

ЛЕКЦИЯ 9

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ  
СКРИНИРОВАНИЕ.  
ПРЕНАТАЛЬНАЯ  
ДИАГНОСТИКА  
НАСЛЕДСТВЕННЫХ И  
ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ  
РАЗВИТИЯ**

- **Генетический скрининг** является одной из разновидностей популяционного скрининга, который широко используется в практическом здравоохранении.
- Примером может служить обязательное флюорографическое обследование с целью выявления ранних форм туберкулеза легких или профилактическое обследование всех женщин для выявления ранних стадий рака молочной железы.

**● Генетический скрининг – выявление в популяции лиц с определенным генотипом, который либо обуславливает заболевание или предрасполагает к возникновению заболевания, либо может обусловить формирование болезни у потомства.**

# **Основные принципы генетического скрининга**

- 1) заболевание должно быть тяжелым (инвалидизирующим) и достаточно частым в популяции, так, чтобы польза от применения программы скрининга была выше, чем его цена, затраченная на ее исполнение; клиническое течение заболевания должно быть хорошо изучено;
- 2) методы выявления болезни, используемые при скрининге, не должны давать ложноотрицательных результатов и должны быть простыми в исполнении, то есть, методы должны быть валидными (обоснованными);
- 3) к моменту начала скрининга должны быть разработаны эффективные методы лечения выявляемого заболевания.

- **Данные принципы скрининга хорошо выполняются при скрининге на некоторые наследственные болезни обмена веществ всех новорожденных в популяции:**
- **ФКУ,**
- **гипотериоз ,**
- **адрено-генитальный синдром;**
- **муковисцидоз;**
- **галактоземия (не во всех странах).**

**Внедрение программ**

**скрининга в каждой популяции**

**требует большой**

**подготовительной работы,**

**предусматривающей обучение**

**не только персонала,**

**участвующего в скрининге, но и**

**населения, так как скрининг**

**всегда проводят добровольно.**

● Существует еще одна разновидность генетического скрининга, при которой выявляются генотипы, которые могут обусловить возникновение наследственного заболевания у потомства.

● Это обнаружение гетерозиготных носителей мутантных генов, такой скрининг проводят в популяциях, в которых с высокой частотой встречается определенное наследственное заболевание.



# ***β-талассемия***

# талассемии

## $\alpha$ -thalassemias

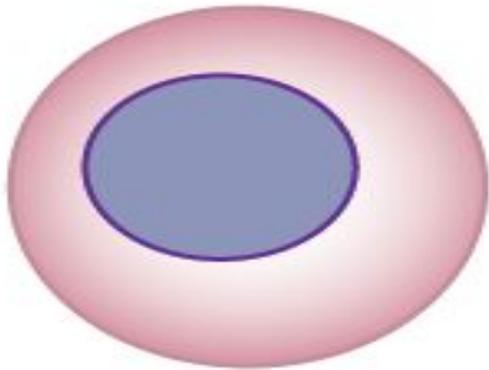


## $\beta$ -thalassemias



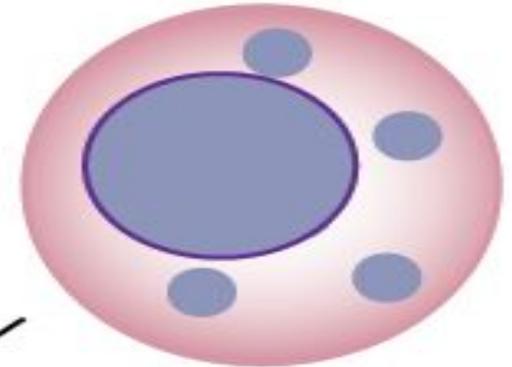
# Альфа- и бета-талассемия

Erythroblast



**$\alpha$  thalassemia**

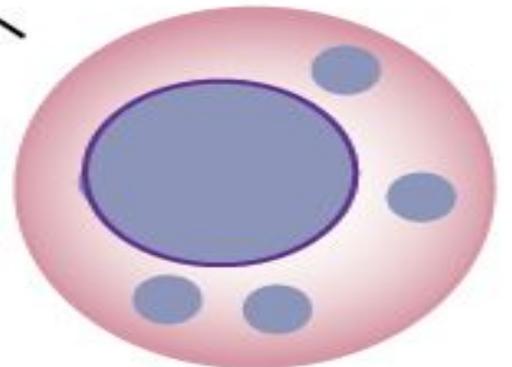
Excess  $\beta$  chains



$\beta$  hemichromes

**$\beta$  thalassemia**

Excess  $\alpha$  chains



$\alpha$  hemichromes

Thalassemia	Chromosome	Genetic error
Alpha	16	Deletions
Beta	11	Mutations

- **Впервые скрининг гетерозиготных носителей был начат в некоторых популяциях евреев ашкенази, в которых с высокой частотой встречалась болезнь Тея-Сакса, или GM2-ганглиозидоз (частота 1:3600 новорожденных);**
- **скрининг на гетерозиготное носительство серповидно-клеточной анемии проводят в афро-американских популяциях США и Кубе (1:600 новорожденных).**

Однако самое широкое распространение получил скрининг гетерозигот по  $\beta$ -талассемии (недостаточный синтез  $\beta$ -цепей приводит к избыточному образованию  $\alpha$ -цепей, при этом образуется нестабильный гемоглобин, который преципитирует и выпадает в эритроцитах в виде телец включения, такие эритроциты быстро разрушаются и гемолизируются).



- **Данный скрининг проводят во многих странах средиземноморья и на Кубе (1:3600 новорожденных в Италии, Греции, на Кипре). В настоящее время для скрининга гетерозиготных носителей мутаций во всех указанных генах используют методы ДНК-диагностики.**

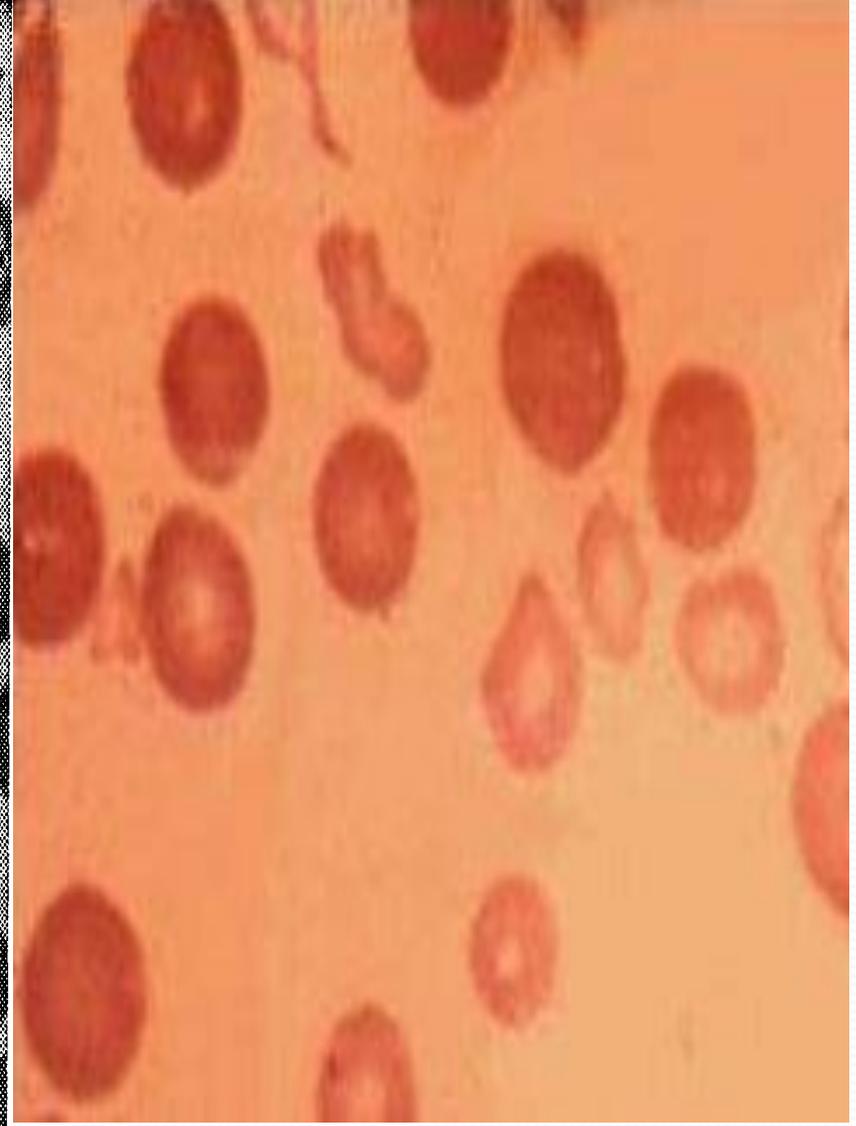
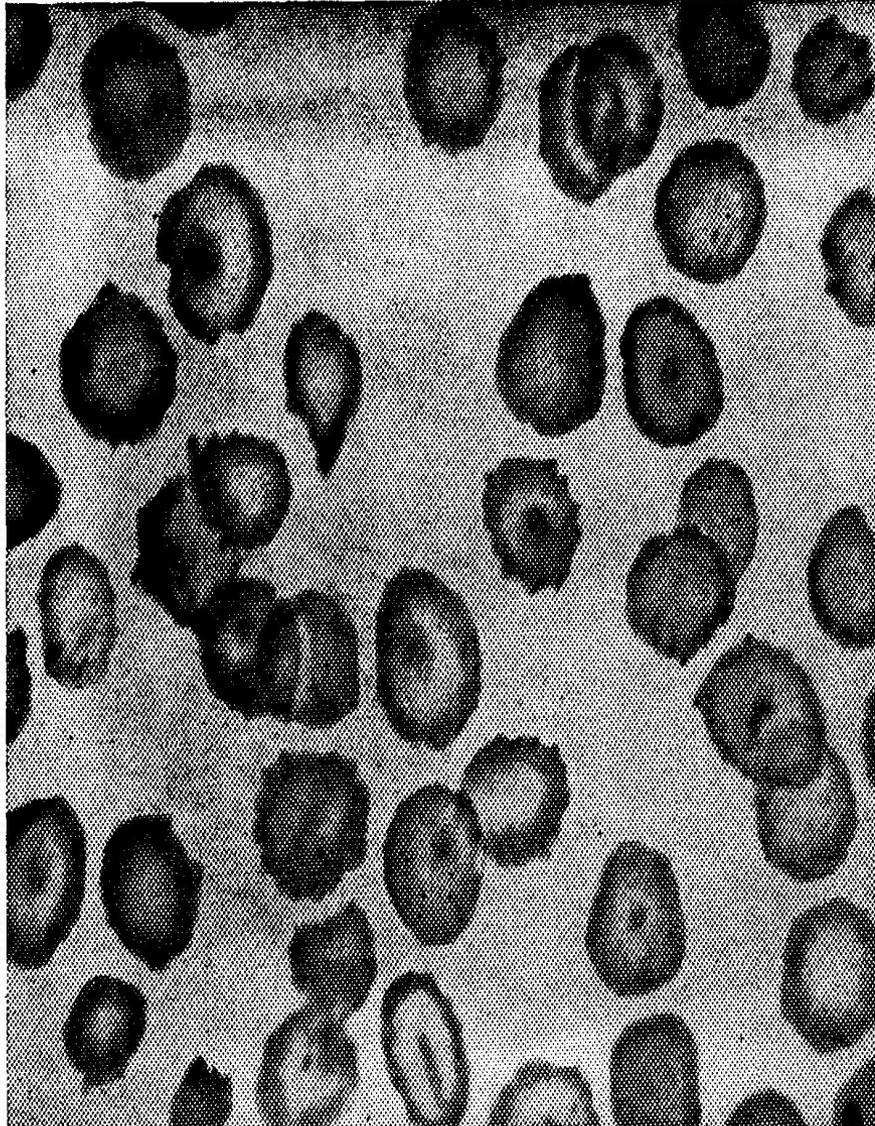
## *Нарушение синтеза гемоглобина:*

