

PRENATAL DIAGNOSIS
OF INHERITED
AND INBORN DISORDERS
IN RUSSIA.
PRESENT AND FUTURE

V. S. BARANOV

New, fast expanding area of medical genetics – prenatal diagnosis of inherited and inborn diseases is briefly outlined. The objectives, pre-requisites goals, tasks and methods of this new branch, as well as its relationship to practical medicine and fundamental in human genetics and embryology studies are reviewed.

Дано краткое представление о новом научно-прикладном направлении медицинской генетики – пренатальной (дородовой) диагностике наследственных и врожденных болезней. Рассмотрены объективные предпосылки возникновения этого направления, его цели, задачи, методы оценки состояния плода на разных стадиях внутриутробного развития.

© Баранов В.С., 1998

ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ И ВРОЖДЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В РОССИИ. РЕАЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ

В. С. БАРАНОВ

Санкт-Петербургский государственный университет

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, около 2,5% новорожденных появляются на свет с различными пороками развития. При этом 1,5–2% из них обусловлены преимущественно неблагоприятными экзогенными факторами (так называемыми тератогенами), а остальные имеют преимущественно генетическую природу. Среди экзогенных причин пороков развития следует упомянуть биологические (инфекционные заболевания: краснуха, герпес, токсоплазмоз, хламидийная инфекция, цитомегаловирусная инфекция), физические (все виды ионизирующего излучения, радионуклиды), химические (все противоопухолевые препараты, гормональные препараты, наркотические вещества).

Генетические факторы пороков развития отражают так называемый общий генетический груз популяции, который проявляется более чем у 5% населения планеты. Примерно 1% генетического груза приходится на генные мутации, 0,5% – на хромосомные мутации, около 3–3,5% соответствует болезням с выраженным наследственным компонентом (диабет, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, некоторые опухоли и т.д.). Если к этому добавить, что около 40–50% ранней младенческой (перинатальной) смертности и инвалидности с детства обусловлены наследственными факторами и примерно 30% коек в детских стационарах заняты детьми с наследственной патологией [2, 3], становится понятной безусловная необходимость правильной и рационально организованной ранней диагностики врожденных и наследственных болезней. Решающая роль в этом принадлежит институтам медико-генетической службы, и в первую очередь тем ее подразделениям, которые обеспечивают пренатальную диагностику, позволяющую не только установить диагноз еще до рождения, но и предотвратить появление на свет детей с тяжелыми, нерепарируемыми пороками развития, с социально значимыми смертельными генными и хромосомными болезнями.

Медико-генетическая помощь в России, так же как и в бывшем СССР, организована по территориальному принципу и включает как обязательное

начальное звено медико-генетические консультации и кабинеты (их число в 1994 году составило 85), межобластные (межрегиональные) медико-генетические центры (всего 16) и как высшее звено – пять федеральных медико-генетических центров (три в Москве, один в Санкт-Петербурге и один в Томске). Непосредственно пренатальная диагностика сосредоточена почти исключительно в областных, межрегиональных и федеральных медико-генетических центрах.

МЕТОДЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Пренатальная диагностика (ПД) наследственных и врожденных болезней – сравнительно новое направление медицинской генетики, возникшее в 80-х годах XX века на стыке таких клинических наук, как акушерство, гинекология, неонатология, медицинская генетика, с одной стороны, патофизиология, биохимия, цитогенетика, молекулярная биология, генетика человека – с другой [1].

На современном этапе развития пренатальная диагностика приобретает очертания самостоятельного научного направления со своими задачами, методами и предметом исследования. Предметом (объектом) научного изучения ПД является зародыш человека на разных этапах внутриутробного развития. Человеческий зародыш сегодня доступен для самых разнообразных исследований и диагностики практически на любой стадии развития. Методы, применяемые в ПД, целесообразно разделить на не прямые, когда объектом исследования является беременная женщина, и прямые, когда исследуется сам плод. Последние могут быть инвазивными (оперативными) и неинвазивными.

Непрямые методы пренатальной диагностики

Следует отметить, что основное назначение не прямых методов – отбор женщин групп высокого риска для дальнейшего углубленного наблюдения. Наряду с бактериологическими исследованиями на скрытые инфекции и акушерско-гинекологическим осмотром важная роль принадлежит медико-генетическому консультированию. При этом уже на уровне женских консультаций женщина может получить информацию о том, относится она или нет к группам высокого риска рождения больного ребенка.

