

УДК 616-007-053.1 : 618.2.079.7 (470.21)

Лабораторная диагностика хромосомной патологии в Мурманске и Мурманской области (2006-2011 годы)

И.В. Перетрухина, Д.О. Казеева

Факультет пищевых технологий и биологии МГТУ,
кафедра микробиологии и биохимии

Аннотация. Определён оптимальный метод хромосомного анализа клеток ворсин хориона (плаценты) в диагностике хромосомных врождённых и наследственных болезней. Отмечается, что в комплекс обследований, способствующих повышению эффективности пренатальной диагностики, необходимо ввести обязательное медико-генетическое консультирование. На базе статистических данных выявлено максимальное значение хромосомных нарушений, составляющее 8,3 % в 2011 г., а также их общий процент (3,8 %) за последние шесть лет. Наблюдается рост полиморфизмов (1,03 %) и структурных перестроек – транслокации (0,5 %). Установлено, что хромосомных патологий выявляется на 5,1 % больше в пренатальном периоде, чем в постнатальном, что доказывает важность профилактики хромосомных заболеваний и своевременность медико-генетического консультирования.

Abstract. The optimum method of chromosomal analysis of chorionic villus cells (placenta) in the diagnostics of chromosomal congenital and hereditary diseases has been defined. It has been stated that compulsory genetic consultation should be included in the complex of surveys to help improve the efficiency of the prenatal diagnostics. On the basis of statistical data the maximum value of chromosomal abnormalities constituting 8.3 % in 2011 as well as their overall percentage (3.8 %) in the last six years have been revealed. The growth of polymorphism (1.03 %) and translocation (0.5 %) has been observed. The chromosomal abnormalities have been revealed more (5.1 %) at the stage of embryonic development than at the stage of postnatal development. This proves the importance of prevention of hereditary diseases and timeliness of genetic consultation.

Ключевые слова: лимфоциты, клетки амниотической жидкости, клетки плаценты, цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий, группа риска, кариотип, хромосомный препарат, статистика наследственных заболеваний

Key words: lymphocytes, amniotic fluid cells, placenta cells, cytogenetic diagnostics of chromosomal abnormalities, risk group, karyotype, chromosome preparation, statistics of hereditary diseases

1. Введение

Известно, что практически все хромосомные синдромы у детей сопровождаются теми или иными нервно-психическими нарушениями, представленными при их описании в виде признаков, называемых задержкой психомоторного, умственного и физического развития. Этими признаками характеризуются хромосомные заболевания, связанные с аномалиями аутосом, реце – гоносом или половых хромосом (*Ворсанова и др.*, 1999).

За последние десятилетия существенно изменилась структура детской заболеваемости и смертности. Уменьшилось число инфекционных и алиментарных заболеваний. Однако на фоне увеличения количества вредных факторов в окружающей человека среде растёт удельный вес хромосомных заболеваний, сопровождающихся врождёнными пороками развития (ВПР) и умственной отсталостью и не имеющих методов лечения. Такие заболевания тяжёлым бременем ложатся на семью и общество (*Побединская*, 2008).

Очевидна необходимость перехода от использования сложнейших и очень дорогих технологий, направленных на продолжение жизни зачастую безнадежных больных, к другим технологиям превентивной медицины – методам пренатальной диагностики врождённых и наследственных болезней, расширению программ массового и селективного скрининга.

Целью настоящей работы является определение эффективности пренатальной диагностики хромосомных аномалий у плода и цитогенетических исследований, необходимых для своевременного выявления хромосомной патологии.

Для реализации данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Сравнить и выявить оптимальные методы прогнозирования и диагностики хромосомных врождённых и наследственных болезней.

2. Определить факторы, способствующие повышению эффективности пренатальной диагностики.

3. Провести цитогенетическую диагностику хромосомных аномалий у беременных женщин, супружеских пар и детей.

4. Обработать статистические данные хромосомных патологий в городе Мурманске и Мурманской области за 2006-2011 гг., предоставленные цитогенетическим отделом Мурманского областного диагностического центра (МДЦ).

