

**ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

Кафедра клинической лабораторной диагностики

**ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА
ВРОЖДЁННЫХ ПОРОКОВ
РАЗВИТИЯ И
НАСЛЕДСТВЕННЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**кандидат медицинских наук, доцент
Беленький Сергей Андреевич**

ЗАПОРОЖЬЕ 2016

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА –

это область медицины, которая занимается дородовым выявлением

различных патологических

состояний плода, в том числе

диагностикой

наследственных заболеваний

(НЗ) и

врожденных пороков развития

(ВПР).

Наследственные болезни –

это болезни, причиной которых являются те или иные изменения генетического материала – **мутации:**

– ***гаметические (генеративные)*** – мутации в половых клетках, которые наследуются;

– ***соматические*** – мутации в неполовых клетках, не передающиеся следующим поколениям индивида.

Виды мутаций:

1. Генные («точковые») мутации – представляют собой молекулярные изменения структуры генов ДНК (замена нуклеотидов в триплетах), независимо от их локализации и влияния на жизнеспособность.

Различают:

синонимические мутации
радикальные мутации
образование нонсенс-кодонов
делеции и инсерции (вставки)
сдвиг рамки считывания

Виды мутаций:

2. Внутрихромосомные

(делеции, инверсии, дупликации) и

межхромосомные (реципрокные и
нереципрокные транслокации) **мутации.**

3. Геномные мутации:

– **анеуплоидия** – уменьшение (моносомия) или увеличение (трисомия) числа хромосом в диплоидном наборе, не кратное гаплоидному ($2n+1$, $2n-1$ и т.д.)

– **полиплоидия** – увеличение числа хромосом, кратное гаплоидному ($3n$, $4n$, $5n$)

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ БОЛЕЗНИ:

Хромосомные болезни

Трисомия 21 (синдром Дауна)	1 : 700
Трисомия 18 (синдром Эдвардса)	1 : 7000
Трисомия 13 (синдром Патау)	1 : 8000

Генные болезни

Муковисцидоз	1 : 2000
Фенилкетонурия	1 : 3000
Адреногенитальный синдром	1 : 5000
Врожденный гипотиреоз	1 : 10 000
Гемофилия А	1 : 20 000
Несовершенный остеогенез	1 : 50 000

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

позволяет обнаружить у плода:

более 98 % трисомии 21

(синдром Дауна);

около 99,9 % трисомии 18

(синдром Эдвардса);

около 99.9% трисомии 13

(синдром Патау);

около 50 % нарушений развития

сердца и др.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

**включает медико-генетическое
консультирование,**

неинвазивные (УЗИ, *изучение*

***биохимических маркеров сыворотки
крови матери*) и инвазивные**

методы обследования, а также

преимплантационную

диагностику при экстракорпо-

ральном оплодотворении.

Цель медико-генетической консультации –

установление степени генетического риска в обследуемой семье и разъяснение супругам результатов.

Генетический риск – это вероятность появления в потомстве наследственной патологии.

Различают:

низкую степень риска – до **5%**

среднюю степень – до **10%**

повышенную степень – до **20%**

высокую степень – больше **20%**

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

В последние годы существенное развитие получили так называемые **ассистирующие репродуктивные технологии (АРТ)**.

При их применении **риск врожденных пороков развития плода по сравнению со спонтанной беременностью достоверно повышается на 30-40%!**

Факторы, повышающие риск:

1. Причины бесплодия:

- хронические очаги инфекций,
- образование неполноценных половых клеток на фоне эндокринных нарушений
- наличие генетической или наследственной патологии у супружеской пары.

2. Средний возраст на момент наступления беременности при АРТ старше 34 лет.

3. Особенности самой процедуры АРТ: отсроченное оплодотворение, криоконсервирование и размораживание эмбрионов, их перенос и редукция.

Предимплантационная пренатальная генетическая диагностика

эмбриона, развившегося в
результате искусственного
оплодотворения (при числе клеток
около 10!), определяет наличие
маркеров около 6000
наследственных заболеваний,
после чего решается вопрос о
целесообразности имплантации.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

включает два этапа:

1. выявление женщин (семей) с повышенным риском неблагоприятного, в генетическом плане, результата беременности при медико-генетическом консультировании или первичном обследовании всех беременных, в т.ч. использование скрининг методов;
2. собственно пренатальная диагностика женщин с факторами риска.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

использует **ультразвуковую диагностику** (и другие виды аппаратной диагностики), **оперативную** (инвазивную) **технику** и **лабораторные методы** (цитогенетические, биохимические, молекулярно-генетические).

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

Показания к использованию

инвазивных методов диагностики:

- эхопризнаки хромосомной патологии плода
- изменения уровней биохимических маркеров в сыворотке крови беременной
- рассчитанный программой высокий риск рождения ребенка с хромосомной патологией (> 1 на 250).

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

Инвазивные методы пренатальной диагностики позволяют диагностировать все формы хромосомной патологии плода, определить его пол, а также провести молекулярную диагностику ряда распространенных наследственных болезней (*гемофилия, фенилкетонурия, муковисцидоз, миодистрофия Дюшена* и др.).