Основные показания для направления беременной на ПД во всем мире примерно одинаковы. Они включают: 1) возраст женщины старше 35 лет (в России по приказу Минздрава 1993 года – старше 39 лет); 2) наличие не менее двух самопроизвольных выкидышей (абортов) на ранних сроках беременности; 3) наличие в семье ребенка или плода от предыдущей беременности с болезнью Дауна, другими хромосомными болезнями, с множественными врожденными пороками, семейное носительство хромосомных перестроек; 4) многие моногенные заболевания, ранее диагностированные в семье или

у ближайших родственников; 5) применение перед и на ранних сроках беременности ряда фармакологических препаратов; 6) перенесенные вирусные инфекции (гепатит, краснуха, токсоплазмоз и др.); 7) облучение кого-нибудь из супругов до зачатия.

В последние годы помимо перечисленных констатирующих показаний, которые, как уже указывалось, являются стандартными и полезны для сведения не только врачам, но и всем женщинам детородного возраста, особенно важная роль принадлежит исследованию маркерных эмбриональных белков в сыворотке крови матери, таких, как альфа-фетопротеин (АФП), хориальный гонадотропин (ХГЧ), свободный эстрадиол и некоторые другие. Все эти белки являются эмбрионспецифичными, то есть продуцируются клетками самого плода или плаценты и поступают в кровоток матери, причем их концентрация в сыворотке крови беременных меняется в зависимости от срока беременности и состояния плода. В частности, содержание АФП возрастает при открытых дефектах нервной трубки (экстенцефалия, мозговые грыжи), незаращении передней брюшной стенки, аномалиях почек. В мировой литературе накоплен обширный фактический материал об изменении этих сывороточных белков в норме и при различной патологии, и практически во всех развитых странах проводится скринирование всех беременных женщин на содержание этих белков с целью выявления женщин с высоким риском рождения детей с врожденными и наследственными пороками. Проведенное в оптимальные сроки (15–16-недельной беременности) с использованием трех тест-систем исследование позволяет выявить до 80% плодов с дефектами развития внутренних органов и до 65% – с хромосомными болезнями (например, с болезнью Дауна, популяционная частота которой составляет 1 на 600–650 новорожденных). Естественно, что столь высокая эффективность и соответственно экономическая рентабельность (стоимость содержания одного ребенка с болезнью Дауна в течение года в американском специнтернате оценивается в 40–50 тыс. долл. США) скринирующих программ могут быть достигнуты только при условии массового скрининга всех беременных с использованием компьютерных программ подсчета риска. Скринирование АФП и ХГЧ во время беременности ведется и во многих медико-генетических центрах России. К сожалению, сравнительно высокая стоимость иммуноферментного анализа, отсутствие отечественных наборов необходимого качества приводят к тому, что даже в таких городах, как Москва и Санкт-Петербург, менее половины беременных подвергаются скринингу. Причем в большинстве случаев он ограничен только АФП, что резко снижает его диагностические возможности по сравнению со стандартными программами, основанными на тестировании сразу нескольких маркерных белков.

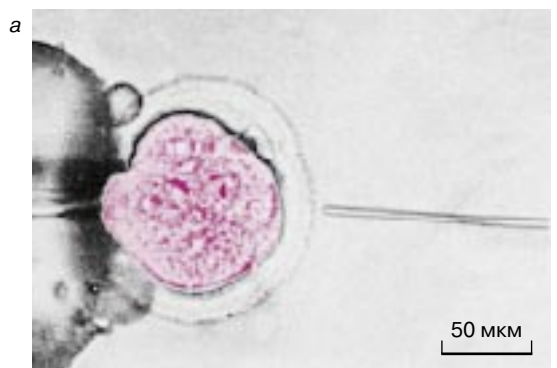
Прямые методы пренатальной диагностики

Ультразвуковое сканирование

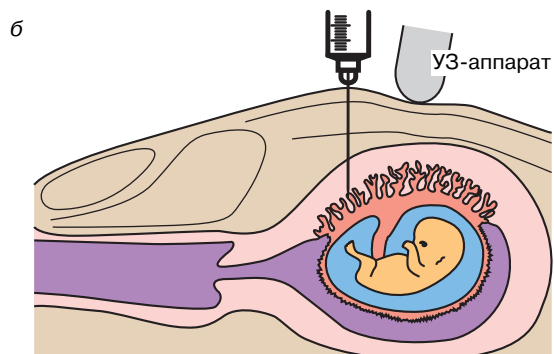
Наиболее распространенным и самым эффективным прямым неинвазивным методом исследования плода является ультразвуковое обследование (сканирование) – ультразвуковая диагностика (УЗД). Приятно отметить, что практически все медико-генетические центры России укомплектованы импортными УЗ-аппаратами высокой разрешающей способности и до 90% всех беременных Москвы и Санкт-Петербурга подвергаются УЗ-обследованию во время беременности. По данным городского МГЦ Санкт-Петербурга УЗ-диагностика позволяет выявить до 80% плодов с анатомическими пороками, то есть данный метод сегодня является самым простым и эффективным способом диагностики анатомических пороков. Важно подчеркнуть, что метод апробирован уже на десятках, если не сотнях миллионов беременных и его абсолютная безвредность для матери и плода твердо доказана. К сожалению, он малоинформативен при хромосомных и особенно моногенных заболеваниях, для диагностики которых необходимо использовать клетки самого плода или его провизорных органов (плаценты, оболочек), получаемых под контролем УЗ оперативными методами.

