

УДК 618.293-07:616.15-07-097.34

А. Н. Маркелова, Т. А. Тезикова, В. А. Лиходедова, Е. В. Мелодьева

НЕИНВАЗИВНАЯ ПРЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ПОЛА ПЛОДА ПО КРОВИ БЕРЕМЕННОЙ В АКУШЕРСТВЕ

Аннотация.

Актуальность и цели. Диагностика пола плода ранее вызывала затруднения и была возможна с 20-й недели беременности путем амниоцентеза или кордоцентеза, что достаточно опасно как для матери, так и для плода. Открытие внеклеточных фетальных ДНК, циркулирующих в крови матери, дало возможность неинвазивной диагностики пола плода. Целью данного исследования стало изучить возможность оптимизации наблюдения беременных женщин с риском рождения детей с заболеваниями, сцепленными с полом, основываясь на раннем неинвазивном определении пола плода.

Материалы и методы. Были проведены научные исследования с помощью новых диагностических наборов для идентификации гена SRY Y-хромосомы в крови матери «ДНК – пол ребенка» производства ООО «Ген-технология» (Россия).

Результаты. Чувствительность и специфичность данной тест-системы оказались равны 100 %. На основании этого предложен новый план ведения беременности женщин, в чьих семьях прослеживаются заболевания, сцепленные с полом.

Выводы. Доказана возможность использования новых отечественных тест-систем «ДНК – пол ребенка» для неинвазивной диагностики пола плода на ранних сроках беременности.

Ключевые слова: пол плода, неинвазивная диагностика, заболевания, сцепленные с полом

A. N. Markelova, T. A. Tezikova, V. A. Likhodedova, E. V. Melod'eva

NON-INVASIVE DIAGNOSTICS OF THE FETAL GENDER BY PREGNANT WOMAN BLOOD IN OBSTETRIX

Abstract.

Background. Previously the diagnosis of the fetal gender was troublesome and was possible after 20 weeks of pregnancy by amniocentesis or cordocentesis. It is dangerous for both a mother and a fetus. The discovery of the extracellular fetal DNA, circulating in the mother's blood, gave an opportunity to non-invasively diagnose the fetal gender. The authors studied the possibility of optimizing the observation of pregnant women, the risk of having children with the fetus-connected diseases, based on early non-invasive determination of the fetal gender.

Materials and methods. The scientific research was carried out with new diagnostic kits for identification of the SRY gene by Y chromosome in maternal blood "DNA-child's sex", produced by Gen-technologia Ltd. (Russia).

Results. Sensitivity and specificity of the test system were equal to 100 %. Based on it the authors suggest a new plan of monitoring pregnancy of women, families of which had cases of the fetus-connected diseases.

Conclusions. The authors proved the possible of using the Russian non-invasive fetal gender diagnosis system in early pregnancy. On this basis, the researchers suggest a new plan of monitoring pregnancy of women, families of which had cases of the fetus-connected diseases.

Key words: fetus gender, non-invasive diagnostics, fetus-connected disease.

Несмотря на общепринятое мнение, что плацента образует барьер между матерью и плодом, это не так [1]. Благодаря многочисленным научным исследованиям стало известно, что как целые клетки плода, так и внеклеточные фетальные ДНК проходят через плаценту и циркулируют в материнском кровотоке.

Большинство последних научных исследований сосредоточены на бесклеточной ДНК плода в крови матери [2]. Их биологический источник и потенциальная функция остаются неопределенными. ДНК образуются путем апоптоза плацентарных клеток (трофобласта) и клеток плода и составляют примерно 3–6 % от общих внеклеточных ДНК (вкДНК) в материнском кровотоке в начале и конце беременности соответственно [3] (оставшиеся 94–97 % составляют материнские вкДНК).

В отличие от внеклеточных материнских ДНК, циркулирующие внеклеточные фетальные ДНК (вкфДНК) состоят в основном из коротких фрагментов. ДНК плода можно обнаружить с четвертой недели беременности, когда начинает формироваться кровеносная система плода, хотя надежно только с седьмой недели. Концентрация его возрастает с увеличением гестационного возраста – от эквивалентных 16 фетальных геномов на миллилитр крови матери в первом триместре беременности до 80 в третьем триместре.