5. Выявить динамику хромосомных патологий за последние шесть лет в Мурманске и Мурманской области.

2. Материалы и методы

Исследования проводились в лаборатории диагностики наследственных заболеваний медико-генетического отдела (МГО) МДЦ г. Мурманска по стандартным методикам, разработанным в лаборатории пренатальной диагностики врождённых и наследственных заболеваний человека (ГУ НИИ АГ им. Д.О. Отта СЗО РАМН).

Для постановки культуры лимфоцитов применяли микрометод с использованием цельной периферической крови (в отличие от макрометода, при котором применяется плазма крови) и инвазивный метод, объектом исследования которого являются клетки амниотической жидкости и клетки ворсинчатого хориона (плаценты).

В ходе работы также была проанализирована статистика хромосомных заболеваний населения г. Мурманска и Мурманской области за период с 2006 по 2011 гг., предоставленная цитогенетическим отделом МДЦ.

3. Результаты и обсуждение

Определение оптимального цитогенетического метода пренатальной диагностики

Основными критериями отбора метода выбраны эффективность, продолжительность и экономичность (табл. 1) (Баранов и др., 2009).

Таблица 1. Особенности цитогенетического анализа клеток различного происхождения

Метод	Эффективность	Длительность культивирования	Экономичность
Клетки амниотической жидкости	Высокая вероятность контаминации материнскими клетками (0,16 %)	14-21 день	Высокая стоимость питательных сред и оборудования
Клетки ворсин хориона (плаценты), прямой и полупрямой методы	Отсутствие контаминации материнскими клетками (0,4 %)	3-4 дня (полупрямой) 2-3 дня (прямой)	Экономичность
Лимфоциты пуповинной крови	Возможность контаминации материнскими клетками	7-10 дней	Экономичность

Для хромосомного анализа клеток ворсин хориона (плаценты) используют метод (табл. 1) длительного культивирования (основным недостатком является длительность культивирования) и прямой метод, позволяющий получать препараты, удовлетворяющие всем критериям кариотипирования.

При наличии пороков развития у плода, а также в случае хромосомного мозаицизма в плаценте рекомендуется применять метод исследования лимфоцитов пуповинной крови плода (кордоцентез), который даёт наиболее адекватное представление о хромосомном статусе плода.

Таким образом, оптимальным методом пренатальной диагностики хромосомной патологии является прямой метод.

Цитогенетическая диагностика хромосомных аномалий у беременных женщин и супружеских пар

В цитогенетической лаборатории МДЦ г. Мурманска консультацию генетика получают все женщины, планирующие беременность, но особенно важно её получить парам, относящимся к так называемой "группе риска".

"Группой риска" считается пара в следующих случаях:

- 1) оба партнёра являются носителями генетических заболеваний;
- 2) у одного из партнёров обнаружен врождённый порок;
- 3) наличие инбридинга;

4) возраст матери больше 35 лет, а отца – старше 50 лет;
 5) наличие в роду наследственных заболеваний;
 6) самопроизвольное патологическое прерывание беременности;
 7) партнёры живут в экологически неблагоприятном районе или работают на вредном производстве.

С целью определения кариотипа, соответствующего норме, исследованы хромосомные препараты (8 пробирок с различным материалом) пациентов МДЦ, отнесённых к категории "группа риска":

- 1) 5 пробирок с образцами периферической крови из вены (3 мл);
- 2) 1 пробирка с образцом ворсин хориона (инвазивная диагностика – хорионбиопсия);
- 3) 1 пробирка с образцом ткани плаценты (инвазивная диагностика – плацентоцентез);
- 4) 1 пробирка с образцом крови плода (инвазивная диагностика – кордоцентез).

Оценены качество и пригодность препаратов для анализа хромосом, осуществлён отбор метафазных пластинок для изучения индивидуальных хромосом, оценено общее количество хромосом в наборе в целом и в группах хромосом.