### ● **Талассемия**

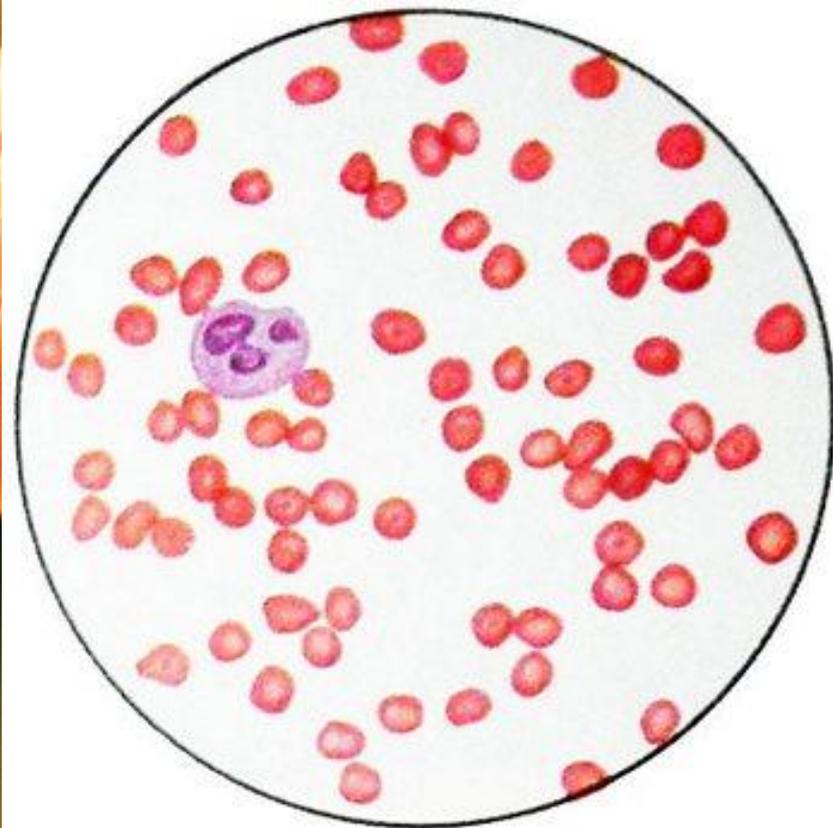
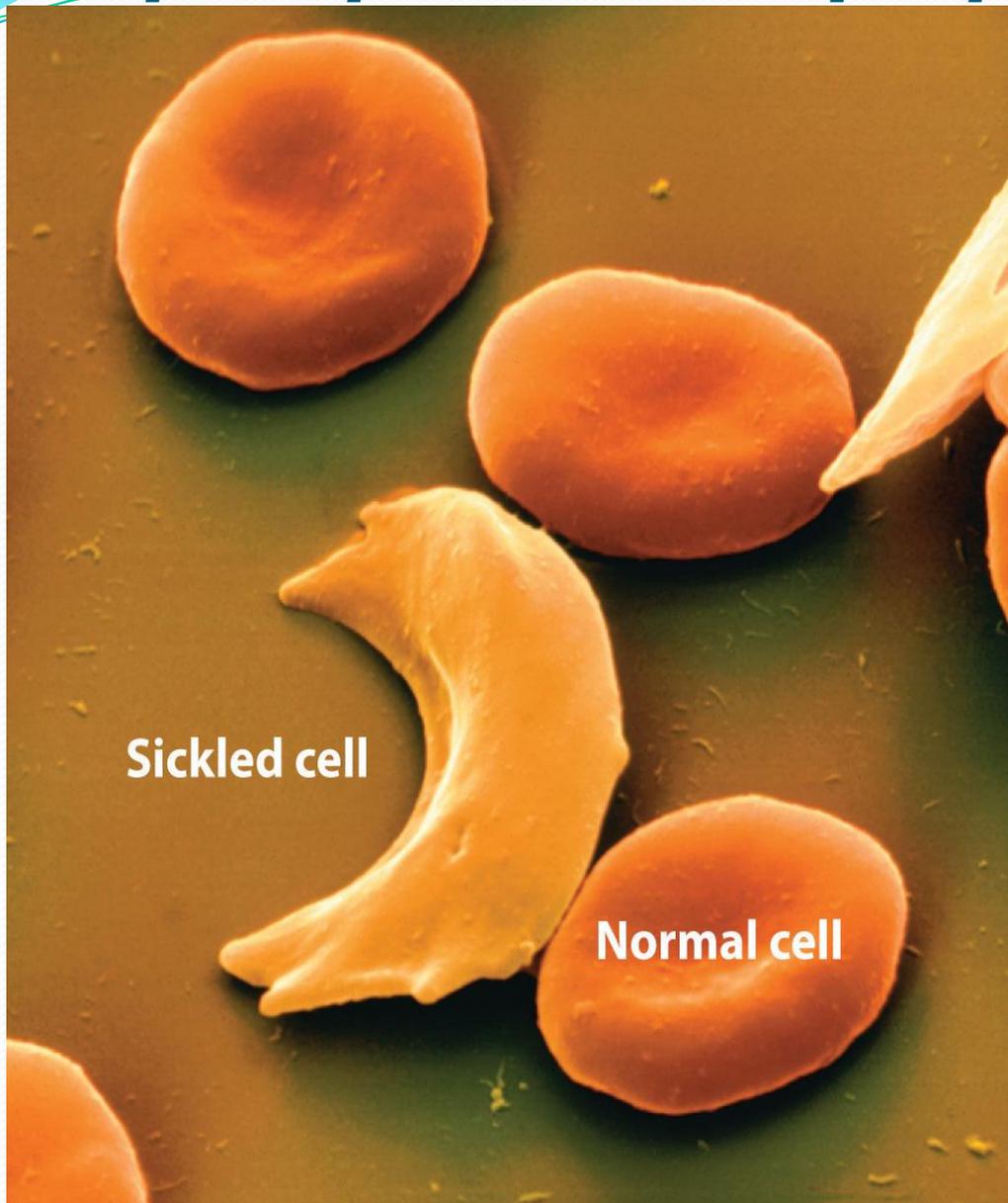
(Средиземноморская анемия) проявляется анемией (малокровии "ям) различной степени тяжести, как правило, повышенным содержанием железа в организме, увеличением печени и селезенки..