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

Инвазивные методы позволяют провести цитогенетическое исследование тканей плодового происхождения:

***биопсия хориона (8-12 нед),
амниоцентез (13-14 нед., 16-22 нед.),
кордоцентез (с 22 нед),
плацентоцентез (II триместр),
биопсия тканей плода (II триместр).***

Выбор метода зависит от срока беременности и технических возможностей лаборатории.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

как комплекс пренатально-диагностических мероприятий кардинально решает проблему снижения наследственных и врожденных болезней в популяции, и, как следствие этого – изменяет показатели перинатальной патологии, младенческой заболеваемости, смертности и детской инвалидности.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

имеет исключительно важное значение при медико-генетическом консультировании, позволяя перейти от вероятного к однозначному прогнозированию здоровья ребенка в семьях с генетическими осложнениями. Сегодня возможна диагностика всех хромосомных синдромов и около 100 наследственных болезней с достоверно установленным биохимическим дефектом.

ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

1. Возраст матери 35 лет и >;
2. Наличие в семье предыдущего ребенка с хромосомной патологией;
3. Перестройки родительских хромосом;
4. Наличие у семьи заболеваний, наследуемых сцеплено с полом;
5. Синдром фрагильной X-хромосомы.

ПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

6. Гемоглобинопатии;

7. Врожденные ошибки метаболизма.

8. Различные наследственные заболевания, диагностируемые методом сцепления с ДНК-маркерами;

9. Дефекты нервной трубки.

10. Другие показания для цитогенетической диагностики.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

осуществляется в I и II триместрах беременности, то есть в периоды, когда (*в случае выявления патологии!*) еще можно прервать беременность.

Вопрос о прерывании беременности должен ставиться только после оценки следующих критериев:

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

1. Болезнь должна быть достаточно тяжелой, чтобы было оправдано прерывание беременности;
2. Лечение болезни плода невозможно и неудовлетворительно;
3. Существует точный тест для постановки пренатального диагноза;

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

4. Достаточно высокий генетический риск неблагоприятного исхода беременности;

5. Семья, которая консультируется, должна быть согласна на прерывание беременности.

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

При организации и развитии системы должны выполняться следующие условия:

1. Диагностические процедуры должны быть безопасными для здоровья матери и плода;
2. Частота осложнений беременности после диагностики не должна заметно повышаться (вероятность потери плода сразу или в отдаленный период после ее проведения);

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

3. Врачи, владеющие техникой пренатальной диагностики, должны знать вероятность постановки псевдоположительных или ложноотрицательных диагнозов (*ограничения метода*);

4. Специалисты пренатальной диагностики (*гинеколог, врач-генетик, врач-лаборант*) должны знать диагностические ограничения метода в собственной лаборатории;

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

5. Группа специалистов должна строго придерживаться стандартов проведения процедур и анализов, осуществлять текущий контроль качества работы, а также иметь статистику завершения беременностей и разногласий диагнозов (контроль после абортов или после рождения).

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

Пренатальный скрининг материнских сывороточных факторов

**(наилучший срок для анализа –
15-20 недель беременности):**

- хорионический гонадотропин;**
- плазменный протеин, связан-
ный с беременностью (РАРР-А);**
- альфа-фетопротеин;**
- неконъюгированный эстриол.**

Хорионический гонадотропин –

это гликопротеин, продуцируемый синцитиотрофобластом. Он поддерживает активность желтого тела с 8 дня овуляции и является основным гормоном ранней беременности.

Белок определяется в крови с 10-12 дня беременности и постепенно повышается до конца первого триместра.

Хорионический гонадотропин
состоит из α - и β -субъединиц.
 α -субъединица идентична
соответствующей в
лютеинизирующем,
фолликулостимулирующем и
тиреотропном гормонах.
Как правило, в сыворотке
определяется β -субъединица
(бета-ХГЧ).

Высокочувствительные методики
(например,
иммунохемилюминисцентная)
позволяют определять очень
низкие концентрации ХГЧ ($< 5\text{IU/L}$)
с отсутствием перекрестных
реакций с вышеназванными
гормонами.

Плазменный протеин, связанный с беременностью (PAPP-A – pregnancy associated plasma protein) – это гликопротеин с большой Мм, вырабатываемый синцитиотрофобластом и появляющийся в крови матери с 5 недели беременности. Во II триместре основными источниками PAPP-A являются плацента и децидуальная ткань.

В норме с увеличением срока беременности его концентрация постоянно повышается, а при различных патологических состояниях (неразвивающиеся беременности, патология хромосом) существенно уменьшается.

Изменения его уровней (как в норме, так и при патологии) более характерны для I триместра, чем для поздних сроков.

В настоящее время PAPP-A является одним из самых изучаемых биохимических маркеров, которому придается большое значение при организации пренатального скрининга в ранние сроки беременности.

альфа-фетопротеин – это белок, синтезируемый эмбриональной печенью и желточным мешком со второго триместра. Он выделяется в амниотическую жидкость с мочой, затем всасывается через плодные оболочки в кровь беременной. После рождения АФП быстро снижается в течение 1-го года и остается на низких уровнях на протяжении всей жизни.

Неконъюгированный эстриол – основной эстроген, продуцируемый зародышем. Его предшественник (дегидроэпиандростерона сульфат) синтезируется в надпочечниках плода, затем в печени превращается в 16- α -гидрокси-дегидроэпиандростерона сульфат и в плаценте в результате ряда конвертаций – в эстриол.