Открытие в 1998 г. циркуляции нуклеиновых кислот плода в материнской крови послужило основой для развития неинвазивной пренатальной диагностики.

Стоит отметить, что до недавнего времени неинвазивная пренатальная диагностика в России не проводилась. На российском рынке до сих пор нет зарегистрированных иностранных тест-систем, которые могут применяться для этих целей.

С 2009 г. кафедрой акушерства и гинекологии № 1 Самарского государственного медицинского университета, сотрудниками Самарской областной клинической больницы и Центром планирования семьи и репродукции» проводились научные исследования по созданию тест-систем для неинвазивного определения резус-фактора плода у резус-отрицательных беременных женщин и для определения пола плода (получено регистрационное удостоверение на диагностические тест-системы), а также внедрение данных тест-систем в клиническую практику акушеров-гинекологов [4].

В настоящее время в России только 40 % детей рождаются полностью здоровыми, а остальные 60 % появляются на свет с той или иной патологией различной этиологии. 20 % из них составляют дети с генетическими отклонениями, а четверть от этого числа больны сцепленными с полом генетическими заболеваниями [5].

Сегодня в России насчитывается не более 100 медико-генетических центров, одной из задач которых является оценка степени риска генетических заболеваний будущего ребенка и определение спектра мероприятий для их эффективного прогнозирования.

Известно более 300 наследственных заболеваний и признаков, сцепленных с полом. К заболеваниям, сцепленным с полом, относятся:

- гемофилия А и В;
- различные формы умственной отсталости, сцепленные с X хромосомой, например синдром Мартина – Белла, прогрессирующие мышечные дистрофии Дюшенна и Беккера;

- нефрогенный несахарный диабет;
- некоторые формы гидроцефалии;
- X-сцепленная глухота и др.

Выяснение пола плода в первом – начале второго триместра может предотвратить случаи рождения больных детей в семьях с отягощенной наследственностью. Возможно прерывание беременности по медицинским показаниям при наличии у родителей носительства генов заболеваний, сцепленных с полом. Также врачу важно знать пол плода для принятия решения о возможности гормональной терапии беременной при гиперандрогении надпочечникового генеза (врожденная дисплазия коры надпочечников).

Основным методом пренатального установления пола сейчас является ультразвуковая диагностика, однако данный метод не всегда корректен и часто субъективен. С 20-й недели беременности можно определить пол плода путем кордоцентеза с 99 % точностью, но данная процедура связана с большим количеством осложнений как для матери, так и для плода (плодово-материнское кровотечение, брадикардия, кровотечение из вены пуповины, хориоамнионит, перинатальная гибель плода и т.д.), так как является инвазивной процедурой с частотой осложнений 0,1–40 %, по данным литературы Риск самопроизвольного прерывания беременности при этих мероприятиях составляет 2–3 % [6].

Целью данного научного исследования стало оценить метод неинвазивной диагностики пола плода по крови беременной женщины и оптимизировать ведение беременных женщин с отягощенной наследственностью по заболеваниям, сцепленным с полом.

Материалы и методы

Определение пола проводилось с использованием новых диагностических наборов «ДНК – пол ребенка» производства ООО «Гентехнология».

Неинвазивное пренатальное генетическое определение пола ребенка по крови матери - генетический лабораторный метод диагностики, позволяющий определить пол плода на ранних сроках беременности [7].

Половая принадлежность человека на уровне генотипа определяется парой так называемых половых хромосом. У женщин набор половых хромосом состоит из двух X хромосом, у мужчин – из X и Y хромосом. Метод ПЦР дает возможность определить наличие в плазме беременной ДНК плода, содержащую фрагменты гена SRY (расположен на Y-хромосоме и кодирует фактор транскрипции, синтезируемый в семенниках). Обнаружение фрагментов этого гена в плазме беременной позволяет сделать заключение о поле плода [8].

Условия проведения анализа:

- срок беременности от 7–10 до 40 недель;
- забор крови непосредственно в лаборатории, для исследования необходимо 5 мл венозной крови;
- тщательной подготовки к исследованию не требуется, однако желательно сдавать анализ утром натощак [9].