Анализ с помощью специальной компьютерной программы (видеотест-Карио) помог определиться в окончательной оценке состава набора по числу хромосом в каждой метафазной пластинке. Проведена оценка распределения этого числа в проанализированной выборке клеток. Осуществлена индивидуальная идентификация хромосом, в том числе и расшифровка типов численных нарушений и вариантов структурных перестроек.

После постановки клеточных культур, приготовления хромосомных препаратов, окраски и последующего анализа препаратов под микроскопом, был проведён анализ хромосом с раскладкой кариотипа по фотоотпечаткам метафазных пластинок (табл. 2).

Таблица 2. Результаты цитогенетического исследования

№ пациента	Пол	Кариотип	Расшифровка	Диагноз
1.	жен.	46Xiso(X)(q10) [15]/45X[5] (15 метафазных пластинок из 20)	iso(X)(q10) – структурный дефект X-хромосомы: изо-X-хромосома по длинному плечу (q10)	синдром Шерешевского – Тернера, мозаицизм по изохромосоме (изоX)
2.	муж.	46XY		кариотип мужской нормальный
3.	муж.	46XY		кариотип мужской нормальный
4.	жен.	46XXinv 9	инверсия хромосомы 9 (inv 9)	сбалансированная хромосомная перестройка. Вариант нормы. Риск повторной развивающейся беременности – не менее 25 %, риск дефектов развития будущего плода – 9 %. Во время беременности рекомендуется сделать пренатальную диагностику кариотипа плода путём биопсии хориона или амниоцентеза
5.	муж.	46XY21ps+	наличие увеличенных спутников коротких плеч 21 хромосомы	кариотип мужской нормальный
6.	жен.	45XXrob (15;21)	Робертсоновская транслокация	кариотип женский несбалансированный
7.	муж.	46XY		кариотип мужской нормальный
8.	жен.	46XX		кариотип женский нормальный

Анализ статистических данных хромосомных патологий

Сотрудниками цитогенетической лаборатории ведётся регистрация протоколов исследований препаратов, а при обнаружении какой-либо патологии исследуемый образец остаётся в архиве хромосомных препаратов.

В результате обработки статистических данных за период 2006-2011 гг. удалось установить процент выявленных хромосомных патологий в Мурманске и Мурманской области, он составляет 3,38 % (рис. 1). Можно сделать вывод не только о значимости медико-генетического консультирования и диагностики, но и об усовершенствовании техники, подборке оптимальных методик, позволяющих максимально точно сформировать группы риска и повысить эффективность пренатальной диагностики. Немаловажную роль играет высокий профессионализм и квалификация медицинского персонала.

Стоит отметить, что общий уровень исследованных анализов на кариотип включает в себя только тех пациентов, которые добровольно наблюдались в Мурманском медико-диагностическом центре за период с 2006 по 2011 гг.

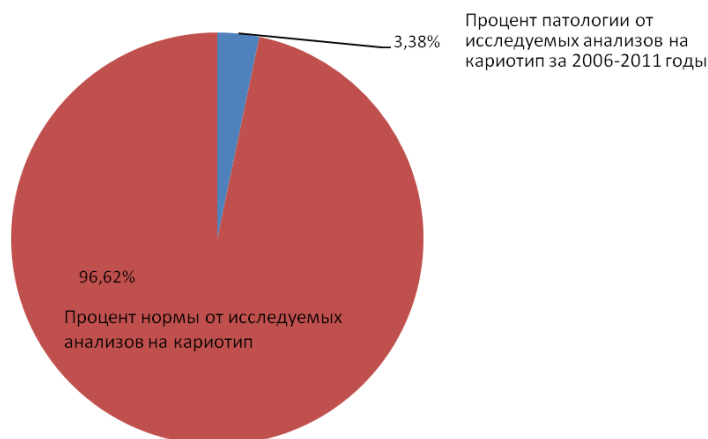


Рис. 1. Процент патологии, выявленной за 2006-2011 гг.

