

**ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ  
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Кафедра клінічної лабораторної діагностики**

**ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА  
ВРОДЖЕННА ПОРОКІВ  
РАЗВИТКУ ТА СПАДКОВИХ  
ЗАХВОРЮВАНЬ**

**кандидат медичних наук, доцент  
Біленький Сергій Андрійович**

**ЗАПОРІЖЖЯ 2016**

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА –**

це область медицини, яка

займається допологовим

виявленням різних патологічних

станів плоду, в тому числі

діагностикою

**спадкових захворювань (СЗ) та**

**вроджених пороків розвитку**

**(ВПР).**

**Спадкові захворювання** – це хвороби, причиною яких є ті або інші зміни генетичного матеріалу – **мутації:**

- **гаметичні (генеративні)** – мутації у статевих клітинах, які успадковуються;
- **соматичні** – мутації в нестатевих клітинах, що не передаються наступним поколінням інваліда.

## **Види мутацій:**

**1. Генні («точкові») мутації** – представляють собою молекулярні зміни структури генів ДНК (заміну нуклеотидів в тріплетах), незалежно від їх локалізації та впливу на життєдіяльність.

### **Розрізняють:**

синонімічні мутації

радикальні мутації

утворення нонсенс-кодонів

делецій та інсерцій (вставки)

здви́г рамки зчитування

# Види мутацій:

**2. Всерединіхромосомні**  
(делеції, інверсії, дуплікації) та  
**міжхромосомні** (реципрокні та  
нереципрокні транслокації) мутації.

## 3. Геномні мутації:

- **анеуплоїдія** – зменшення (моносомія) або збільшення (трисомія) числа хромосом в диплоїдному наборі, некратне гаплоїдному ( $2n+1$ ,  $2n-1$  и т.д.)
- **поліплоїдія** – збільшення числа хромосом, кратне гаплоїдному ( $3n$ ,  $4n$ ,  $5n$ )

# **СПАДКОВІ ХВОРОБИ:**

## **Хромосомні хвороби**

Трисомія 21 (синдром Дауна)	1 : 700
Трисомія 18 (синдром Едвардса)	1 : 7000
Трисомія 13 (синдром Патау)	1 : 8000

## **Генні хвороби**

Муковисцидоз	1 : 2000
Фенілкетонурія	1 : 3000
Адреногенітальний синдром	1 : 5000
Вроджений гіпотиреоз	1 : 10 000
Гемофілія А	1 : 20 000
Недосконалий остеогенез	1 : 50 000

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

**дозволяє виявити в плоді:**

**близько 98 % трисомії 21**

**(синдром Дауна);**

**близько 99,9 % трисомії 18**

**(синдром Едвардса);**

**близько 99.9% трисомії 13**

**(синдром Патау);**

**близько 50 % порушення розвитку  
серця та ін.**

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

**включає медико-генетичне консультування, неінвазивні (УЗД, вивчення біохімічних маркерів сироватки крові матері) та інвазивні методи дослідження, а також преімплантаційну діагностику при екстракорпоральному заплідненні.**

# Мета медико-генетичної консультації –

установлення степені генетичного ризику в обстежуваній сім'ї та роз'яснення подружжю результатів.

Генетичний ризик – це ймовірність появи в потомстві спадкової патології.

Розрізняють:

низьку степінь ризику – до **5%**

середню степінь – до **10%**

підвищену степінь – до **20%**

високу степінь – більше **20%**

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

В останні роки суттєвий розвиток отримали так звані **асистуючі репродуктивні технології (АРТ)**.

При їх застосуванні **ризик вроджених пороків розвитку плоді** в порівнянні зі спонтанною вагітністю **достовірно підвищується на 30-40%!**

# **Фактори, що підвищують ризик:**

## **1. Причини безпліддя:**

- хронічні очаги інфекцій,
- утворення неповноцінних статевих клітин на фоні ендокринних порушень
- наявність генетичної або спадкової патології у подружній парі.

**2. Середній вік** на момент настання вагітності при АРТ **старше 34 років.**

**3. Особливості самої процедури АРТ:** відстрочене звпліднення, кріоконсервування та розморожування ембріонів, їх переніс та редукція.