Производство неконъюгированного эстриола ведет к прогрессирующему повышению материнского уровня гормона. Составляя только 9% от всех форм эстриола в материнской сыворотке, он наиболее близко отражает фетоплацентарное производство. Метаболизируется НЭ с периодом полураспада около 20 минут, подвергаясь в печени конъюгации с образованием сульфатов и глюкуронидов.

Оптимальными маркерами в первом триместре беременности являются

бета-ХГЧ и **РАРР-А**

Комплексная оценка этих показателей – наилучший из найденных к настоящему времени критерий синдрома Дауна между 9-14 неделями (уровень АФП достоверно ниже, чем в норме, а уровень бета-ХГЧ выше нормы).

Измерение в материнской сыворотке бета-ХГЧ вместе с АФП и НЭ представляет собой **тройной тест**

и является высокоэффективным методом скрининга ряда хромосомных aberrаций (синдром Дауна, трисомия 18) во втором триместре (уровень АФП и НЭ достоверно ниже, чем в норме, а уровень бета-ХГЧ выше нормы).

Соответствие полученного результата и медианы, определенной для конкретного срока беременности, дает коэффициент отклонения от медианы – **MoM** (the Multiple of the Median).

Анализ MoM для PAPP-A, бета-ХГЧ, АФП и НЭ, данных о гестационном возрасте (УЗИ), возрасте, весе и расе матери, хромосомных аномалиях и соматических заболеваниях беременной определяет уровень материнского риска.

Протеин S100 - это белок с низкой Мм, который присутствует во многих тканях организма.

Генетический код этого белка зарегистрирован в длинном плече 21-й хромосомы, которая отвечает за фенотипические проявления синдрома Дауна (при этом концентрация S100 в крови плода резко возрастает).

Исследования последних лет доказали, что статистически достоверной разницы в количестве S100 в крови матери при здоровом плоде и плоде с СД не существует.

Сделано предположение, что S100 не проходит плацентарный барьер и поэтому кровь матери не может быть использована в качестве маркера СД.

Диагностика дефицита

C₂₁-гидроксилазы

(наиболее часто встречающийся ферментативный дефект стероидогенеза; >90%)

Фермент гладкой ЭПС – P450_{C21}

Участвует в синтезе минерало-
и глюкокортикоидов
(стероидов C21)

Высокая степень гомологии гена и псевдогена, находящихся в непосредственной близости, способствует нереципрокному спариванию и неравному кроссинговеру между сестринскими хроматидами в мейозе, что приводит к **генной конверсии** (*перемещению участка активного гена на псевдоген*) или **делеции**.

Типы мутаций в гене CYP21A2:

- ◆ **делеции** – около 40%
- ◆ **генная конверсия** – 20%
- ◆ **точковые мутации** – 25%.

Мутации в гене СУР 21А2 и формы ВДКН

Замены АК, локализация	Замены нуклеотидов, локализация	Форма ВДКН
Gln 318 Stop	локус 1996	сольтеряющая
Ile 172 Asn	локус 1100	вирильная
Val 281 Leu	локус 1685	неклассическая
Pro 30 Leu	локус 89	неклассическая
Pro 453 Ser	локус 2580	неклассическая

Неонатальный скрининг дефицита P450_c21

Определение 17-гидроксиprogестерона из пятна крови на фильтровальной бумаге

Цель:

- Доклиническое выявление дефицита 21-гидроксилазы
- Предупреждение сольтеряющего криза
- Выявление случаев ложного женского гермафродитизма

**ВЕРИФИКАЦИЯ В ТЕЧЕНИЕ ПЕРВЫХ 2 НЕД
ЖИЗНИ!!!**

Мультистероидный анализ

Гормон	Содержание	Норма	
21-Дезоксикортизол	10,4	1,1-5,0	нмоль/л
11- Дезоксикортизол	5,01	1-7,9	нмоль/л
17-ОН-Прегненолон	46,65	0-10.5	нмоль/л
17-ОН-Прогестерон	39,3	0.27-9.08	нмоль/л
Андростендион	4,36	0.5-3.2	нмоль/л
Кортизол	144	150-650	нмоль/л
Кортикостерон	54	3.8-66.5	нмоль/л
Прогестерон	2,07	0-3.0	нмоль/л
Тестостерон	0,96	0.2-1.0	нмоль/л

Диагностика недостаточности С21-гидроксилазы

(проба с синактеном – $^{1-24}$ АКТГ)

Содержание 17-гидроксипрогестерона
через 60 мин после введения в норме
не превышает 1 мкг%.

У больных с классической формой
ВДКН концентрация 17-
гидроксипрогестерона резко
увеличивается (выше **25-50 мкг%**) на
фоне незначительного повышения
концентрации свободного кортизола.