Инвазивные (оперативные) методы пренатальной диагностики

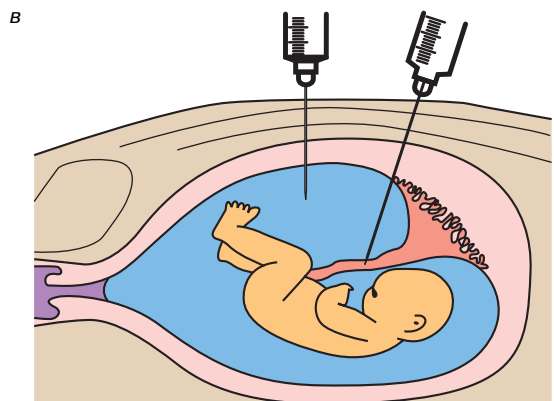
Достаточно полная информация о кариотипе зародыша, биохимических и генотипических особенностях его клеток может быть получена только на основании соответствующих исследований непосредственно тканей самого плода или его провизорных органов (плаценты, хориона). Разработаны и широко применяются различные инвазивные методы, позволяющие получать эмбриональный материал на любом сроке беременности (рис. 1). Так, в настоящее время реально доступны исследованию зародыши человека доимплантационных стадий развития, то есть в течение первых 7 дней после оплодотворения. Анализируя молекулярными или цитогенетическими методами полярные тельца или изолированные клетки (бластомеры) дробящихся зародышей, полученных в результате искусственного оплодотворения вне организма матери, можно с достаточной уверенностью определить пол плода (что важно при наличии в семье заболеваний, сцепленных с X-хромосомой), а также провести молекулярную диагностику некоторых распространенных наследственных заболеваний (муковисцидоз, гемофилия, синдром fragile X-хромосомы). В передовых западных центрах такая доимплантационная диагностика уже проводится и зарегистрированы случаи рождения здоровых детей после такой процедуры [5]. Однако и в этих центрах доимплантационная диагностика находится пока в стадии научных разработок. В России и странах СНГ доимплантационная диагностика наследственных болезней пока



а
Дробление (1–7-й день беременности)
Бластуляция (7–20-й день беременности)



б
Органогенез (20–60-й день беременности)
Начало плодного периода (первый триместр беременности)



в
Плодный период (второй триместр беременности)

Рис. 1. Стадии внутриутробного развития человека и основные методы получения плодного материала: а – доимплантационный период, получение отдельных бластомеров методом микрохирургии дробящейся яйцеклетки; б – первый триместр беременности, получение ворсинок хориона путем биопсии ворсинчатой оболочки, забор материала контролируется при помощи УЗ-аппарата; в – второй триместр беременности, получение ворсинок плаценты (плацентоцентез), образцов амниотической жидкости (амниоцентез), лимфоцитов плода из пуповины (кордоцентез)

отсутствует. Вместе с тем во многих медико-генетических центрах страны широко применяются инвазивные методы получения плодного материала как в первом, так и во втором триместре беременности. Существенно, что именно в России еще в 1979 году В.С. Розовским и В.А. Бахаревым были выполнены одни из первых в мире хорионбиопсий (получение ткани плаценты, или ворсинчатой оболочки плода) с целью пренатальной диагностики, которые, однако, не получили распространения. Только в 80-х годах с появлением высокоразрешающих УЗ-аппаратов инвазивные методы забора плодного материала стали широко применяться (схематически эти методы представлены на рис. 1).

Дальнейший прогресс в области инвазивных методов может касаться отработки методов биопсии других органов плода (мышц) и, наконец, решения проблемы получения клеток плода, флолирующих в крови матери. Выделение в достаточном количестве таких клеток из периферической крови матери открывает возможность кариотипирования плода и ДНК-диагностики генных болезней без инвазивных вмешательств. Активные исследования в этом направлении ведутся в передовых диагностических центрах США, Западной Европы, а также в России. Однако пока они не нашли широкого практического применения.