# ***Предимпатаційна пренатальна генетична діагностика***

ембріону, розвинувся в результаті штучного запліднення (при числі клітин близько 10!), визначається наявність **маркерів близько 6000 спадкових захворювань**, після чого вирішується питання про доцільність імплантації.

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

включає два етапи:

1. виявлення жінок (сім'ї) з підвищеним ризиком неспиятливого, в генетичному плані, результату вагітності при медико-генетичному консультуванні або первинному обстеженні всіх вагітних, в т.ч. використання скринінг методів;
2. власне пренатальна діагностика жінок з факторами ризику.

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

використовує *ультразвукову діагностику* (та інші види апаратної діагностики), *оперативну* (інвазивну) *технику* та *лабораторні методи* (цитогенетичні, біохімічні, молекулярно-генетичні).

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

Показання до використання

інвазивних методів діагностики:

- ехоознаки хромосомної патології плоду

- зміни рівнів біохімічних

маркерів в сироватці крові вагітної

- розрахований програмою висо-

кий ризик народження дитини з

хромосомною патологією ( $> 1$  на

250).

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

Інвазивні методи пренатальної діагностики дозволяють діагностувати всі форми **хромосомної патології** плоду, визначити його **стать**, а також провести **молекулярну діагностику** ряду **расповсюджених спадкових хвороб** (*гемофілія, фенілкетонурія, муковісцидоз, міодистрофія Дюшена та ін.*).

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

**Інвазивні методи дозволяють  
провести цитогенетичні  
дослідження тканин плодового  
походження:**

***біопсія хоріону* (8-12 тиж),  
*амніоцентез* (13-14 нед., 16-22 тиж.),  
*кордоцентез* (з 22 тиж),  
*плацентоцентез* (II триместр),  
*біопсія тканин плоду* (II триместр).**

**Вибір методу залежить від строку  
вагітності та технічних  
можливостей лабораторії.**

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

як комплекс пренатально-діагностичних заходів кардинально вирішує проблему зниження спадкових та вроджених хвороб в популяції, та, як наслідок цього – змінює показники перинатальної патології, малюкової захворюваності, смертність та дитячу інвалідність.

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

має виключно важливе значення при медико-генетичному

консультуванні, дозволяючи перейти від ймовірності до

однозначного прогнозування здоров'я дитини в родині з генетичними ускладненнями.

Сьогодні можлива діагностика всіх хромосомних синдромів та близько 100 спадкових хвороб з достовірно установленним біохімічним

дефектом

# ПОКАЗАННЯ ДЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОЇ ДІАГНОСТИКИ

1. Вік матері 35 років та >;
2. Наявність у сім'ї попередньої дитини з хромосомною патологією;
3. Перебудови батьківських хромосом;
4. Наявність у сім'ї захворювань, наслідуючих зчеплене зі статтю;
5. Синдром фрагільної X-хромосоми.

# ПОКАЗАННЯ ДЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОЇ ДІАГНОСТИКИ

6. Гемоглобінопатії;
7. Вродженні помилки метаболізму.
8. Різні спадкові захворювання, діагностуючі методом зчеплення з ДНК-маркерами;
9. Дефекти нервової трубки.
10. Інші показники для цитогенетичної діагностики.

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

здійснюється в I та II триместрах вагітності, тобто в періоди, коли (у випадку виявлення патології!) ще можна перервати вагітність.

Питання про переривання вагітності повинно ставиться тільки після оцінки наступних критеріїв:

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

1. Хвороба повинна бути досить важкою, щоб було виправдано переривання вагітності;
2. Лікування хвороби плоду неможливе та незадовільне;
3. Існує точний тест для постановки пренатального діагнозу;

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

4. Досить високий генетичний ризик несприятливого результату вагітності;

5. Сім'я, яка консультується, повинна бути згодною на переривання вагітності.