Результаты исследования

Проводилась оценка фетальной ДНК из плазмы крови беременных женщин. Были использованы образцы крови 300 беременных женщин объе-

мом 7 мл. ДНК-анализ 163 образцов этих женщин указал на плод мужского пола, 137 – на плод женского пола. Все женщины уже родили здоровых детей (163 мальчика, 137 девочек), и можно оценить результаты исследования. Для определения чувствительности и специфичности метода была создана контрольная группа из 20 беременных. Этим женщинам по различным показаниям был проведен кордоцентез, в результате которого проводилось генетическое определение пола плода.

Путем построения четырехпольной таблицы совместимости [9] были рассчитаны чувствительность и специфичность метода, которые составили 100 %.

Из результатов исследования видно, что неинвазивное определение пола плода по крови матери на ранних сроках беременности – хорошая альтернатива кордоцентеза.

На основании изученных данных стало возможным составить алгоритм ведения беременных женщин с отягощенной наследственностью по заболеваниям, сцепленным с полом (рис. 1).

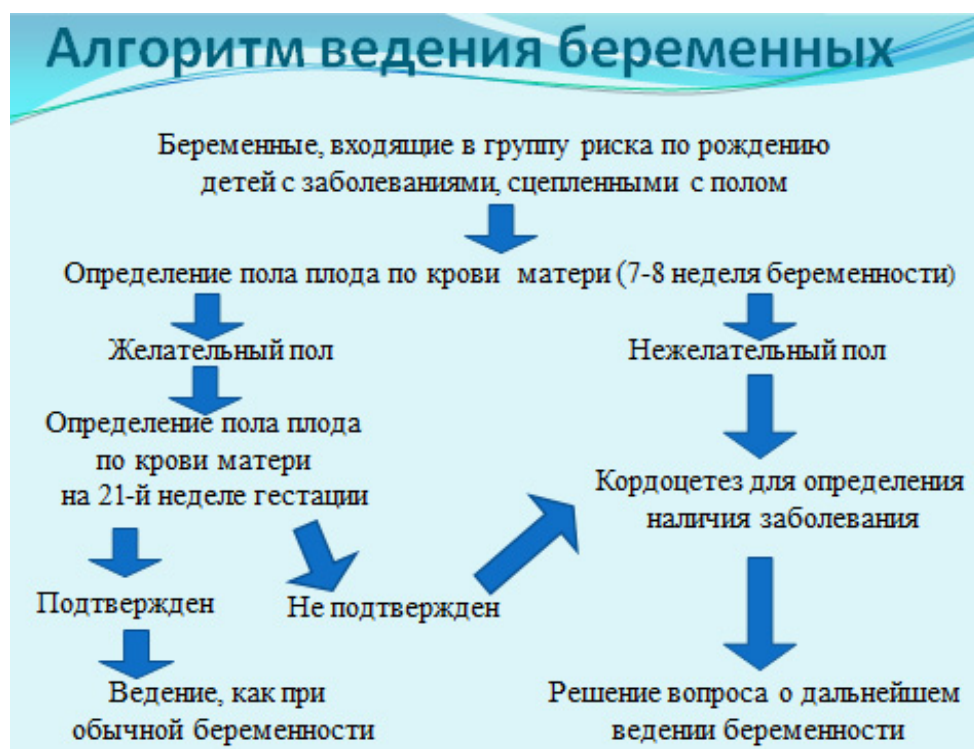


Рис. 1. Алгоритм ведения беременных с риском рождения детей с заболеваниями, сцепленными с полом

Медицинским показанием к определению пола плода на ранних сроках беременности является наличие семейного анамнеза по генетическим заболеваниям, сцепленным с полом. В остальных случаях исследование может проводиться по желанию родителей. При этом отношение к пренатальному определению пола плода в обществе очень неоднозначное, в некоторых странах активно обсуждается запрет на его проведение. Связано это с тем, что ро-

дители часто используют полученные данные для прерывания беременности при нежелательном для них поле ребенка. В связи с этим было принято решение проводить определение пола плода без медицинских на то показаний лишь с 12-й недели беременности.

Выводы

Анализируя данные научных исследований, можно сделать выводы:

– новые диагностические наборы для идентификации Y-хромосомы в крови матери «ДНК – пол ребенка» производства ООО «Ген-технология» можно рекомендовать для внедрения в медицинскую практику акушеров-гинекологов для ранней неинвазивной диагностики пола плода по крови беременной женщины;

– данный метод позволяет оптимизировать ведение беременных женщин с риском рождения детей с заболеваниями, сцепленными с полом.