Диагностика недостаточности С21-гидроксилазы

(проба с синактеном – $^{1-24}$ АКТГ)

У больных с неклассической или поздней формой синдрома ВДКН концентрация 17-гидроксипрогестерона в крови после стимуляции, как правило, не превышает **15 мкг%**.
Диагностическую ценность имеет соотношение концентраций 17-гидроксипрогестерона к ДОКС – при дефиците 21-гидроксилазы всегда **>12!**

ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ

- 1. ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ**
- 2. СТРУКТУРНАЯ**
- 3. ЗАЩИТНАЯ**
- 4. БИОСИНТЕТИЧЕСКАЯ**
- 5. РЕГУЛЯТОРНАЯ**
- 6. КОМУНИКАТИВНАЯ**
- 7. ГОМЕОСТАТИЧЕСКАЯ**

АЛАКТАЗИЯ (ГИПОЛАКТАЗИЯ)

**Распространенность лактазной
недостаточности у взрослых:**

Швеция, Дания – 3%;

Финляндия, Швейцария, Россия,
Украина – 16%; Англия – 30%;

Франция, Италия, Греция – 40%;

страны Юго-Восточной Азии и
афро-американцы – >80% (!)

КЛАССИФИКАЦИЯ ЛАКТАЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

2. Вторичная – снижение активности лактазы, связанное с повреждением энтероцита:

- кишечные инфекции**
- воспалительные процессы и атрофические изменения в кишечнике**

КЛИНИКА АЛАКТАЗИИ (ГИПОЛАКТАЗИИ)

– осмотическая диарея после приёма содержащих лактозу продуктов (частый, жидкий, пенный стул с кислым запахом), дегидратация

– боли в животе, метеоризм, беспокойство ребенка после приема молока

дисбиотические изменения

ГАЛАКТОЗЕМИЯ

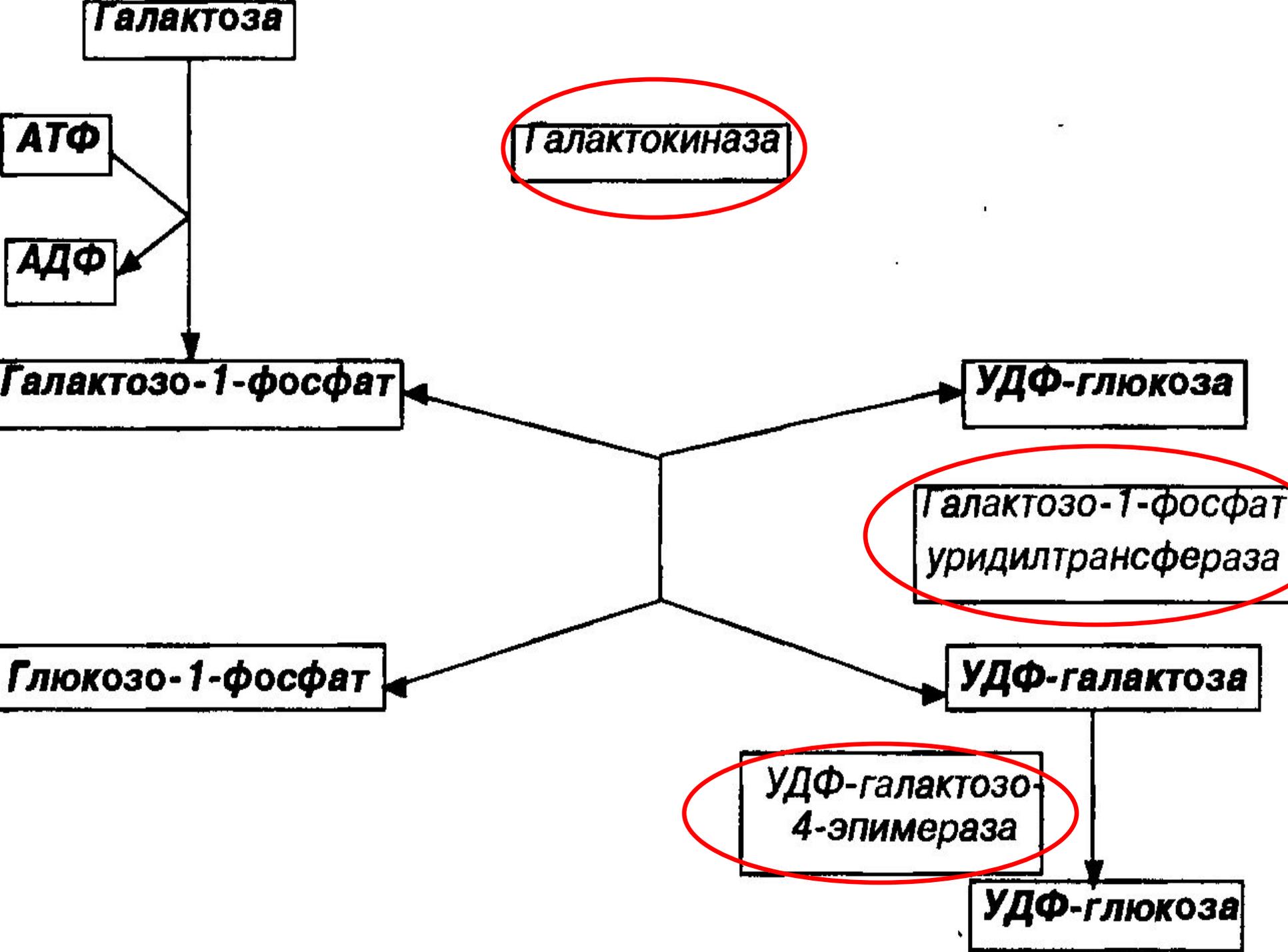
ПРИЧИНЫ:

1. генетический дефект
галактозо-1-фосфат-
уридилтрансферазы

2. генетический дефект
галактокиназы

3. генетический дефект
уридин-дифосфо-

тазы-4-эпимеразы



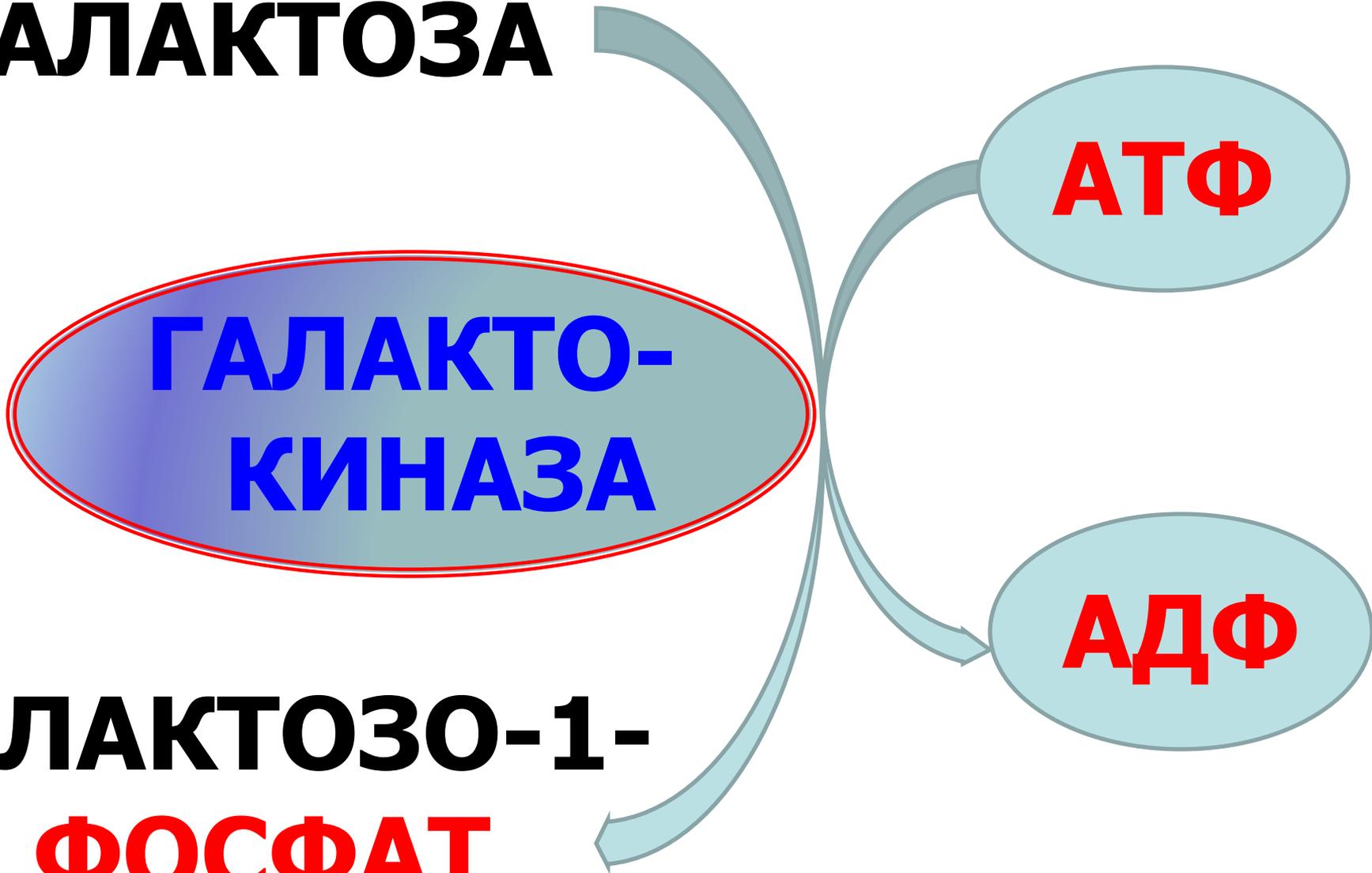
ГАЛАКТОЗА

**ГАЛАКТО-
КИНАЗА**

АТФ

АДФ

**ГАЛАКТОЗО-1-
ФОСФАТ**



**ГАЛАКТОЗО-1-
ФОСФАТ**



**ГАЛАКТОЗО-1
-ФОСФАТ-
УРИДИЛ-
ТРАНСФЕРАЗА**

**удф –
глюкоза**

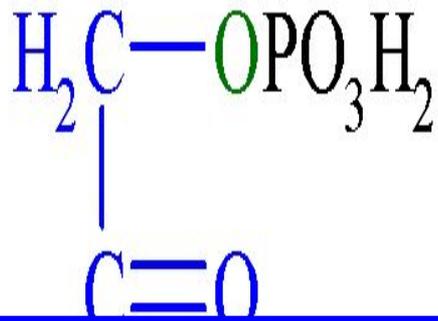
**ГЛЮКОЗО-1-
ФОСФАТ**

**удф –
галактоза**

СИМПТОМЫ ГАЛАКТОЗЕМИИ

Нарушение усвоения пищи, диарея, рвота, развивающиеся вскоре после рождения.

Гепатомегалия, желтуха, асцит; нарушение почечной канальце-вой функции (глюкозурия и аминокацидурия).