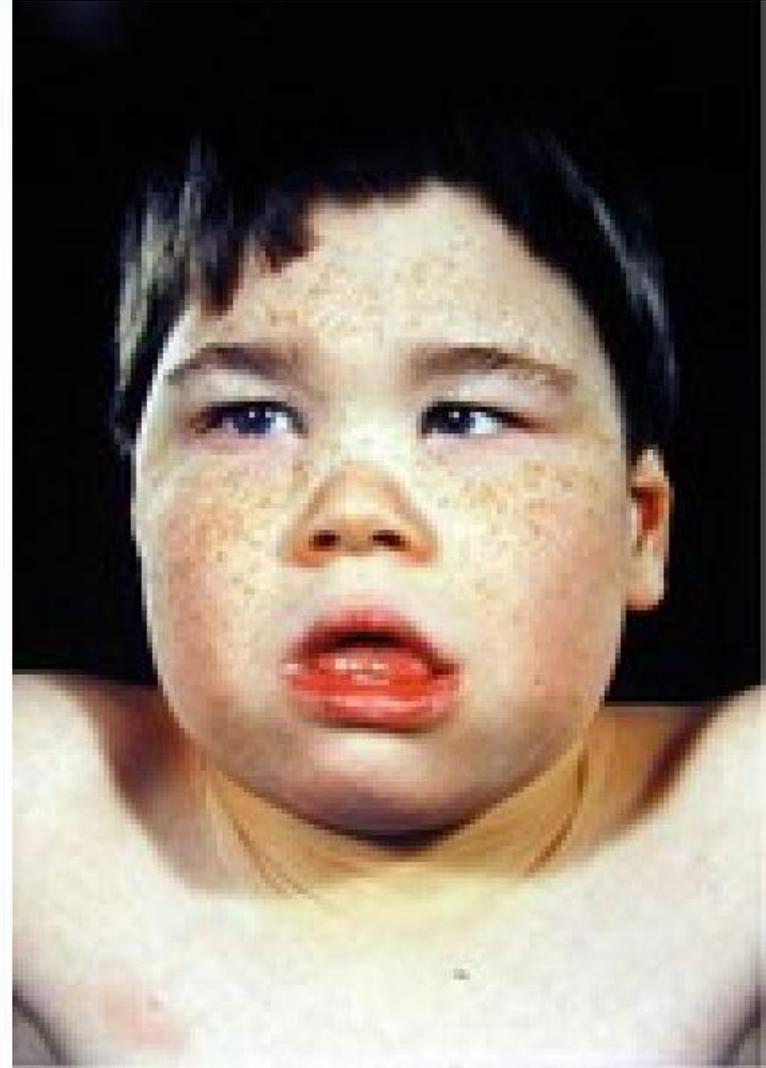
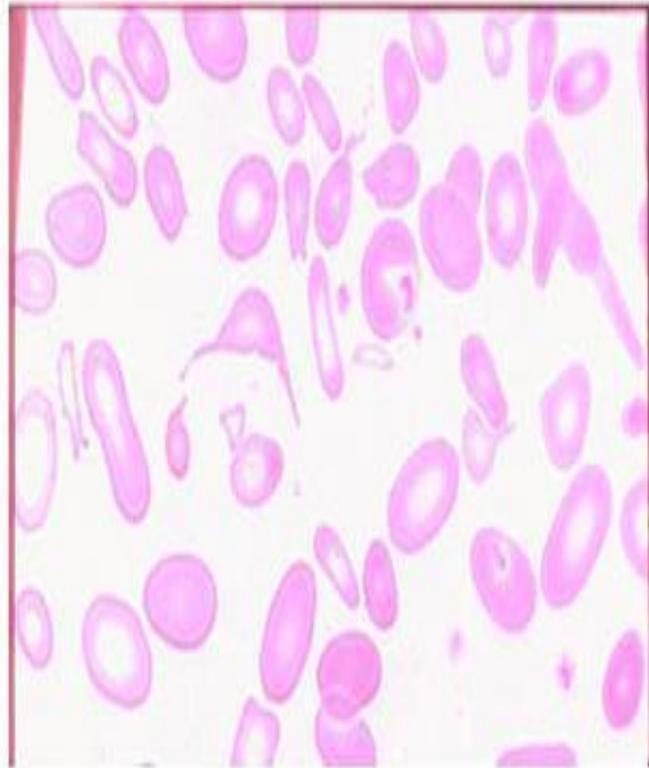
# Препараты крови больных с $\beta$ -талассемией



# Эритроциты при $\beta$ -талассемии



# Больные с $\beta$ -талассемией



- **Выявление гетерозиготных носителей наследственных заболеваний обычно проводят у школьников, и все обнаруженные носители составляют диспансерную группу региональной медико-генетической консультации или центра.**
- **При заключении брака между гетерозиготными носителями семья может обратиться за консультацией в МГЦ и осуществить пренатальную диагностику соответствующего заболевания у плода во время каждой беременности.**
- **Хорошо организованный скрининг гетерозиготного носительства и последующий мониторинг семьи является чрезвычайно эффективными в снижении частоты заболевания в популяции.**
- **Например, на Кипре и Кубе, где частота  $\beta$ -талассемии уменьшилась более чем на 90% и поддерживается на очень низком уровне за счет тех семей, которые отказались от пренатальной диагностики.**

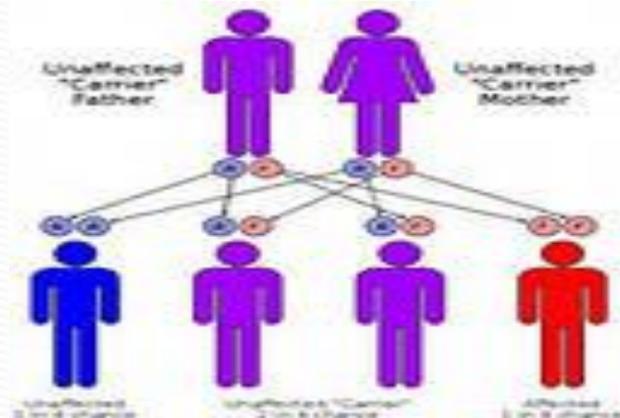
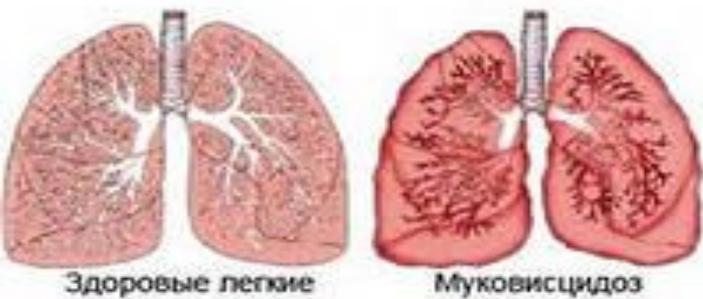


# **Муковисцидоз**

- **Скрининг на гетерозиготное носительство мутаций в определенных генах требует еще более серьезной подготовки популяции к его проведению для того, чтобы избежать стигматизации гетерозигот, выявленных во время скрининга, и для более эффективной работы МГЦ с обнаруженными носителями.**
- **Нередко между выявлением носителя и проведением пренатальной диагностики наследственного заболевания в его семье может пройти десятилетие или больше, что требует особого подхода в работе МГЦ.**