В 2006-2010 гг. наблюдался небольшой рост хромосомных аномалий, в среднем оставаясь стабильным. Однако в 2011 г. процент хромосомных патологий достиг максимума и составил 8,3 % (рис. 2), несмотря на резкое снижение количества направленных пациентов по сравнению с предыдущими годами. Из литературных источников известно (Побединская, 2008), что рост патологий могут спровоцировать внешние факторы, такие как ухудшение экологической обстановки, наркомания, курение, алкоголь.

До 2010 г. процент выявленных патологий составлял около 5 % от направленных на исследование пациентов (рис. 2). В 2011 г. эта разница оказалась минимальной, что указывает на крайнюю важность предварительной диагностики. К этому периоду пациенты, направляемые на исследование, проходили комплексное обследование (включающее в себя медико-генетическое консультирование, УЗИ плода, биохимический скрининг), это позволило сформировать группы риска, тем самым обеспечив более точное диагностирование хромосомных патологий.

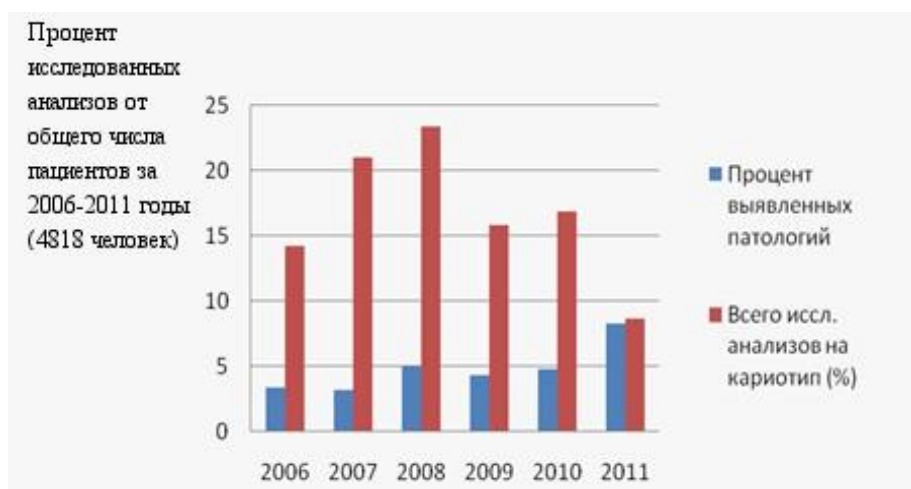


Рис. 2. Динамика хромосомных болезней за период с 2006 по 2011 гг.

Наиболее часто встречающиеся хромосомные болезни в Мурманске и Мурманской области за последние шесть лет: синдром Дауна, синдром Шерешевского – Тернера (рис. 3).

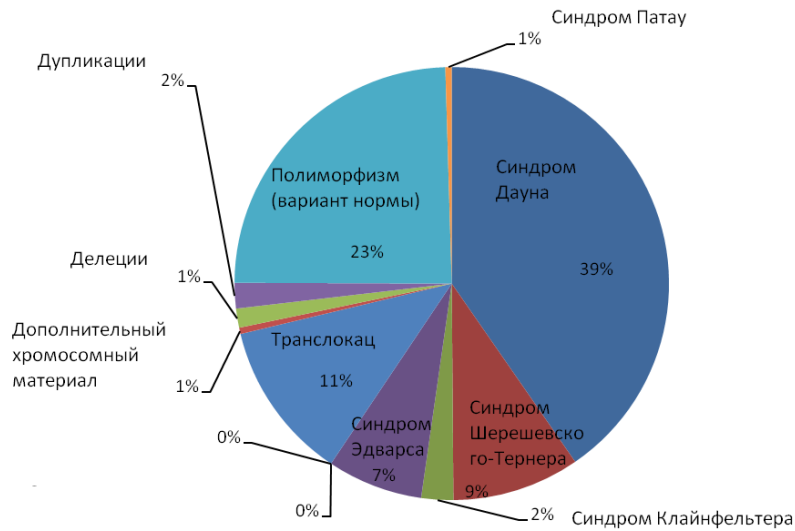


Рис. 3. Статистика наиболее часто встречаемых хромосомных болезней за 2006-2011 гг.

