПД

- Возраст матери от 35 лет и старше
- Наличие в анамнезе ребенка или плода с хромосомной патологией или МВПР
- Установленное семейное носительство хромосомной аномалии или генной мутации
- Наличие в семье моногенного заболевания
- Выявление у плода УЗ-маркеров хромосомных болезней
- Высокий риск хромосомной болезни у плода по отклонению уровня сывороточных белков

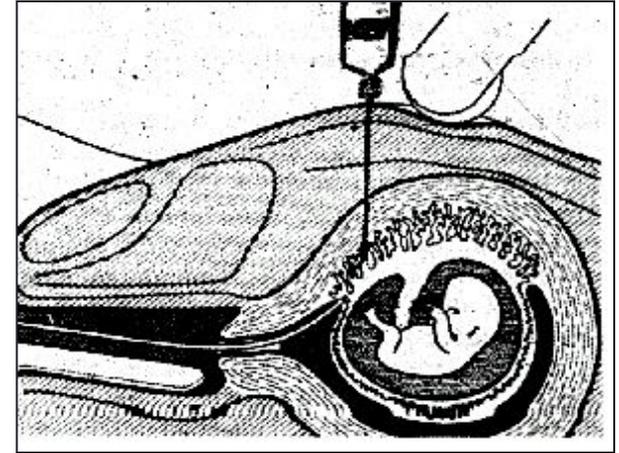
# ИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ПЛОДНОГО МАТЕРИАЛА