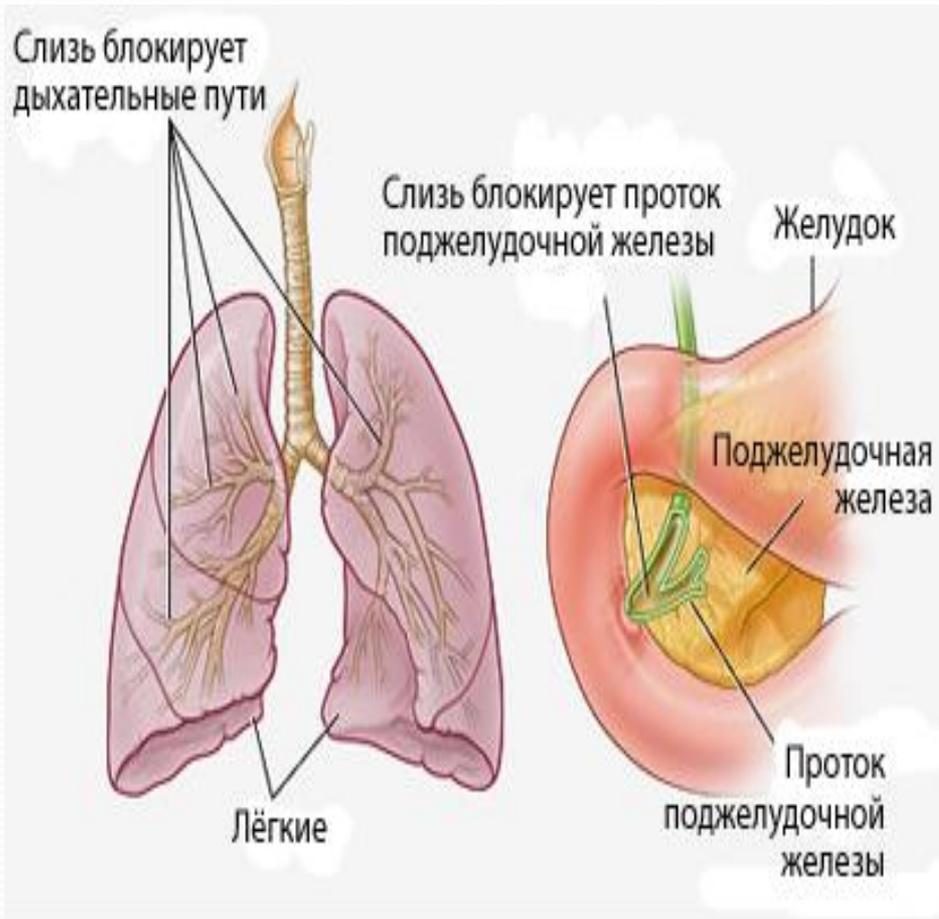
- Скрининг на гетерозиготное носительство особенно эффективен в тех случаях, когда наследственное заболевание не только часто встречается в популяции, но вызывается небольшим числом мутаций в соответствующем гене.

- В Англии начался пробный скрининг на выявление гетерозиготных носителей мутации  $\Delta$ -F508, что оправдано высокой частотой этой мутации, которая встречается в 80% случаев муковисцидоза при частоте заболевания 1:2500 новорожденных.



- **Муковисцидоз (кистозный фиброз) – АР болезнь, в основе патогенеза которой лежит нарушение транспорта ионов  $Cl$  и  $Na$  через клеточные мембраны.**
- **Патогенез болезни обусловлен тем, что при отсутствии синтеза первичного продукта гена *нарушается транспорт хлоридов* в эпителиальных клетках, что приводит к избыточному выведению хлоридов, вследствие чего происходит гиперсекреция густой слизи в клетках эндокринной части поджелудочной железы, эпителии бронхов, слизистой оболочки ЖКТ.**
- **Подобные процессы развиваются в придаточных пазухах, в канальцах семенников; в потовой жидкости повышена концентрация ионов  $Na$  и  $Cl$ , что и является основным диагностическим тестом.**
- **Проводить исследование на МВ необходимо в первый месяц жизни или не проводить вообще.**

# Клинические проявления муковисцидоза



# Больная с муковисцидозом



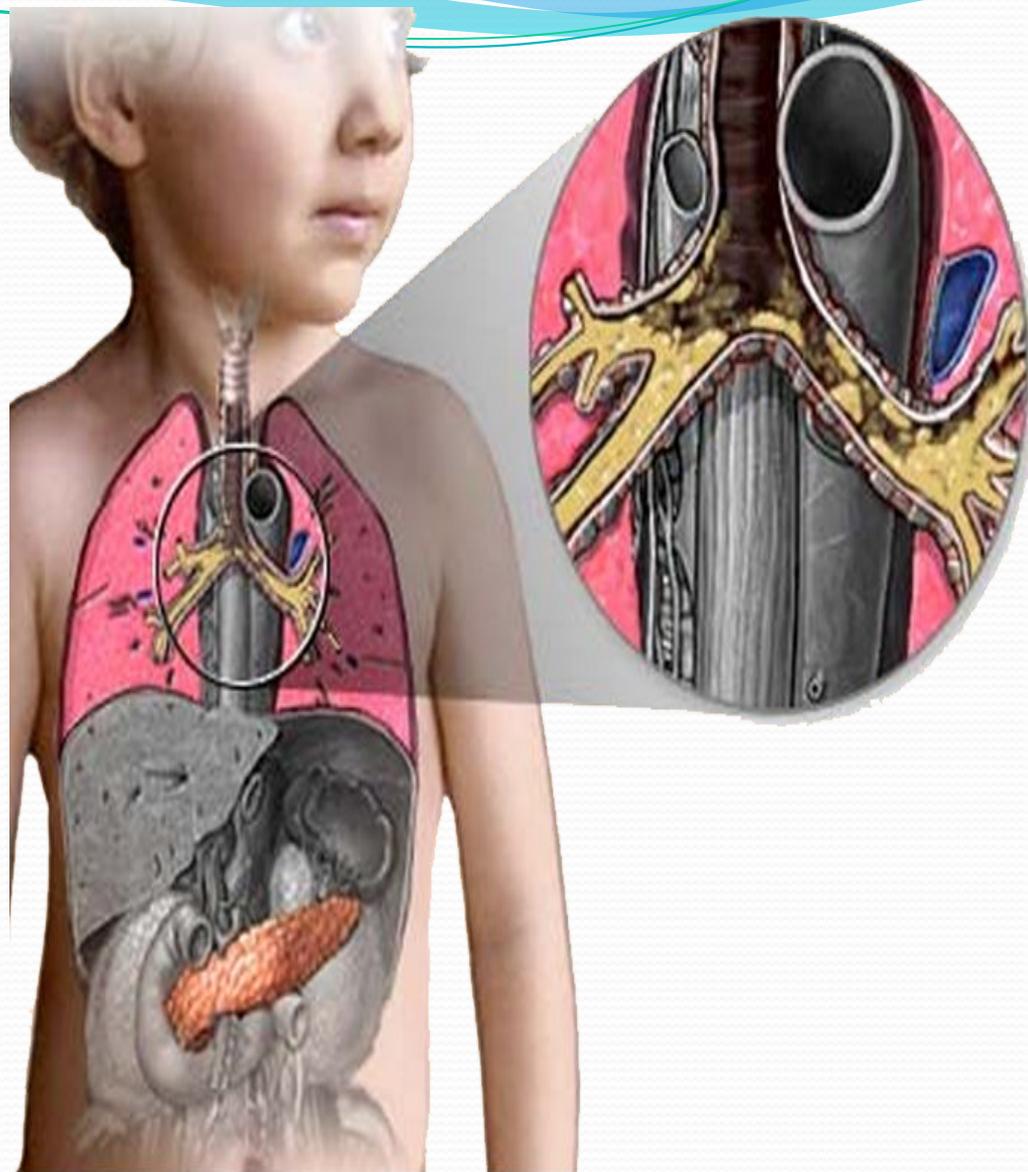
- **Лечение больных с МВ** начинается уже при обострении болезни, которое распознается клинически.

- **Прогноз МВ без лечения неблагоприятный, сейчас благодаря эффективной антибиотикотерапии, регулярному лаважу бронхолегочной системы, систематическому применению пищеварительных ферментов продолжительность жизни больных достигает в среднем 30 лет.**



- Генетика МВ изучена хорошо, ген МВ локализован на 7 хромосоме в регионе q31-32, его размер составляет 250 000 пар оснований, ген включает 27 экзонов. Молекулярно-генетическая диагностика МВ и носительства соответствующего гена возможна для большинства мутаций на основе ПЦР.

- Пренатальная диагностика МВ вошла в широкую практику в России (Москве, Санкт-Петербурге, Томске).



# Муковисцидоз

Самое распространённое среди известных наследственных заболеваний

## Что такое муковисцидоз (МВ)

**МВ** — неизлечимая болезнь, которую нельзя называть смертельной, так как при регулярной поддержке продолжительность жизни может быть высокой

**Причина** — дефект гена, отвечающего за транспорт ионов натрия и хлора через клеточную мембрану

**Поддержка больных** — это снятие симптомов, нормализация состояния для полноценной жизни

## Лечение и поддержка

Стоимость поддержки больного (тыс. руб. в месяц)



**60–100** ₺

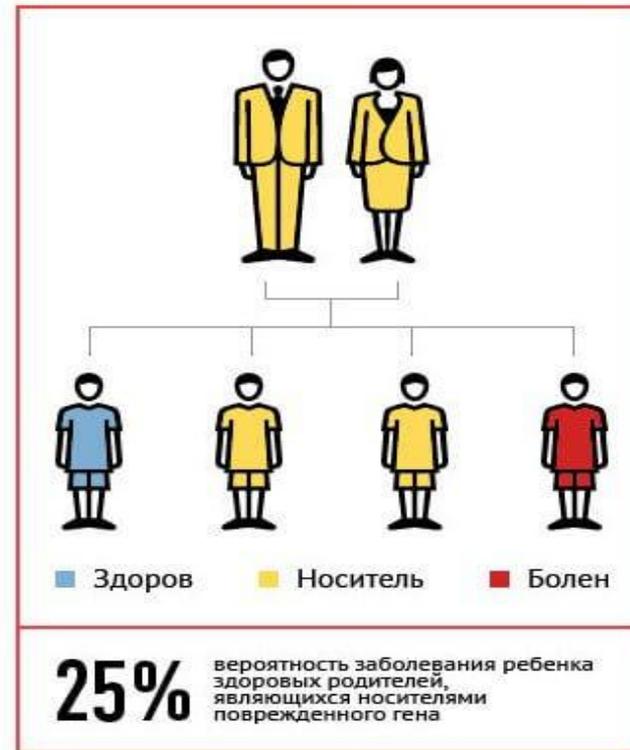


**120–150** ₺

## От чего зависит стоимость лечения

- Возраст больного (с возрастом к основному заболеванию добавляются осложнения)
- Регион проживания (нужных препаратов либо нет в наличии, либо выписывают их менее эффективные аналоги)
- Форма и течение основного заболевания