ПРИЧИНЫ:

- 1. генетический дефект
фруктозо-1-фосфат-
альдолазы**
- 2. снижение активности
фруктозо-1,6-дифосфат-
альдолазы**

**ФРУКТОЗО-1,6-
ДИФОСФАТ**

**ФРУКТОЗО-1,6-
ДИФОСФАТ-
АЛЬДОЛАЗА**

ДИГИДРОКСИ

**АЦЕТОН-3-
ФОСФАТ**

**ГЛИЦЕРАЛЬ-3-
ФОСФАТ**

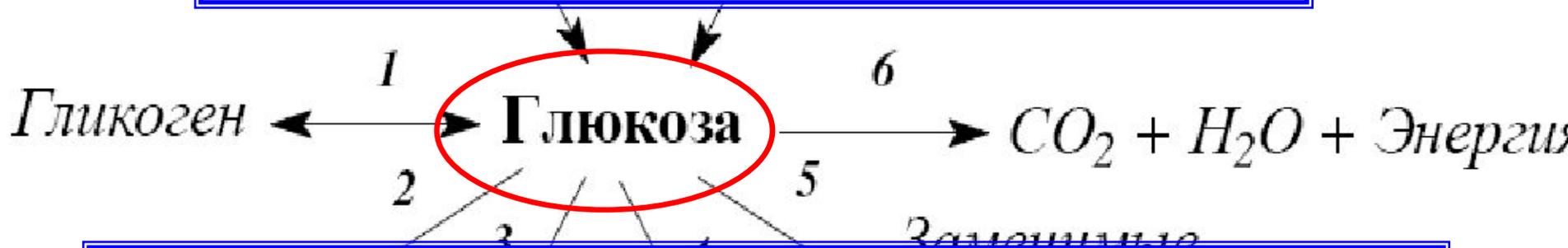
СИМПТОМЫ ФРУКТОЗЕМИИ

**Анорексия, рвота (*после введения прикорма*), гипотрофия;
Гепатомегалия, желтуха;
Аминоацидурия, мелитурия;
альбуминурия, гипогликемия.**

У старших детей гипогликемические состояния (!):

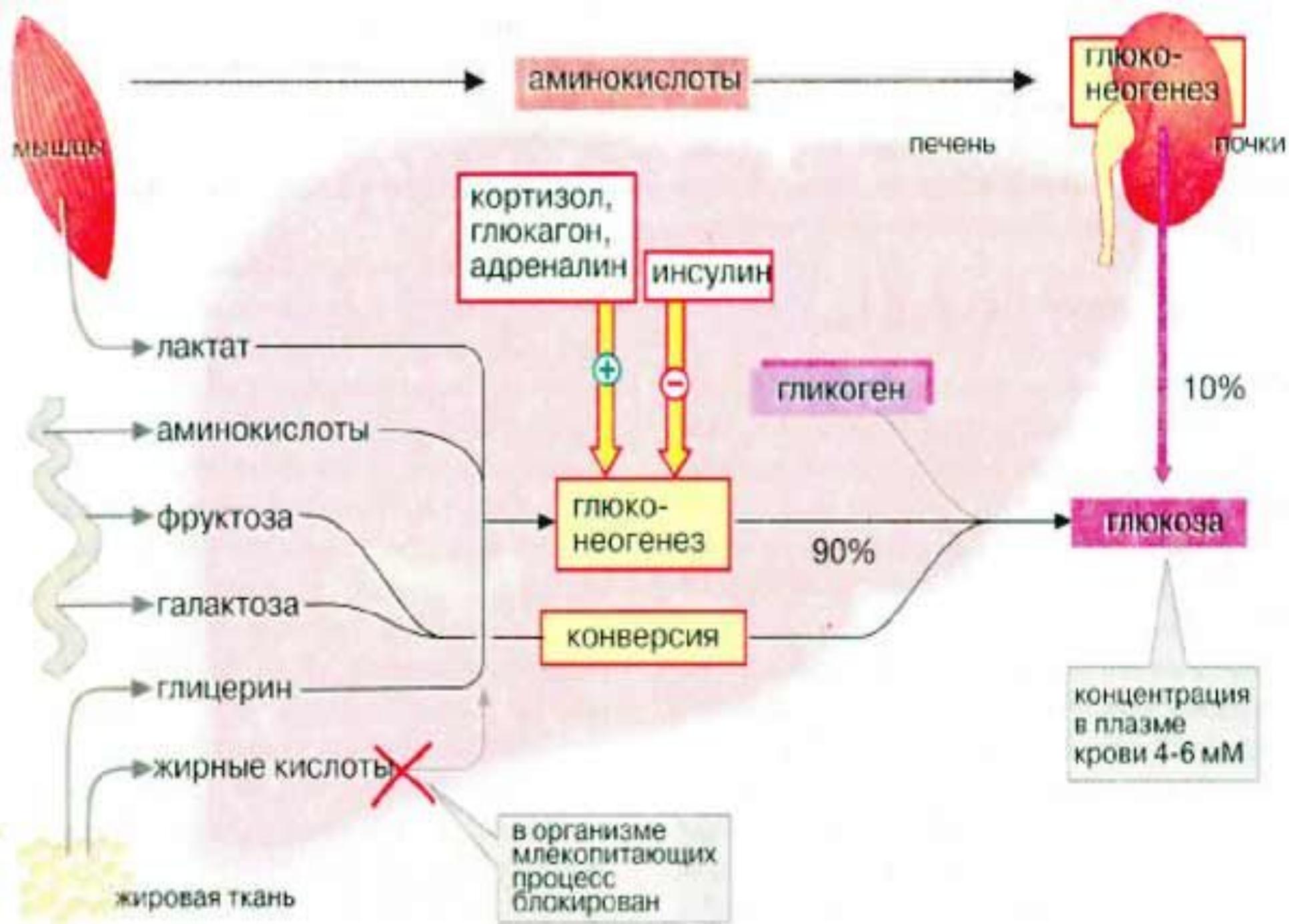
резкая бледность кожи, вялость, потливость, гипотония,

