

5-бөлім**Генетика және
молекулалық биология****Раздел 5****Генетика и
молекулярная биология****Section 5****Genetics and
molecular biology**

УДК 618.33-076.5:575.113

²А.М. Калимагамбетов, ²Н.Ж. Рустембеков, ¹С.К. Аяпова, ¹Г.К. Абдрешева, ¹Г.Т. Мырзабекова¹Городской центр репродукции человека, Казахстан, г. Алматы²Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

*E-mail: Aitkali.Kalimagambetov@kaznu.kz

Результаты цитогенетического исследования в пренатальной диагностике

В данной статье приведены результаты цитогенетического исследования в пренатальной диагностике в Городском центре репродукции человека, г. Алматы (2012-2013 г.г.). Биопсийные материалы хориона и плаценты, а также лимфоцитов пуповинной крови плода получены с помощью инвазивных процедур у 1423 беременных женщин группы риска (по материнскому фактору возраста, УЗИ маркерам, сывороточным маркерам крови беременных женщин, наличием ребенка со множественными врожденными пороками развития, хромосомной патологией и др.). Хориобиопсия и плацентобиопсия проведены у 1328 беременных женщин, кордоцентез – 95. Из них хромосомные нарушения плода выявлены у 60 беременных женщин, что составило 4,2%.

Ключевые слова: метафазная клетка, кариотип, ворсинки хориона и плаценты, пуповинная кровь, возрастной фактор, УЗИ маркеры, биохимические маркеры, хромосомные нарушения, пренатальная диагностика.

A.M. Kalimagambetov, N.Zh. Rustembekov, S.K. Ayapova, G.K. Abdresheva, G.T. Myrzabekova

Results of cytogenetic research's in prenatal diagnosis

This paper presents the results of cytogenetic research on prenatal diagnosis of chromosomal abnormality 01.01.2012 - 31.03.2013. Biopsies chorion and placenta, and fetal cord blood lymphocytes obtained through invasive procedures in 1423 pregnant women at risk (for maternal age factor, ultrasound markers, serum markers of blood, the presence of a child with multiple congenital malformations, chromosomal abnormality, etc.). Of these numerical and structural chromosomal abnormalities were found in 60 (4.2%) of the pregnant women's fetus.

Keywords: metaphase cell, karyotype, chorionic and placenta villus, umbilical cord blood, age factor, ultrasound markers, biochemical markers, chromosomal abnormalities, prenatal diagnosis.

A.M. Калимагамбетов, Н.Ж. Рустембеков, С.К. Аяпова, Г.К. Абдрешева, Г.Т. Мырзабекова

Пренаталды диагностикадағы цитогенетикалық зерттеу нәтижелері

Мақалада 01.01.2012 – 31.03.2013 жылдар аралығында пренаталды диагностикадағы хромосомалық бұзылыстарға жүргізілген цитогенетикалық зерттеулердің нәтижелері көрсетілген. Қатерлі топтағы (ананың жасына қатысты фактор, УДЗ және биохимиялық маркерлер, жанұяда туа біткен ауруы баланың бар болуы және т.б.) 1423 жүкті әйелдерден биопсиялық хорион және плацентаның материалы және кіндік қанның лимфоциттері зерттеуге алынды. Олардың ішінде 60-да (4,2%) сандық және құрылымдық хромосомалық бұзылыстар анықталды.

Түйін сөздер: метафазалық клетка, кариотип, хорион және плацента, кіндік қаны, ананың жастық факторы, УДЗ маркерлері, биохимиялық маркерлер, хромосомалық бұзылыстар, пренаталды диагностика.

По данным Национального Генетического Регистра Республики Казахстан за 2006 г., ежегодно в республике рождаются от 2500 до 3500 детей с врожденными и наследственными заболеваниями. Из них до одного года умирает 20% детей, а

оставшиеся в живых в большинстве случаев являются умственно или физически неполноценными. Больные с наследственной и врожденной патологией занимают около 30% больничных коек в детских лечебных учреждениях. На лече-

ние и выхаживание этого контингента больных государство вынуждено расходовать огромные средства. При этом, большинство врожденных и наследственных заболеваний неизлечимы и трудно коррегируемы [1].