## Как передаётся МВ



## Благотворительные фонды

- «Помоги.орг»
- «Острова»
- «Созидание»
- «Предание»
- «Во имя жизни»
- «Тепло сердец» (программа «Кислород»)

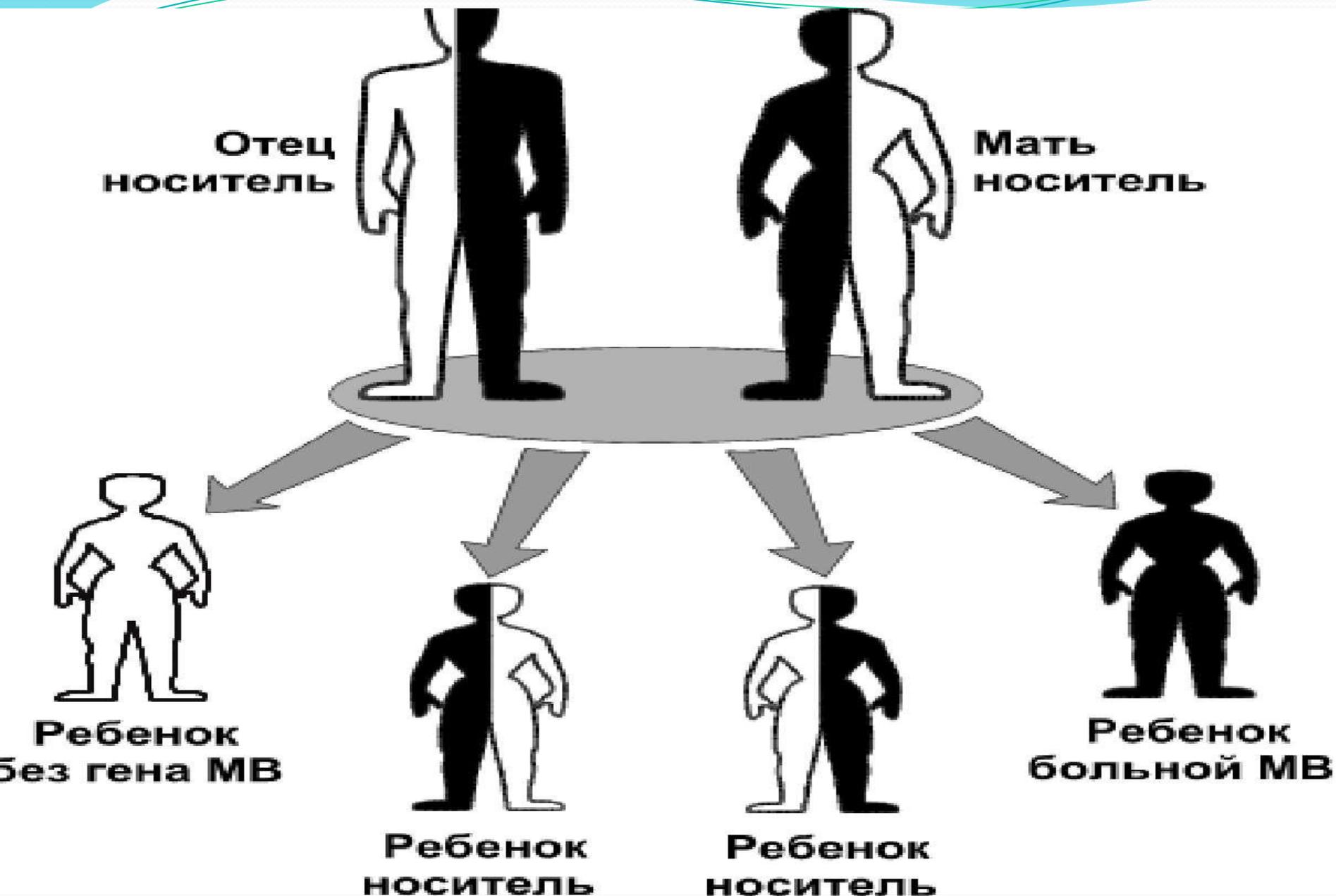
## Области поражения

- Во всех органах, которые выделяют слизь, скапливается густое, вязкое содержимое, его выведение затруднено
- При МВ различным заболеваниям может быть подвержено большинство органов
- МВ вызывает отставание в росте, нехватку витаминов А, D, E, К и др.

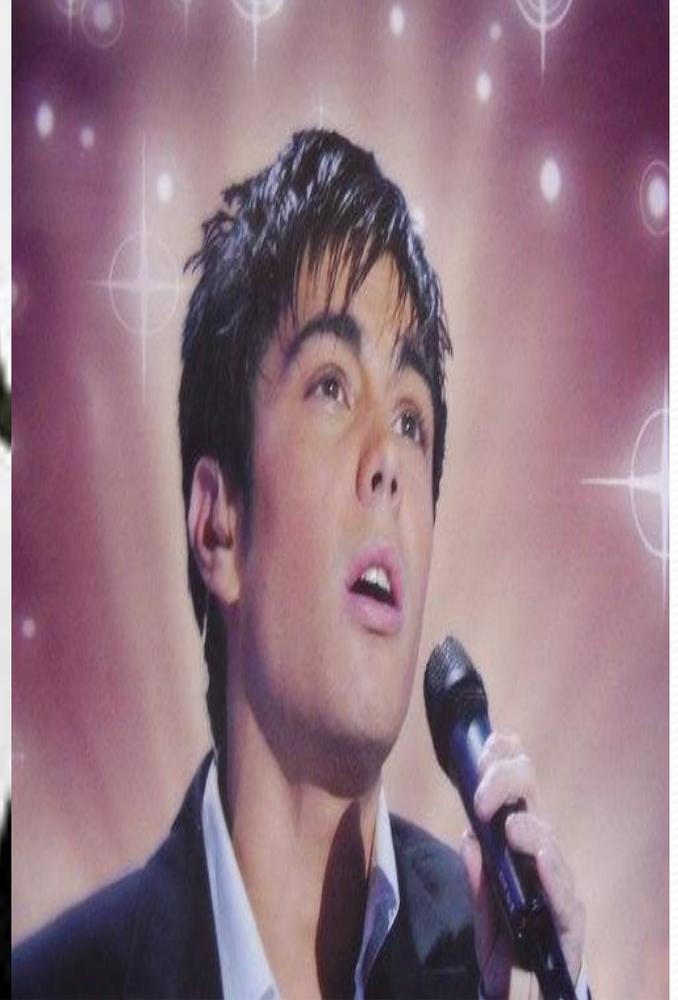
## Основные проблемы, с которыми сталкиваются больные

- Диагностика: региональные проблемы и снижение продолжительности жизни
- Лечебное питание, реабилитационное оборудование не всегда доступны
- Нет системы пред- и послеоперационной поддержки больных
- Нет достаточного опыта в трансплантологии при МВ
- Нет ресурса для ведения беременности пациентов, отсутствует поддержка их семей с детьми
- Отсутствие федерального центра для больных 18+
- Дорогостоящие препараты трудно получить бесплатно
- Проблема получения и снятия инвалидности для больных

# Муковцидоза



# МУКОВИСЦИДОЗОМ





***ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА  
НАСЛЕДСТВЕННЫХ И  
ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ  
РАЗВИТИЯ***



# *• Неинвазивные и инвазивные методы*

- скринирующие*
- диагностические*

# Скрининговые методы:

*Анализ сывороточных маркеров:*

*$\alpha$ -фетопротейна,  $\beta$ -цепей  
хорионического гонадотропина (ХГЧ),  
неконъюгированного эстриола (нЭ)*

*Массовое ультразвуковое  
обследование беременных*

- В 1972 году было установлено, что при беременности плодом с дефектом нервной трубки (анэнцефалия, открытая спинномозговая грыжа) в сыворотке крови женщин на 16-й неделе беременности обнаруживается повышенное содержание *α-фетопротеина*, белка, который вырабатывается печенью плода и проникает через плацентарный барьер в кровь матери.
- При дефектах нервной трубки у плода *α-фетопротеин* попадает из спинномозгового канала в амниотическую жидкость, а оттуда в кровь матери, что и является причиной его повышенного содержания в сыворотке крови беременной таким плодом.