Диагностика хромосомных болезней

Хорошо известно, что на долю всех ПД, связанных с хромосомной патологией, приходится основная часть (около 80–85%) женщин групп высокого риска, направляемых на ПД с применением инвазивных методов. Именно поэтому такое внимание уделяется разработке удобных, эффективных и надежных методов хромосомного (цитогенетического) анализа клеток плода. В настоящее время проблема надежной цитогенетической диагностики плода человека практически на любом сроке беременности успешно решена. Методически наиболее удобными для диагностики хромосомных болезней у плода являются 10–12-я недели беременности, когда в случае необходимости возможно проведение медицинского аборта. Хромосомные препараты из ворсин хориона (плаценты) прямым методом готовят до 19–20-й недель беременности (рис. 2), а на более поздних сроках предпочитают их получать из культивируемых лимфоцитов пуповинной крови. Кариотипирование культивированных клеток амниотической жидкости возможно на 13–21-й неделях беременности.

Число хромосомных нарушений, выявляемых на ранних сроках беременности (первый триместр), как правило, существенно выше, чем во втором. По обобщенным мировым данным, эффективность ПД хромосомных болезней в среднем составляет 5%, причем более половины всех хромосомных нарушений приходится на избыток хромосомы 21 — болезнь Дауна. Несложные математические под-

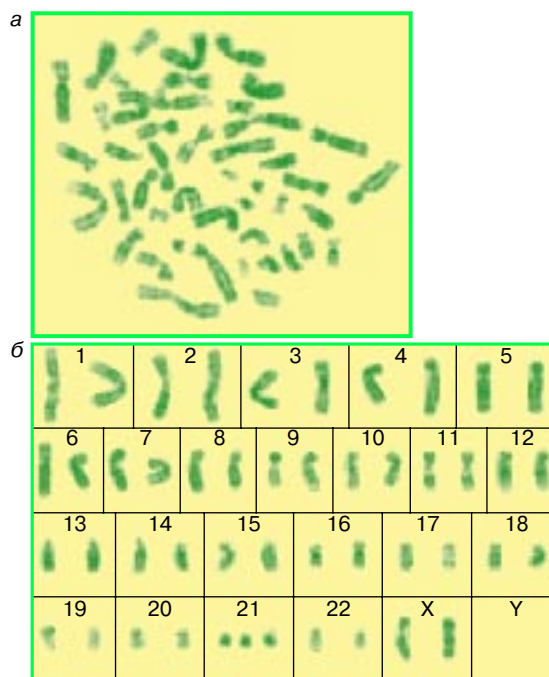


Рис. 2. Метафазная пластинка (а) и кариотип (б) плода с трисомией хромосомы 21 (болезнь Дауна). Плацентобиопсия, второй триместр беременности. Окраска хромосом люминесцентным красителем “Хехст 33258”. Увеличение в 1200 раз. Кариотипирование с помощью полуавтоматической системы анализа изображения “Видео-Тест” фирмы “Иста-Видео-Тест” (Санкт-Петербург)

счеты показывают, что, даже если бы вся пренатальная диагностика была ограничена только болезнью Дауна, она, безусловно, была бы рентабельной с экономической точки зрения.

Дальнейший прогресс в направлении ПД хромосомных болезней, по-видимому, будет достигнут на пути широкого привлечения методов и приемов молекулярной цитогенетики, которые позволяют проводить диагностику числовых нарушений даже в ядрах неделящихся клеток и более детально анализировать структурные перестройки хромосом.

ДНК-диагностика генных болезней

Число моногенных болезней, доступных молекулярной диагностике, уже превышает 1000 и продолжает быстро увеличиваться. Созданы и постоянно совершенствуются все новые эффективные и достаточно универсальные методы ДНК-диагностики, такие, как метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), автор которой — американский ученый Кэй Муллис отмечен Нобелевской премией 1994 года, метод блот-гибридизации, увековечивший имя его создателя Эд. Саузерна (1975 год), и методы ДНК-секвенирования (анализ первичной последовательности нуклеотидов в цепочке ДНК), разработанные П. Сэнджером.

ДНК-диагностика в стране проводится только в нескольких федеральных медико-генетических центрах Санкт-Петербурга, Москвы, Томска и пока касается наиболее частых, социально значимых наследственных болезней, число которых увеличивается. Важно также подчеркнуть, что ДНК-методы позволяют не только диагностировать генные болезни, но и выявлять бессимптомных гетерозиготных носителей мутаций и, таким образом, вести эффективную профилактику болезней в семьях высокого риска [4].