## До имплантации

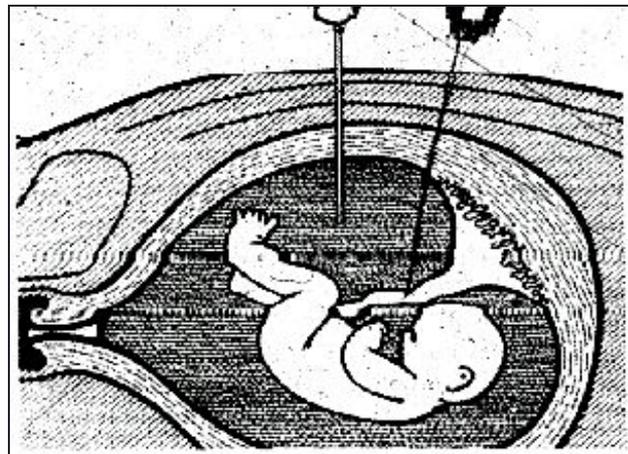


*микрохирургия  
дробящейся  
яйцеклетки*

## I триместр



## II триместр



*трансабдоминальный  
плацентоцентез,  
амниоцентез,  
кордоцентез*

*трансцервикальная или  
трансабдоминальная  
хорионбиопсия*

# Использование материала плода для диагностики

## Молекулярная диагностика НБ

- *Ворсины хориона*
- *Плацента*
- *Пуповинная кровь*
- *Амниоциты*

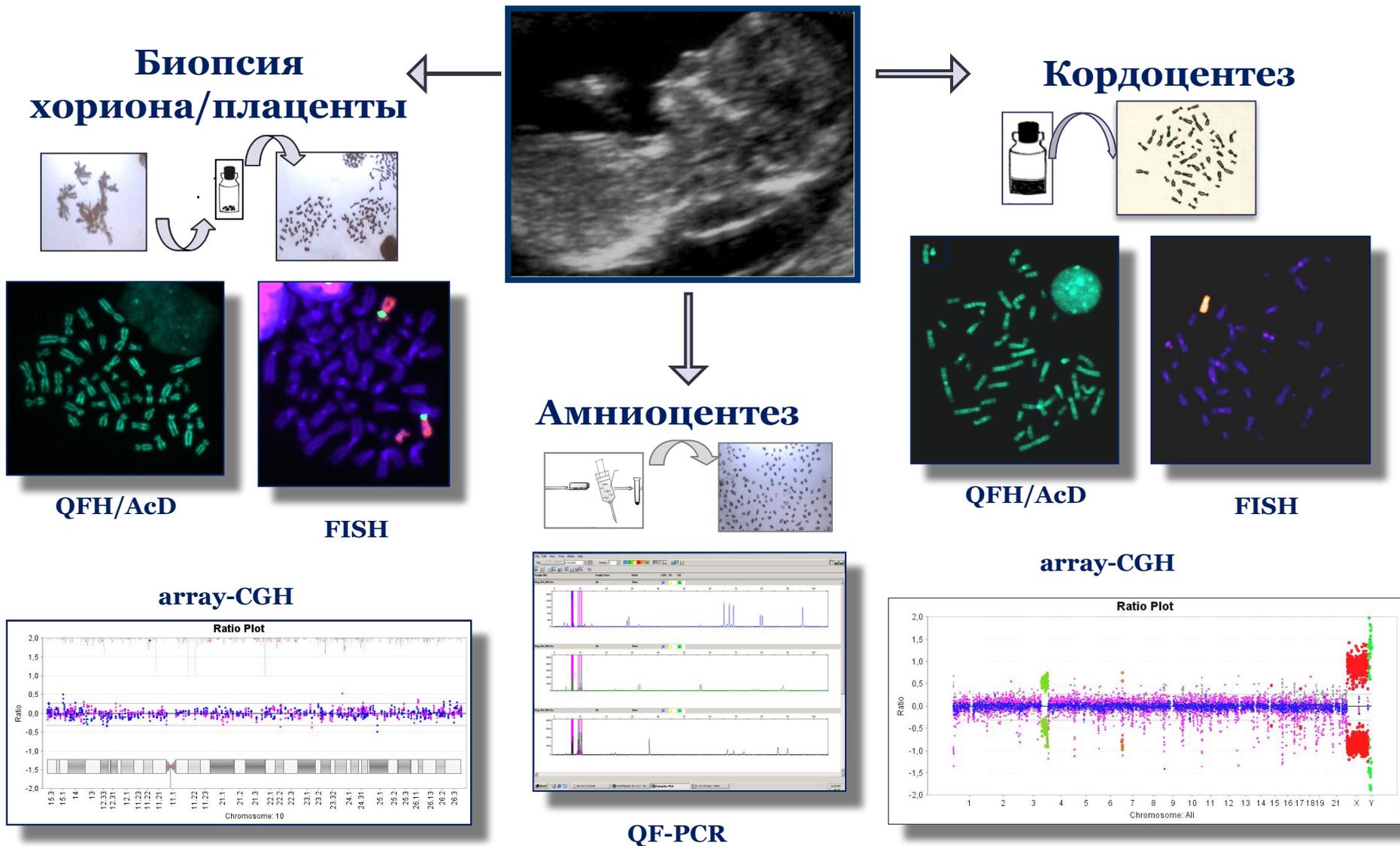
## Цитогенетическая диагностика ХБ

- *Амниоциты (культура)*
- *Ворсины хориона (культура и прямые препараты)*
- *Пуповинная кровь*

## Биохимическая диагностика:

- *Пуповинная кровь*
- *Амниотические воды*

# Пренатальная диагностика хромосомных болезней



# Пренатальная диагностика моногенных болезней

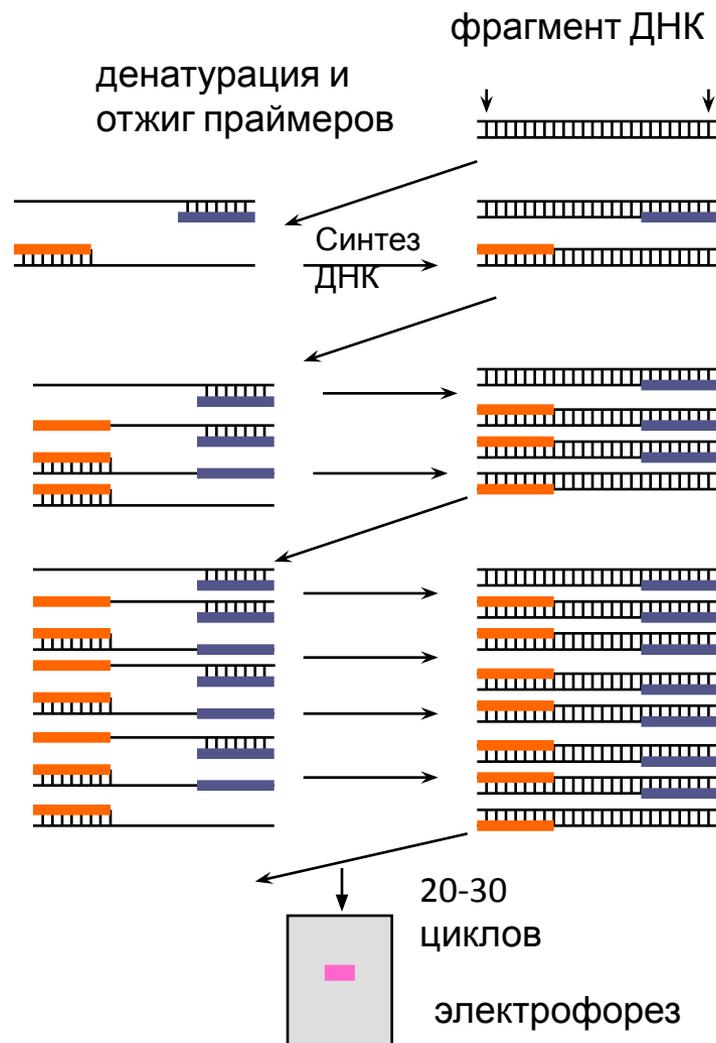
- ✓ Точность клинического диагноза
- ✓ Своевременное обследование семьи высокого риска и больного с помощью молекулярных методов
- ✓ Правильность оценки риска рождения больного ребенка
- ✓ Выбор оптимального срока ПД
- ✓ Возможность получения материала плода
- ✓ Четкие рекомендации после ПД