содержания  $\alpha$ -фетопротеина в сыворотке крови беременных нормальным плодом (2,5 МоМ) и плодом с дефектом нервной трубки перекрываются.



● В результате тест на повышенное содержание  $\alpha$ -фетопротеина не является ни 100% чувствительным, ни 100% специфичным (уровень  $\alpha$ -фетопротеина может повышаться при близнецовых беременностях, после медицинских аборт, при дефектах передней брюшной стенки у плода), поэтому 2,5 кратное увеличение количества  $\alpha$ -фетопротеина в сыворотке крови беременной по сравнению со значением медианы для распределения содержания  $\alpha$ -фетопротеина в сыворотке крови женщин с аналогичным сроком беременности нормальным плодом (2,5 МоМ) является основанием отнести такую беременную в группу повышенного риска и рекомендовать для проведения других исследований, в частности, амниоцентеза.

● Содержание  $\alpha$ -фетопротейна меняется в сыворотке крови беременных не только при дефектах нервной трубки плода, но и тогда, когда у плода есть болезнь Дауна (снижение  $\alpha$ -фетопротейна у матери до 0,75 МоМ). Во многих странах мира принят тройной тест по синдрому Дауна: определение в сыворотке крови беременной на 15-19-й неделе беременности трех белков, имеющих плодное происхождение -  $\alpha$ -фетопротейна (АФП),  $\beta$ -цепей хорионического гонадотропина (ХГЧ) и неконъюгированного эстриола (нЭ).



- **ХГЧ и нЭ продуцируются тканями плода, их концентрация в сыворотке крови беременной меняется при наличии у плода болезни Дауна: этот показатель для нЭ снижается до 0,73 МоМ, а ХГЧ повышается в среднем до 2,05 МоМ.**
- **Эти гормоны не обладают высокой чувствительностью и специфичностью, однако суммарно эти три сывороточных фактора позволяют выявлять до 60% плодов с болезнью Дауна.**
- **Скрининг проводится во II триместре беременности, он получил название «тройной тест» или «биохимический скрининг на синдром Дауна».**
- **Для оценки концентрации всех трех сывороточных маркеров используют иммуноферментный анализ (ИФА).**

● В настоящее время некоторые лаборатории мира перешли на биохимический скрининг с целью выделения группы беременных с риском возникновения болезни Дауна у плода со II на I триместр беременности.

● При скрининге в I триместре беременности нередко включается ассоциированный с беременностью белок А плазмы крови (РАРР-А).

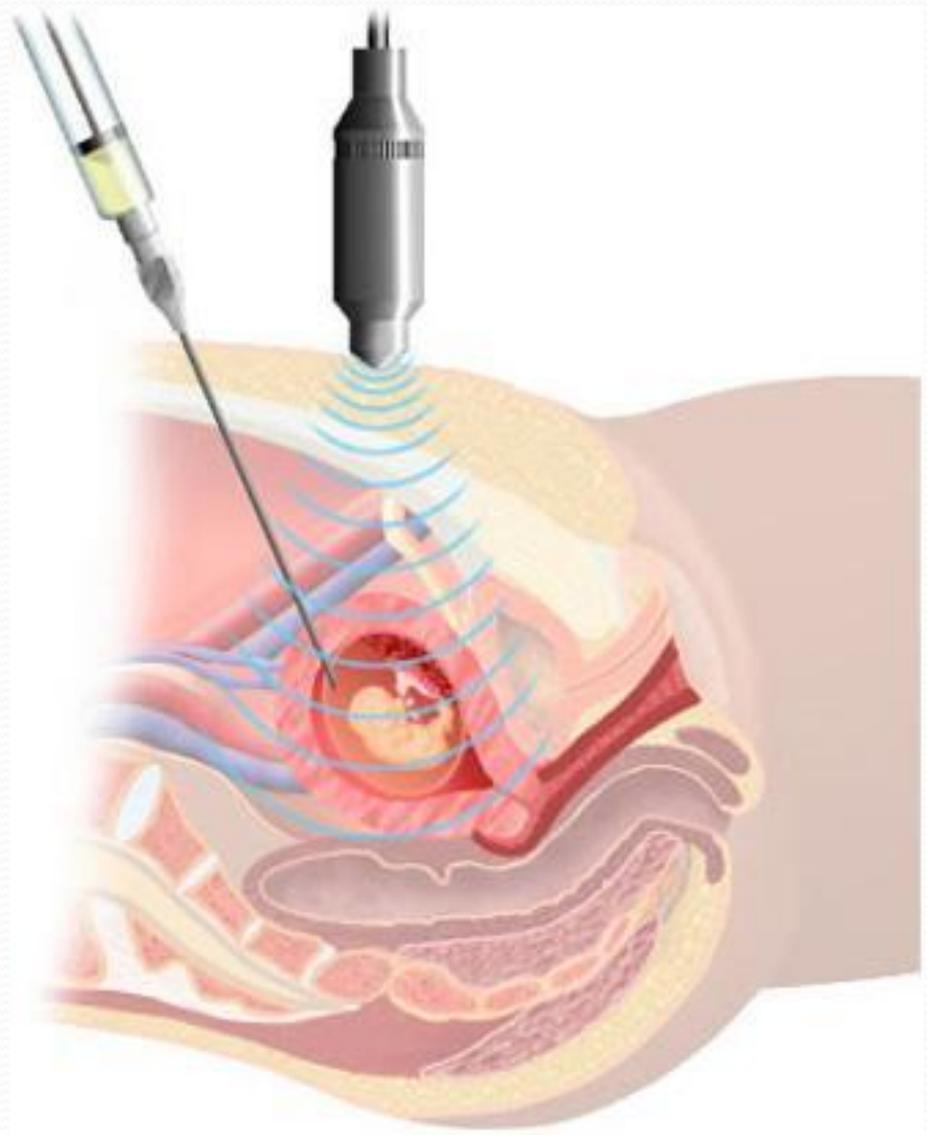
● При скрининге *на 10-й неделе* беременности этих 4-х сывороточных маркеров, выявляемость пораженных болезнью Дауна плодов достигает 77,4%.

- **Инструментальным скринирующим методом для обнаружения болезни Дауна, аутосомных трисомий, ВПР является ультразвуковое исследование (УЗИ).**
- **При УЗИ плода на 18-й неделе беременности факторами риска хромосомной патологии плода являются: изменения провизорных органов плода (плаценты), количества амниотической жидкости, различные пороки развития и аномалии самого плода (пороки сердца, характерные для трисомий 13, 18, 21, кистозная гигрома и водянка плода, характерные для этих же трисомий и синдрома Шерешевского-Тернера, атрезия дуоденум и стопа-качалка, типичная при трисомии 21, укорочение длинных трубчатых костей).**



- В 1 триместре беременности УЗ-маркером для диагностики болезни Дауна служит *увеличенная шейная складка (или воротниковое пространство)*, наличие которой позволяет заподозрить наличие болезни Дауна в 70% случаев.
- В комбинации с сывороточными маркерами для 1 триместра этот УЗ-признак характерен для более 90% плодов, пораженных болезнью Дауна.
- Все перечисленные признаки однозначно не диагностируют болезнь Дауна или другие хромосомные аберрации, а позволяет отнести беременную в группу повышенного риска, чтобы предложить семье диагностическую инвазивную процедуру.

# Ультразвуковое исследование



**Ультразвуковая диагностика** используется и для значительного числа врожденных пороков развития (ВПР):

**пороки развития нервной системы и лица (акrania и анэнцефалия),  
цефалоцеле (черепно-мозговая грыжа),  
аномалия Денди-Уокера (агенезия мозжечка, кистозное расширение IV желудочка и увеличение задней черепной ямки),  
микроцефалия,  
агенезия мозолистого тела,  
кисты сосудистого сплетения,  
голопрозэнцефалия (неполное разделение переднего мозга и порок средней линии лица),  
расщелина губы и неба.**