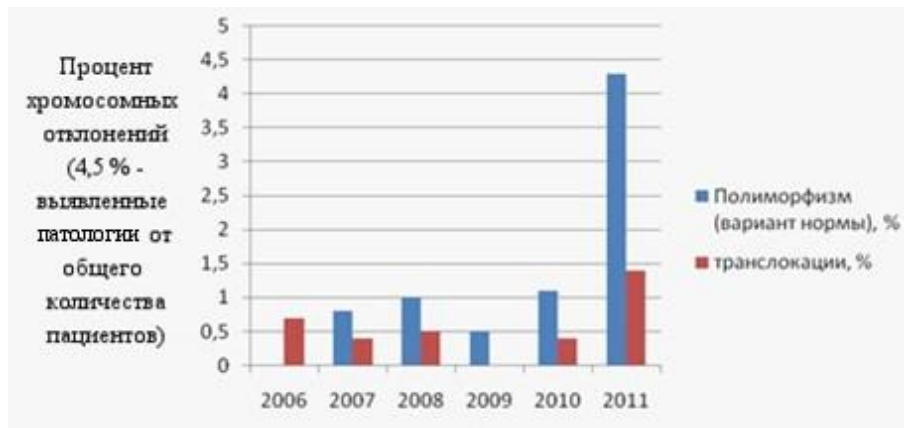


Рис. 4. Динамика хромосомных аномалий за 2006-2011 гг.



Рис. 5. Соотношение хромосомных патологий, выявленных на стадии пренатального и постнатального периода

Невозможно не отметить рост полиморфизмов (1,03 %) и структурных перестроек – транслокации (0,5 %). Количество остальных хромосомных заболеваний практически не увеличивается.

Хромосомные патологии выявляются больше на 5,1 % в пренатальном периоде, чем в постнатальном периоде (рис. 5). Это в очередной раз указывает на важность профилактики наследственных заболеваний и своевременного медико-генетического консультирования.

Таким образом, остро встаёт вопрос о профилактике наследственных заболеваний и своевременном медико-генетическом консультировании. Серьёзное отношение супругов к рождению ребёнка наряду с общегосударственными программами по охране окружающей среды и совершенствованию здравоохранения будут способствовать уменьшению груза наследственных и врождённых патологий.

4. Выводы

1. Оптимальным методом пренатальной диагностики хромосомной патологии является прямой метод.

2. Комплексное обследование беременных пациенток, включающее в себя УЗИ, биохимический скрининг плода, медико-генетическое консультирование, позволяет сформировать группы риска и повысить эффективность пренатальной диагностики.

3. Процент хромосомных патологий в Мурманске и Мурманской области за последние шесть лет составляет 3,8 %, максимальное значение зафиксировано в 2011 г. (8,3 %).

4. Отмечается рост полиморфизмов (1,3 %) и структурных перестроек – транслокации (0,5 %). Количество остальных хромосомных заболеваний остаётся стабильным из года в год.

5. Хромосомных патологий выявляется больше на 5,1 % на стадии эмбрионального развития, чем на стадии медико-генетического консультирования.

Благодарности. Авторы выражают глубочайшую признательность главному врачу Мурманского медико-диагностического центра Игнатову О.Б. за предоставленную возможность использовать ресурсы и информационную базу медико-генетического отдела МДЦ. Отдельную благодарность выражаем Ерофтьевой Е.В. и Кондаковой Н.Б. (МГО МДЦ, лаборатория диагностики наследственных заболеваний).

Литература

Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Иващенко Т.Э. Современные алгоритмы пренатальной диагностики наследственных болезней. *СПб., Изд-во Н-Л, 75 с., 2009.*

Ворсанова С.Г., Юров Ю.Б., Чернышев В.Н. Хромосомные синдромы и аномалии. *Ростов-на-Дону, Изд-во Ростовского ун-та, 80 с., 1999.*

Побединская Л.К. Лабораторная диагностика наследственных заболеваний медико-генетического отдела Мурманского областного консультативно-диагностического центра за период с 2006-2008 годы. *Мурманск, 36 с., 2008.*