В связи с этим в настоящее время для профилактики рождения детей с различными генетическими нарушениями разработана скрининговая программа на основе пренатальной диагностики, которая включает в себя неинвазивные и инвазивные методы исследования. Неинвазивные методы назначаются всем беременным женщинам для определения группы риска [2].

Неинвазивные методы состоят из трехкратного ультразвукового исследования (УЗИ) и исследования содержания биохимических маркеров сыворотки крови беременных женщин (биохимический скрининг) на хромосомную патологию плода.

При УЗИ в сроки 10-14 недель беременности проводят оценку толщины воротникового пространства (ТВП) плода, длины носовой кости, состояния хориона; в сроки 20-24 недель – детальную оценку анатомии плода для обнаружения у него врожденных пороков развития (ВПР), эхографических маркеров хромосомных болезней плода (ЭГМХА), ранних форм задержки развития, патологии плаценты, аномального количества околоплодных вод и др.; в сроки 30-34 недель – выявляют пороки развития с поздним проявлением, проводят функциональную оценку состояния плода. Все выше перечисленные пороки развития являются УЗИ маркерами [3].

Биохимический скрининг в сроки 10-14 недель проводят для определения уровней содержания белка, ассоциированного с беременностью (РАРР-А) и хорионического гонадотропина человека (β -ХГЧ); в сроки 16-22 недель – альфа-фетопротеина (АФП) и β -ХГЧ. Низкий уровень содержания АФП в сочетании с высоким уровнем концентрации β -ХГЧ в эти сроки свидетельствует о вероятности хромосомной патологии у плода. Увеличение содержания обоих маркеров (АФП и β -ХГЧ) указывает на риск возникновения открытого порока нервной трубки плода. Снижение β -ХГЧ при увеличении АФП предполагает развитие плацентарной недостаточности. **РАРР-А, β -ХГЧ, АФП являются биохимическими маркерами** [2-6].

Группы риска среди беременных женщин формируются по следующим показаниям [2, 7-9]:

- с возрастным фактором (В/Ф) – от 35 лет и старше. Известно, что с увеличением возраста че-

ловека в гаметам происходят различные генетические изменения, которые приводят к нерасхождению хромосом в мейозе и хромосомным абберациям, что является причиной развития плода с хромосомными патологиями (синдром Дауна и др.);

- с выявленными при УЗИ пороками развития плода, то есть УЗИ маркерами. Наличие одного или более видов маркеров может свидетельствовать о хромосомном нарушении плода;

- с отклонениями в уровне содержания сывороточных маркеров крови, то есть биохимических маркеров;

- с наличием в анамнезе беременных женщин рождения ребенка с МВПР, хромосомной патологией и др.;

- с установленным семейным носительством хромосомных аномалий или генных мутаций.

Целью данной работы явилось цитогенетическое исследование биопсийного материала хориона и плаценты, а также лимфоцитов пуповинной крови беременных женщин с учетом различных клинических и лабораторных показаний.

Материалы и методы

Материалами исследования явились ворсинки хориона и плаценты, а также лимфоциты пуповинной крови плода, которые были получены путем биопсии от 1423 женщин при различных сроках беременности в течение 2012 г. и январь – март 2013 г. Трансабдоминальная аспирация и пункция пуповины осуществлялась под контролем УЗИ аппарата.

Метафазные клетки ворсинок хориона и плаценты получены прямым способом, а лимфоцитов пуповинной крови – общепринятыми методами культивирования клеток крови. Окраску препаратов проводили по G-методу [10,11].