В целом проблему ДНК-диагностики генных болезней, равно как и хромосомных, по сути можно считать принципиально решенной. Ее дальнейший прогресс может касаться не только увеличения числа диагностируемых болезней, но и переноса основной тяжести исследований в ранний постнатальный период для скринирования новорожденных на предрасположенность к мультифакториальным (полигенным) заболеваниям, таким, как атеросклероз, ишемия сердца, диабет, некоторые опухоли и нервно-психические заболевания.

Биохимическая диагностика

В последние годы удельный вес биохимических методов в ПД наследственных и врожденных болезней заметно снизился. Причина тому – решающие успехи в ДНК-диагностике, позволяющие анализировать сам ген, а не его продукты и, таким образом, дающие возможность диагностики на любых клетках плода, а не только на тех, где работает данный ген. Тем не менее биохимические методы широко применяются при ПД врожденных дефектов нервной системы (исследование АФП и ацетилхолинэстеразы в амниотической жидкости), при некоторых формах болезней обмена мукополисахаридов и лизосомальных белков и даже при ПД муковисцидоза – самого распространенного моногенного заболевания. Следует, однако, отметить, что по мере выяснения природы мутантного гена, понимания его функций и идентификации конкретного белка эффективными могут оказаться и прямые биохимические исследования, как, например, иммунохимический анализ белка дистрофина в миофибриллах при миодистрофии Дюшенна или анализ специфического белка в лимфоцитах при синдроме ломкой X-хромосомы. Есть основания считать, что более дешевые, доступные для массового применения биохимические методы будут находить все более широкое применение в скрининге наследственных болезней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценивая состояние пренатальной диагностики в мире и России можно с уверенностью констатировать решающий прогресс в этой быстро развивающейся области медицинской генетики. В практическом плане в нашей стране можно считать принципиально решенными: 1) эффективное

УЗ-скринирование беременных женщин; 2) проблему забора плодного материала на всех сроках беременности; 3) эффективное выявление женщин групп высокого риска рождения детей с пороками развития; 4) проблему эффективных методов диагностики хромосомных и генных болезней у плода. Вместе с тем актуальными для России являются такие проблемы, как отсутствие программ по массовому скринингу маркерных эмбриональных белков в сыворотке крови беременных; отсутствие оперативных компьютеризированных регистров наследственных болезней; слабая медико-генетическая подготовка врачей; неэффективное медико-генетическое консультирование; плохая информированность врачей и населения страны, прежде всего женщин, о реальных возможностях пренатальной диагностики. Неизвестны реальные потребности того или иного региона в молекулярной диагностике, в том числе и в пренатальной, даже тех наследственных заболеваний, для которых уже существуют и широко используются молекулярные исследования. Это зачастую ведет к досадным недоразумениям, когда семьи высокого риска, обратившись за помощью в зарубежные центры, получают рекомендацию провести необходимые исследования в России, где запрашиваемая диагностика не только вполне осуществима, но и проводится бесплатно. Преодоление отмеченных недостатков, в значительной мере обусловленных недостаточным финансированием медицинской генетики и пренатальной диагностики, в частности, сыграет решающую роль в профилактике наследственных и врожденных болезней, рациональном планировании семьи и сохранении генофонда населения России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов В.С. Ранняя диагностика наследственных болезней в России: Современное состояние и перспективы // *Международ. мед. обзоры*. 1994. Т. 2, № 4. С. 236–243.
2. Бочков Н.П. Клиническая генетика. М.: Медицина, 1997. 286 с.
3. Вельтищев Ю.П., Казанцева Л.З. Клиническая генетика: Значение для педиатрии, состояние и перспективы // *Материнство и детство*. 1992. № 8/9. С. 4–11.
4. Горбунова В.Н., Баранов В.С. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. СПб.: Спецлитература, 1997. 286 с.
5. Verlinsky Y., Kuliev A. Preimplantation Diagnosis of Genetic Diseases. Wiley-Liss, 1993. 155 p.

* * *

Владислав Сергеевич Баранов, доктор медицинских наук, профессор Санкт-Петербургского государственного университета, зав. лабораторией пренатальной диагностики наследственных заболеваний Института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, главный специалист Санкт-Петербурга по медицинской генетике. Область научных интересов: генетика и цитогенетическое развитие человека, геном человека, генная терапия. Автор более 300 научных публикаций, трех монографий и соавтор четырех монографий.