**3,5 – 5,7 ммоль/л
(70 – 100 мг/дл)**



**более 6,2 ммоль/л -
гипергликемия**

**менее 3,3 ммоль/л -
гипогликемия**





СПЕКТР ДЕЙСТВИЯ ГЛЮКАГОНА

Ингибирует все эффекты
инсу-лина

Ускоряет:

протеолиз, гликогенолиз,
глю-конеогенез

Тормозит синтез белка
(про-дукты распада белков
исполь-зуются в
глюконеогенезе)

При более длительном голодании активируется
ГИПОФИЗАРНО-ГИПОТАЛАМО-НАДПОЧЕЧНИКОВАЯ СИСТЕМА

соматотропный гормон,
кортикостероиды
адреналин

Ускоряется:

липолиз (β -окисление
жирных кислот); жиры –
основной субстрат

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ

Гипергликемия
Избыток супероксид-
радикалов
Окислительная
активация
полимеразы
полиаденозин-

Глюкоза

Глю-6-ф

Фру-6-ф

ГлцАлд-3-ф

PARP



GAPDH

ПОЛИОЛ

ГЕКСОЗАМИН

ПКЦ-Nfkb

КПГ

1,3-Дифосфоглицерат



МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ

ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ

(глюкозооксидазный метод)

РЕДУКТОМЕТРИЧЕСКИЕ

(восстановление
металлов)

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЕ

(окрашенные продукты)

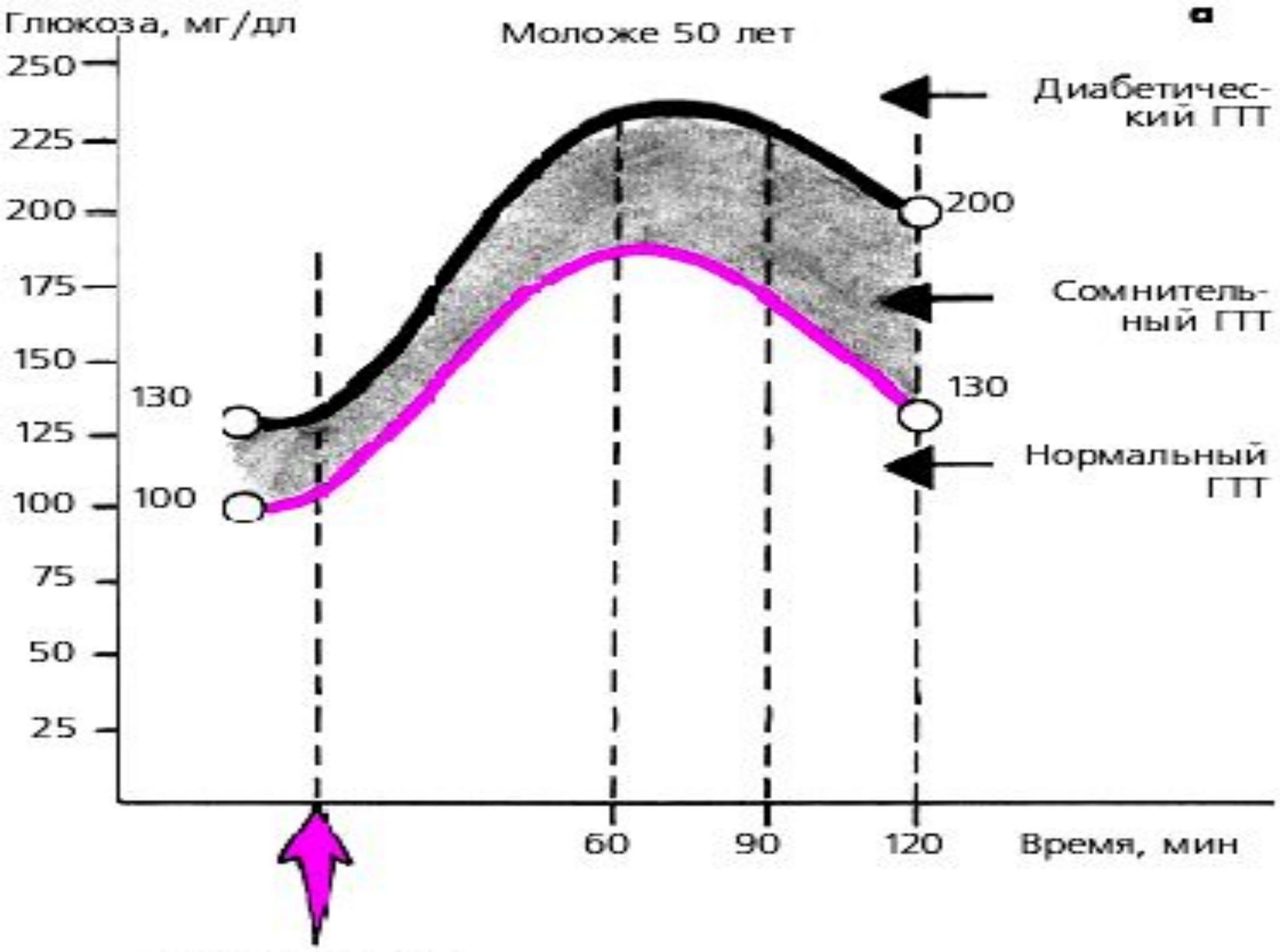
ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНЫЕ ТЕСТЫ