Анализ метафазных клеток осуществлялся с помощью микроскопа Aksioskop-40 (Carl Zeiss, Германия) и компьютерного программного обеспечения ВидеоТест–Карио 3.1 (Санкт-Петербург, Россия) [12].

Результаты и их обсуждение

Результаты цитогенетического исследования с учетом клинических и лабораторных показателей при инвазивной пренатальной диагностике представлены в таблице 1. Из обследованных 1423 беременных женщин хромосомные нарушения плода выявлены у 60 беременных женщин, что составило 4,2%.

Таблица 1 – Частота хромосомных нарушений у плода беременных женщин с различными клиническими и лабораторными показателями

№№ п/п	Показания к биопсии плодного материала	Количество беременных женщин		Хромосомные нарушения плода	
		n	%	n	%
	В/Ф	260	18,3	6	2,3
	В/Ф и б/х маркеры	206	14,5	7	3,4
	В/Ф, б/х маркеры и УЗИ маркеры	6	0,4	1	16,7
	В/Ф и УЗИ маркеры	93	6,5	7	7,5
	Б/х маркеры	359	25,2	6	1,7
	Б/х и УЗИ маркеры	56	3,9	5	8,9
	УЗИ маркеры	413	29,0	28	6,8
	Хромосомные патологии и МВПР в анамнезе	21	1,5	-	-
	Обследование	9	0,6	-	-
	Всего	1423	100	60	-

Примечание: n – количество беременных женщин

Цитогенетическое исследование с учетом фактора возраста, включая биохимические и УЗИ маркеры, проведено у 565-и (39,7%) беременных женщин. В этой группе у 21 беременной женщины выявлены хромосомные нарушения, что составило 3,7%.

В группе риска беременных женщин по биохимическим маркерам, включая УЗИ маркеры, анализ метафазных клеток проведен у 415 беременных женщин. Из них у 11 (2,7%) выявлены хромосомные нарушения плода.

В группе риска только по УЗИ маркерам цитогенетические исследования проведены у 413 беременных женщин. По этим показаниям выявлено 28 (6,8%) хромосомных нарушений у плода.

Сравнение полученных данных по хромосомным нарушениям плода у беременных женщин в группах риска по фактору возраста, биохимическим и УЗИ маркерам в отдельности показали более высокую частоту выявляемости хро-

мосомных нарушений по УЗИ маркерам. Это в 3 раза больше, чем по фактору возраста и в 4 раза больше, чем по биохимическим маркерам. Однако значительный удельный вес (16,7%) выявляемости хромосомных нарушений плода наблюдается при комплексном исследовании, с учетом фактора возраста, биохимических и УЗИ маркеров, что в 7,3, 9,8 и 2,5 раза больше, соответственно, чем на основе отдельных этих показаний.

У 21 (1,5%) беременной женщины, имевшей в анамнезе детей с хромосомными патологиями и МВПР, и 9 (0,6%) беременных женщин, направленных на цитогенетическое исследование в связи с наличием тяжелых заболеваний у родственников, хромосомные нарушения у плода не выявлены.

Результаты анализа численных и структурных нарушений хромосом плода представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Частота и спектр хромосомных нарушений у плода

Хромосомные нарушения	Кариотип плода	n	Частота, %
численные			
Трисомия по 3-й хромосоме	47,XX,+3	1	1,7
Трисомия по 13 хромосоме	47,XX+13, 47,XY+13	3	5
Трисомия по 18 хромосоме	47,XX,+18; 47,XY+18	9	15
Трисомия по 21 хромосоме	47,XX,+21; 47,XY+21	28	46,5
Трисомия по 21 хромосоме и дополнительная X-хромосома	48,XXY,+21	1	1,7
Моносомия по X-хромосоме	45,X	3	5