# Пороки развития нервной системы и лица (акrania и анэнцефалия)



# Расщелина губы и неба



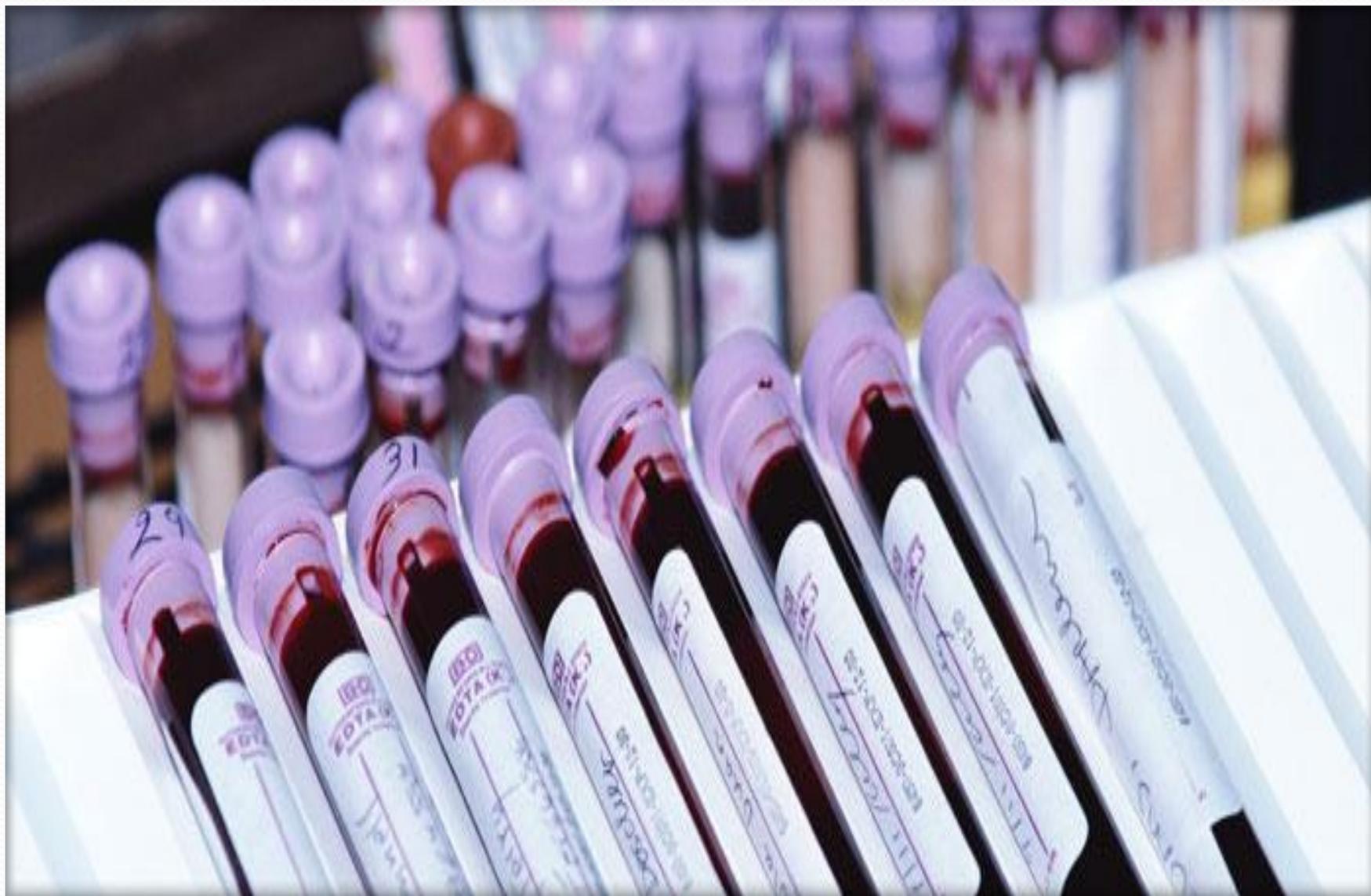
# УЗИ при синдроме Дауна



# Тесты на синдром Дауна



# Тесты на синдром Дауна



# **Диагностические методы:**

*амниоцентез или кордоцентез*

*биопсия ворсинок хориона*

*прицельное ультразвуковое исследование плода*



# *Ультразвуковое исследование плода*

Первое УЗИ – 12 недель

Второе УЗИ – 18 – 22 недели

Третье УЗИ – 33 – 34 недели



Первое УЗИ – 12 недель

Второе УЗИ – 18 – 22  
недели

Третье УЗИ – 33 – 34  
недели

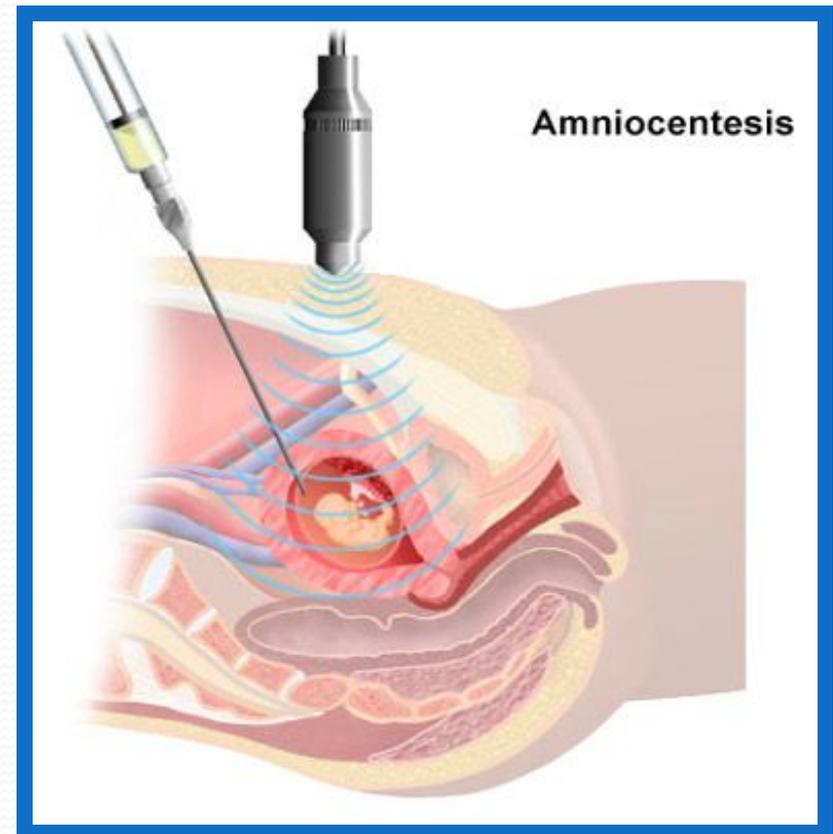
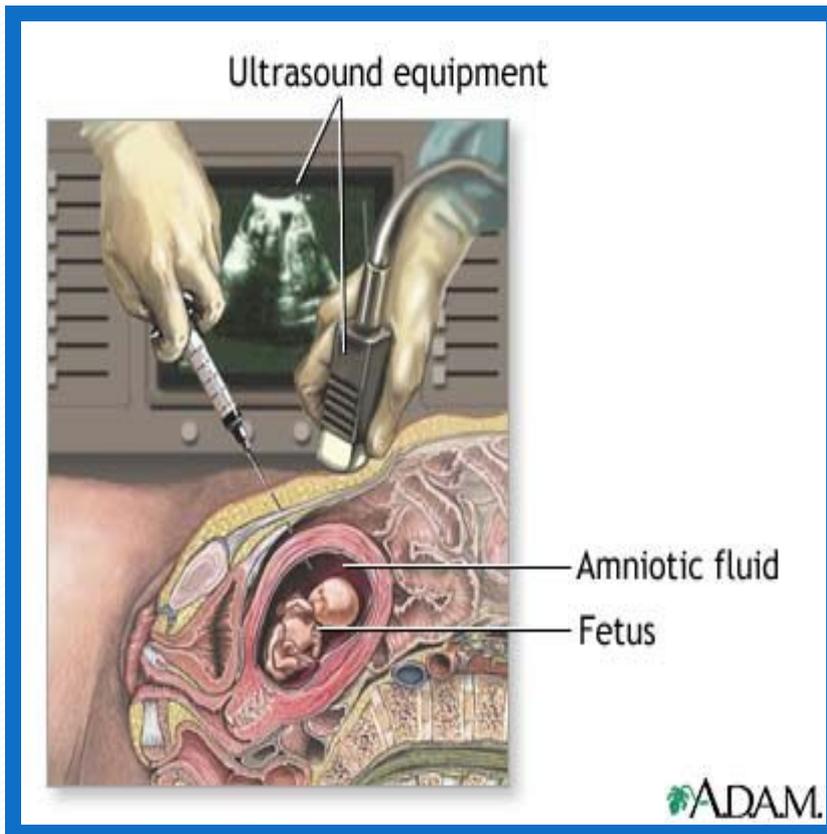
- **УЗИ органов грудной клетки** позволяет выявлять такие ВПР, как врожденная диафрагмальная грыжа, врожденный кистозно-адематозный порок развития легких и т.д.
- **УЗИ сердца:** многочисленные и разнообразные пороки развития сердца: гипоплазию левых отделов сердца, тетраду Фалло, транспозицию крупных сосудов, коарктацию и стеноз аорты.
- **УЗИ ж-кт:** атрезии (отсутствие) различных отделов ЖКТ, мекониевый перитонит.
- **УЗИ опорно-двигательного аппарата:** ахондроплазию, несовершенный остеогенез, косолапость, агенезию крестца и др.
- **УЗИ мочеполовой системы:** агенезию почек, инфантильную форму поликистоза почек, дилатацию различных отделов мочевыводящей системы.