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

При організації та розвитку системи повинні виконуватися наступні умови:

1. Діагностичні процедури повинні бути безпечними для здоров'я матері та плоду;

2. Частота ускладнень бвагітності після діагностики не повинна помітно підвищуватися (ймовірність втрати плоду відразу або у віддаленний період після її проведення):

# ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА

3. Лікарі, володіючі технікою пренатальної діагностики, повинні знати ймовірність постановки псевдопозитивних або хибнонегативних діагнозів (*обмеження методу*);

4. Спеціалісти пренатальної діагностики (*гінеколог, лікар-генетик, лікар-лаборант*) повинні знати діагностичні обмеження методу у власній лабораторії;

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

**5. Група спеціалістів повинна суворо дотримуватися стандартів проведення процедур та аналізів, здійснювати поточний контроль якості роботи, а також мати статистику завершення вагітності та розбіжностей діагнозів (контроль після абортів або після народження).**

# **ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА**

## **Пренатальний скринінг материнських сироваткових факторів**

**(найкращий термін для аналізу –  
15-20 тиждень вагітності):**

- хоріонічний гонадотропін;**
- плазменний протеїн,**

**пов'язаний з вагітністю (РАРР-  
А);**

- альфа-фетопропротеїн;**

**Хоріонічний гонадотропін** – це глікопротеїн, продукований синцитіотрофобластом. Він підтримує активність жовтого тіла з 8 дня овуляції та є основним гормоном ранньої вагітності. Білок визначається у крові з 10-12 дня вагітності та поступово підвищується до кінця першого триместру.

# Хоріонічний гонадотропін

складається з  $\alpha$ - та  $\beta$ -субодиниць.  
 $\alpha$ -субодиниця ідентична відповідній  
в лютеїнізуючому,  
фолікулостимулюючому та  
тиреотропному гормонах.

Як правило, у сироватці  
визначається  $\beta$ -субодиниця (бета-  
ХГЧ).

Високочутливі методики (наприклад, імунохемилюмінесцентна) дозволяє визначати дуже низькі концентрації ХГЧ ( $< 5\text{IU/L}$ ) з відсутністю перекресних реакцій з вище названими 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 нормі зі збільшенням терміну вагітності його концентрація постійно підвищується, а при різних патологічних станах (нерозвиваюча вагітності, патологія хромосом) суттєво зменшується. Зміни його рівня (як в нормі, так і при патології) більш характерні для I триместра, чім для пізніх термінів.

У справжній час РАРР-А є одним із вивчаючих біохімічних маркерів, якому приділяється велике значення при організації пренатального скринінгу на ранньому терміні вагітності.

**альфа-фетопротеїн** – це білок,

синтезуючий ембріональною

печінкою та жовточним мішком з

другого триместру. Він виділяється в

амніотичну рідину з сечею, потім

всмоктується через плодні оболочки

в кров вагітної. Після народження

АФП швидко знижується на протязі

1-го року та залишається на

низькому рівні протягом всього

життя.

**Неконьюгований естріол** – основний естроген, продукований зародком. Його попередники (дегідроепіандростерона сульфат) синтезується в наднирниках плоду, потім в печінці перетворюється в 16- $\alpha$ -гідрокси–дегідроепіандростерону сульфат та в плаценті в результаті ряду конвертацій – в естріол.

Виробництво некон'югованого естріолу веде до прогресуючого підвищення материнського рівня гормону. Складаючи тільки 9% від всіх форм естріолу в материнській сироватці, він найближче відображає фетоплацентарне виробництво.

Метаболізується НЕ з періодом напівроспаду близько 20 хв, піддаючись в печінці кон'югації з утворенням сульфатів та глюкуронідів.

Оптимальними маркерами в першому триместрі вагітності є **бета-ХГЧ** та **PAPP-A**

Комплексна оцінка цих показників – найкращий з найдених до теперішнього часу критерій синдрому Дауна між 9-14 тижнями (рівень АФП достовірно нижче, чим в нормі, а рівень бета-ХГЧ вище норми).

Виміри в материнській сироватці  
бета-ХГЧ разом з АФП та НЕ  
преставляє собою  
**потрійний тест**

та є високоефективним методом  
скринінгу ряду хромосомних  
аберацій (синдром Дауна, трисомія  
18)

У другому триместрі  
(рівень АФП та НЕ достовірно  
нижче, ніж в нормі, а рівень бета-  
ХГЧ вище норми).

Відповідність отриманного результату та медіани, певної для конкретного терміну вагітності, дає коефіцієнт відхилення від медіани – **MoM** (the Multiple of the Median).

Аналіз MoM для PAPP-A, бета-ХГЧ, АФП та HE, даних про гестаційний вік (УЗД), віці, вазі та раси матері, хромосомних аномаліях та соматичних захворюваннях вагітної визначає рівень материнського ризику.