Продолжение таблицы

Полисомия по X-хромосоме у плода с женским кариотипом	47,XXX	4	6,6
Дополнительная X-хромосома у плода с мужским кариотипом	47,XXY	5	8,3
Триплоидия	69,XXX	1	1,7
структурные			
Моносомия по X-хромосоме и Робертсоновская транслокация между хромосомами 14 и 22	44,X,t(14/22)	1	1,7
Наличие дополнительной маркерной хромосомы	47,XX,+mar	1	1,7
Трисомия по хромосоме 21 и дополнительная маркерная хромосома	48,XY,+21,+mar	1	1,7
Дупликация длинного плеча хромосомы 13	46,XY,dup(13)(q)	1	1,7
Кольцевая 15 хромосома	46,XX,r(15)	1	1,7
Всего		60	100

Анализ полученных данных показал, что из 60 выявленных хромосомных нарушений 55 случаев составляет численные нарушения (91,7%), а остальные 5 (8,3%) относятся к различным структурным aberrациям. В 13-и случаях обнаружены нарушения в системе половых хромосом, в 42-х – в системе аутосом, что составляет 21,6 и 70%, соответственно. Из численных нарушений хромосом высокий удельный вес занимает трисомия по 21 хромосоме, что составляет 50,9%.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что массовый дородовой скрининг является эффективным способом выявления хромосомных нарушений плода. При этом, среди изолированных показаний наиболее высокий уровень обнаружения этих нарушений отмечается на

основе УЗИ маркеров. В тоже время, подтверждение хромосомной патологии у плода выше в 2,5 раза на основе комплексных клинических и лабораторных показателей относительно УЗИ маркеров.

Анализ спектра хромосомных нарушений плода выявил значительное, в 11 раз, превышение численных нарушений хромосом относительно структурных. Нарушения в системе аутосом наблюдались в 3,2 раза чаще, чем нарушения в системе половых хромосом.

Таким образом, цитогенетические методы исследования позволяют подтвердить или исключить наличие хромосомной патологии у плода и являются необходимым диагностическим звеном в дородовой диагностике беременных женщин группы риска.

Литература

- 1 Скрининговая программа дородовой диагностики и профилактики врожденных и наследственных заболеваний у детей. Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 28 марта 2006 года № 140. http://www.03portal.kz/na/3/index.php?option=com_content&task=view&id=4066&Itemid=65
- 2 Медведев М.В. Пренатальная диагностика врожденных пороков развития в ранние сроки беременности: 1-е изд. – М.: РАВУЗДПГ, Реальное время, 2000, – 160 с.
- 3 Бочков Н.П. Клиническая генетика: Учебник. 4-е изд., перераб. и сущ. доп. — М.: ГЭОТАР-МЕДИА, 2011, – 592 с.
- 4 Miriam S. DiMaio, Joyce E. Fox, Maurice J. Mahoney. Prenatal Diagnosis: Cases & Clinical Challenges: Wiley-Blackwell, 2011, – 136 p.
- 5 Subrata Dey. Prenatal diagnosis and screening for Down syndrome: Published by InTech, 2011, – 232 p.
- 6 Nikolaidis K., Brizot L., Patel F., Snijders R. Comparison of chorionic villus sampling and amniocentesis for Fetal karyotyping at 10-13 weeks' gestation//Lancet. 1994. V. 344. P. 435—439.
- 7 Баранов В.Н., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития человека. Научно-практические аспекты. – М.: Н-Л, 2007. – 640 с.
- 8 Aubrey Milunsky, Jeff Milunsky. Genetic Disorders and the Fetus: Diagnosis, Prevention and Treatment, 6th ed: W-B, 2010, – 1184 p.
- 9 Dijana Plaseska-Karanfilska. Human Genetic Diseases, Croatia: 2011. – 286 p.
- 10 Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышев В.Н. Медицинская цитогенетика – М.: ИД МЕДПРАКТИКА-М, 2006, – 299 с.
- 11 Hong Fong L. Mark. Medical Cytogenetics. New York.: Marcel Dekker, Inc., 2000, – 680 p.
- 12 ВидеоТест – Карио 3.1. <http://www.videotest.ru/ru/products/9>