пероральный

(трехдневная диета – по 150 г глюкозы/сут; 75 г глюкозы в стакане теплого чая)

внутривенный

(трехдневная диета – по 150 г глюкозы/сут; 25%



Сахарный диабет достоверен

при уровне глюкозы:

натощак –

более 7,2 ммоль/л

и через 2 часа после

нагрузки –

более 11 ммоль/л

**НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА
ПОЛИСАХАРИДОВ
(БОЛЕЗНИ НАКОПЛЕНИЯ)**

**ГЛИКОГЕНОЗЫ
МУКОПОЛИСАХАРИДОЗ
Ы
ГЛИКОЛИПИДОЗЫ
ГЛИКОПРОТЕИНОЗЫ**

Болезнь ПОМПЕ

(НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

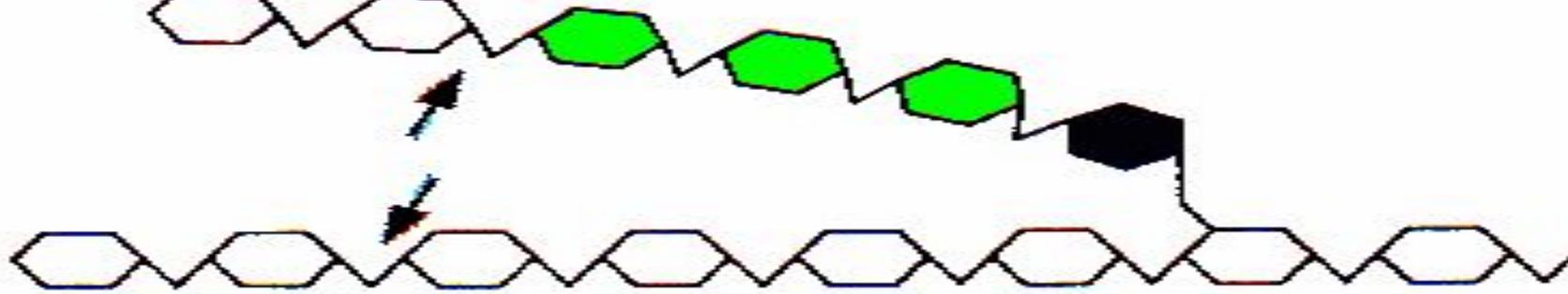
альфа-1,4-ГЛЮКОЗИДАЗЫ)

Болезнь ФОРБСА-КОРИ

(НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

АМИЛО-1,6-ГЛЮКОЗИДАЗЫ

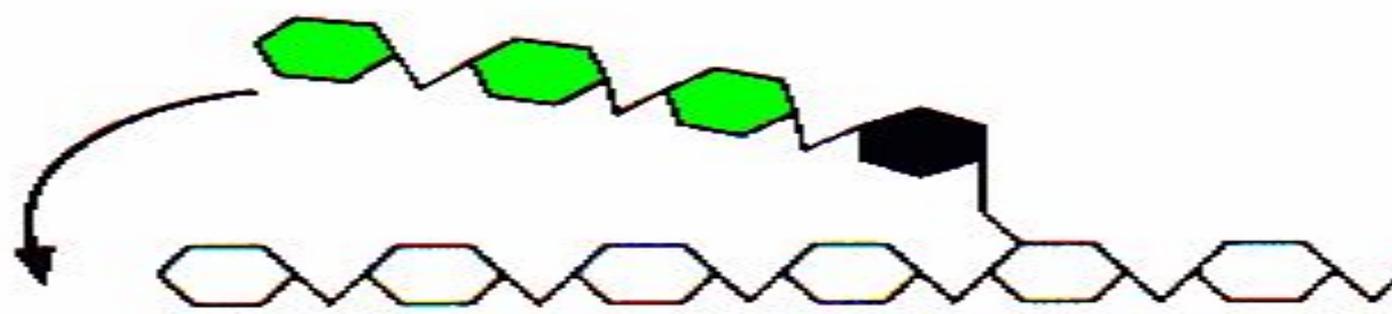
и (или) альфа-D-ГЛЮКАНО-
ТРАНСФЕРАЗЫ



ГЛИКОГЕН



ФОСФОРИЛАЗА



КОНЕЧНЫЙ
ДЕКСТРИН



ТРИГЛЮКОЗО-
ТРАНСФЕРАЗА



АМИЛО-1,6-
ГЛЮКОЗИДАЗА