**Протеїн S100** - це білок з низьким  
Мм, який присутній у багатьох  
тканинах організму. Генетичний код  
цього білка зареєстрований у  
довгому плечі 21-ї хромосоми, яка  
відповідає за фенотипові прояви  
синдрому Дауна (при цьому  
концентрація S100 в крові плоду  
різко наростає).

Дослідження останніх років довели, що статистично достовірної різниці в кількості S100 у крові матері при здоровому плоді та плоді з СД не існує.

Зроблено припущення, що S100 не проходить плацентарний бар'єр і тому кров матері не може бути використана в якості маркеру СД.

# Діагностика дефіциту C<sub>21</sub>- гідроксилази

(найчастіше зустрічаючийся  
ферментативний дефект  
стероїдогенези; >90%)

Фермент гладкої ЕПС – P450<sub>c21</sub>

Бере участь в синтезі  
мінерало- та глюкокортикоїдів  
(стероїдів C<sub>21</sub>)

Висока степінь гомології гену та псевдогену, знаходяться в безпосередній близькості, сприяє нереципрокному спарюванню та урівні кросинговеру між сестринськими хроматидами в мейозі, що приводить до **генної конверсії** (переміщенню ділянки активного гену на псевдоген) або **делеції**.

Типи мутацій в гені CYP21A2:

- ❖ **делеції** – близько 40%
- ❖ **генна конверсія** – 20%
- ❖ **точкові мутації** – 25%.

# Мутації в гені СҮР 21А2 та форми ВДКН

Заміни АК, локалізація	Заміни нуклеотидів, локалізація	Форма ВДКН
<b>Gln 318 Stop</b>	локус 1996	сільвтрачаюча
<b>Ile 172 Asn</b>	локус 1100	вірильна
<b>Val 281 Leu</b>	локус 1685	некласична
<b>Pro 30 Leu</b>	локус 89	некласична
<b>Pro 453 Ser</b>	локус 2580	некласична

# Неонатальный скрининг дефицита P450<sub>c</sub>21

Определение 17-гидроксипрогестерона 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

# Діагностика недостатності С21-гідроксилази

(проба з синактеном –  $^{1-24}$ АКТГ)

Вміст 17-гідроксипрогестерону через  
60 хв після введення в нормі не  
перевищує 1 мкг%.

У хворих з класичною  
формою ВДКН концентрація  
17-гідроксипрогестерону різко  
збільшується (вище 25-50 мкг%) на фоні  
незначного підвищення концентрації  
вільного кортизолу.

# Діагностика недостатності С21-гідроксилази

(проба з синактеном –  $^{1-24}$ АКТГ)

У хворих з некласичною або пізньою формою синдрому ВДКН концентрація 17-гідроксипрогестерону в крові після стимуляції, як правило, не перевищує **15 мкг%**.

Діагностичну цінність має співвідношення концентрацій 17-гідроксипрогестерону до ДОКС – при дефіциті 21-гідроксилази завжди **>12!**

# Пренатальна діагностика

В I триместрі недостатність **21-гідроксилази** визначається шляхом генотипування алелей **HLA** або аналізу **ДНК** із клітин ворсин хоріону, а також визначення **17-гідрокси-прогестерону** та **андростендіону** в пробах навколоплідних вод, отриманих при дослідженні ворсин хоріону.

# Пренатальна діагностика

У II триместрі – визначення гормонів у навколоплідних водах (не тільки 17-гідроксипрогестерон та андростендіон, абе й 11-дезоксикортизол, що підвищує цінність дослідження, особливо при діагностиці простої вірилізованої форми ВДКН), HLA-генотипування та молекулярно-генетичний аналіз ДНК клітин.

# Медико-генетичне консультування.

## Недостатність 21-гідроксилази

спадкується по аутосомно-рецесивному типу. Більшість батьків – **гетерозиготи** – мають один нормальний та один мутантний алель.

*(приблизно у 1% випадків мутації виникають знову, в такому випадкі гетерозиготний носій – один з батьків).*

## **Медико-генетическе консультування.**

Якщо обоє батьків є гетерозиготними носіями, то ризик спадкування обох алелей та народження **хворої дитини** становить **25%**, в **50%** випадків дитина успадкує тільки один мутантний алель (**здоровий носій**), ймовірність спадкування двох нормальних алелей та народження **здорової дитини** складає **25%**.