- **Оптимальным для эффективного использования УЗИ в пренатальной диагностике врожденной и наследственной патологии является организация двухэтапного УЗ-скрининга:**
- ***на первом этапе* выявляются грубые пороки и аномалии развития провизорных органов плода при проведении УЗ—скрининга в родильных домах;**
- ***на втором* – прицельная диагностика ВПР в рамках МГК.**
- **Проведение второго этапа при МГК позволяет решить важный вопрос для семьи, каков повторный риск рождения детей с ВПР.**
- **Для этого нужно провести инвазивную пренатальную диагностику, а не просто прервать беременность.**

# Диагностические методы:

- **Амниоцентез**, или прокол плодного пузыря, с целью получения околоплодной жидкости и находящихся в ней слущенных клеток амниона и плода используется для пренатальной диагностики с начала 70-х годов.
- Эта процедура осуществляется на *15-18 - й неделе* беременности.
- Риск осложнений при амниоцентезе меньше, чем при хориобиопсии (0,2%).

**Амниоцентез делают через брюшину под контролем УЗИ, чтобы не повредить плаценту, из амниотической полости извлекают 8-10 мл жидкости.**



**Основным источником диагностического материала при амниоцентезе являются клетки, которые культивируют в течение 2-4 недель для выполнения классического цитогенетического анализа, и без культивирования – при помощи ПЦР.**



● **Кордоцентез** – взятие крови из пуповины, этот метод выполняют под контролем УЗИ, процедуру проводят в срок с 18-й по 22-ю неделю беременности. Образцы крови являются объектом для цитогенетических, молекулярно-генетических и биохимических методов диагностики наследственных болезней.



● **Кордоцентез** используют для диагностики хромосомных болезней, гематологических наследственных болезней (гемаглобинопатии, коагулопатии, тромбоцитопении), иммунодефицитов, гематологического статуса при резус-сенсibilизации, внутриутробных инфекций. Процедура успешна в 80-97% случаев. Лимфоциты культивируются 2-3 дня, быстрее и надежнее, чем амниоциты.

## ● **Хорион- и плацентобиопсия**

**применяется для получения небольших кусочков ворсин хориона или кусочков плаценты в период с 7-й по 16-ю неделю беременности. Вначале данный метод предполагалось использовать в пренатальной диагностике в 1-м триместре беременности, процедура осуществляется трансабдоминально или трансцервикально под контролем УЗИ.**

- **Метод требует большого опыта акушера.**  
Осложнения наблюдаются у 2,5-10% женщин (кровотечение, маточная инфекция или сильное сокращение матки), одним из осложнений является спонтанный аборт (выкидыш).
- **Общие потери плода составляют 2,5-3%.**
- **Может наблюдаться осложнение в виде врожденных ампутаций конечностей, так называемых редуцированных пороков.**
- **В связи с этим с 1982 года хорионбиопсию рекомендуется проводить после 8-й недели беременности, после 11-й недели – плацентобиопсию.**

# Хорион- и плацентобиопсия

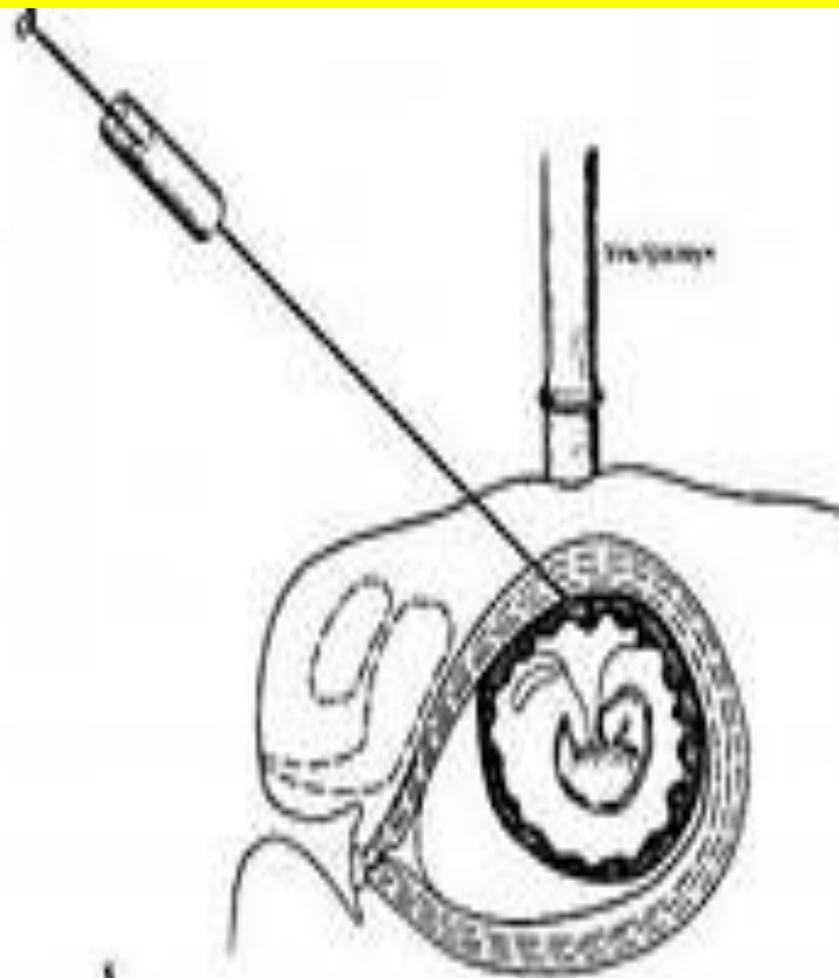
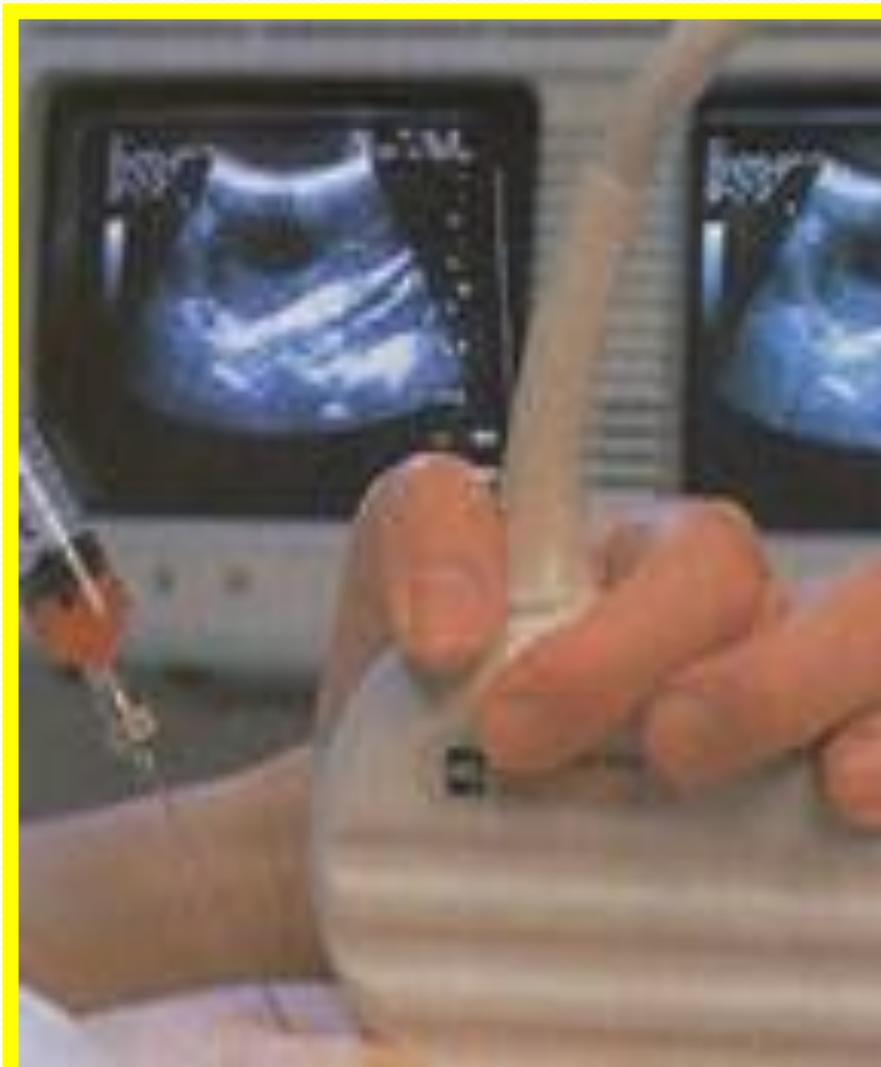


Рис. 107. Предкабриональная корио- или плацентобиопсия.



- **Образцы хориона (ворсины) подлежат лабораторной (цитогенетической, молекулярно-генетической, биохимической) диагностике наследственных болезней.**

- При аспирации ворсин хориона в материал могут попадать клетки слизистой оболочки матки, что приводит к диагностическим ошибкам: в 4% случаев - ложноположительные результаты,
- в 1,5% - хромосомный полиморфизм, который является мозаицизмом хориона, а не эмбриона, а иногда - ложноотрицательные.
- Точность анализов во многом зависит от квалификации врача-генетика.