## ***Основные подходы к диагностике генных болезней:***

- **прямая диагностика** – непосредственная идентификация мутаций в определенном гене
- **косвенная (непрямая) диагностика** – маркирование мутантного гена (маркирование хромосомы, несущей мутантный ген) с помощью молекулярных маркеров

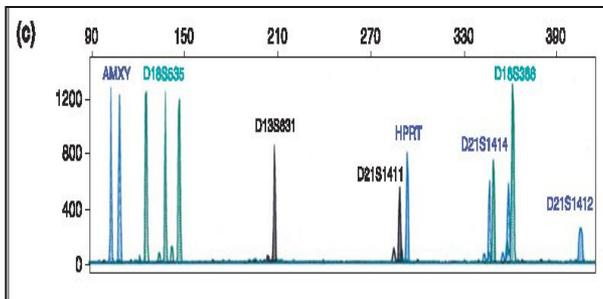
# МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА:

## Принцип ПЦР



*Методы на основе ПЦР позволяют увеличить количество геномного сегмента, который содержит определенный ген для его дальнейшего анализа*

# МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА



ПЦР с флуоресцентно-мечеными праймерами

Аллель-специфическая ПЦР

Метод анализа конформационного полиморфизма однонитевой ДНК - SSCP

Денатурирующий градиентный гель-электрофорез - DGGE

Метод гетеродуплексного анализа НА;

Метод прямого секвенирования

Анализ сцепления

# Пренатальная диагностика генных болезней

1. *Муковисцидоз*
2. *Спинальная мышечная атрофия*
3. *Нейросенсорная тугоухость*
4. *Фенилкетонурия*
5. *Адреногенитальный синдром*
6. *Синдром Мартина-Белл (ломкая X хромосома)*
7. *Гемофилия А*
8. *Миодистрофия Дюшенна*
9. *... Возможна диагностика любой другой наследственной патологии, если известен ген и найдена мутация, приводящая к данному заболеванию....*

# Алгоритм инвазивной пренатальной диагностики наследственных болезней



# Схема проведения ПГД:

Генетическая консультация и обследование

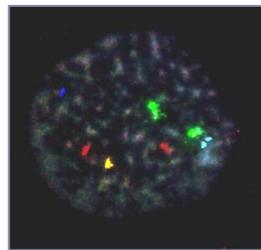
Генетическое заключение

Оплодотворение *in vitro* (IVF или ICSI)

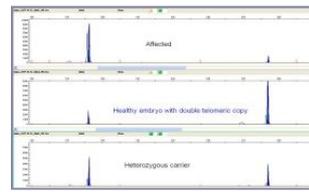


## Диагностика методами:

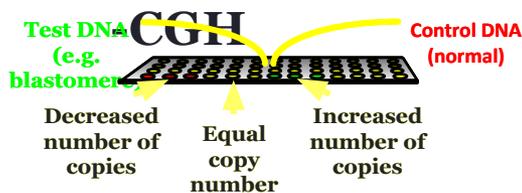
FISH



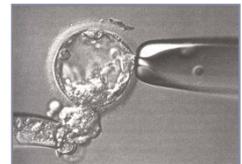
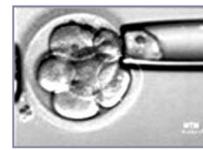
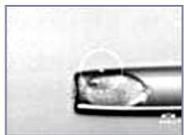
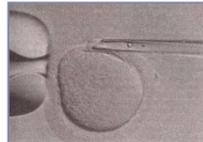
PCR, NGS



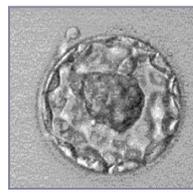
Microarray



Биопсия полярных телец и/или бластомеров, трофэктодермы



Перенос



3 день

4

5

# Неинвазивная пренатальная диагностика

- Использует клетки плода или ДНК плода, циркулирующие в крови матери
- Доступно с 7й недели беременности
- Можно определить:
  - пол
  - резус-фактор
  - мутации, отсутствующие у матери

НИПТ – неинвазивное пренатальное тестирование на анеуплоидию (определение нарушений числа хромосом X, Y, 13, 18, 21, а также некоторых микроцитогенетических синдромов) молекулярно-биологическими методами (NGS)