Список литературы

1. Lo, Y. M. D. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum / Y. M. D. Lo // *Lancet*. – 1997. – Vol. 350. – P. 485–487.
2. Lo, Y. M. D. Circulating nucleic acids in plasma and serum: an overview / Y. M. D. Lo // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2001. – № 5. – P. 945.
3. Lo, Y. M. D. Prenatal diagnosis of the fetal RHD status by molecular analysis of maternal plasma / Y. M. D. Lo // *N. Engl. J. Med.* – 1998. – Vol. 399. – P. 1734–1738.
4. Неинвазивная диагностика резус-фактора и пола плода по крови беременной / В. А. Мельников, А. Н. Маркелова, А. Н. Тороповский, О. В. Тюмина, С. В. Стулова // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 11, ч. 1 – С. 72–74.
5. Национальное руководство по акушерству / под ред. Э. К. Айламазяна, В. И. Кулакова, В. Е. Радзинского [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1200 с.
6. Пренатальная диагностика наследственных и врожденных болезней / ред. Э. Л. Айламазян, В. С. Баранов. – М.: МЕДпресс-информ, 2006. – 415 с.
7. A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study / R. Dhallan, X. Guo, S. Emche [et al.] // *Lancet*. – 2007. – Vol. 369. – P. 474–481.
8. A prospective analysis of cell-free fetal DNA concentration in maternal plasma as an indicator for adverse pregnancy outcome / M. Bauer, G. Hutterer, M. Eder [et al.] // *Prenat. Diagn.* – 2006. – Vol. 26. – P. 831–836.
9. Агуреев, И. Е. Системный анализ оказания качества медицинской помощи с использованием современных автоматизированных технологий / И. Е. Агуреев, Е. Е. Атлас, С. В. Осокин // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. – 2007. – № 4 – С. 98–101.

References

1. Lo Y. M. D. *Lancet*. 1997, vol. 350, pp. 485–487.
2. Lo Y. M. D. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2001, no. 5, p. 945.
3. Lo Y. M. D. *N. Engl. J. Med.* 1998, vol. 399, pp. 1734–1738.
4. Mel'nikov V. A., Markelova A. N., Toropovskiy A. N., Tyumina O. V., Stulova S. V. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental research]. 2011, no. 11, part 1, pp. 72–74.
5. *Natsional'noe rukovodstvo po akusherstvu* [National guide in obstetrics]. Eds. E. K. Aylamazyan, V. I. Kulakov, V. E. Radzinsky et al. Moscow: GEOTAR-Media, 2009, 1200 p.
6. *Prenatal'naya diagnostika nasledstvennykh i vrozhdennykh bolezney* [Prenatal diagnostics of hereditary and congenital diseases]. Eds. E. L. Aylamazyan, V. S. Baranov. Moscow: MEDpress-inform, 2006, 415 p.

7. Dhallan R., Guo X., Emche S. et al. *Lancet*. 2007, vol. 369, pp. 474–481.
 8. Bauer M., Hutterer G., Eder M. et al. *Prenat. Diagn.* 2006, vol. 26, pp. 831–836.
 9. Agureev I. E., Atlas E. E., Osokin S. V. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Meditsinskie nauki* [University proceedings. Volga region. Medical sciences]. 2007, no. 4, pp. 98–101.
-

Маркелова Анастасия Николаевна

кандидат медицинских наук, ассистент,
кафедра акушерства и гинекологии № 1,
Самарский государственный
медицинский университет (Россия,
г. Самара, ул. Чапаевская, 89)

E-mail: markelova-an@mail.ru

Markelova Anastasiya Nikolaevna

Candidate of medical sciences, assistant,
sub-department of obstetrics
and gynecology №1, Samara State
Medical University (89 Chapaevskaya
street, Samara, Russia)

Тезикова Татьяна Аркадьевна

заместитель главного врача
по акушерству и гинекологии, Самарская
областная клиническая больница
им. М. И. Калинина (Россия, г. Самара,
ул. Ташкентская, 159)

E-mail: markelova-an@mail.ru

Tezikova Tat'yana Arkad'evna

Deputy chief physician for obstetrics
and gynecology, Samara region clinical
hospital named after M.I. Kalinin
(159 Tashkentskaya street, Samara, Russia)

Лиходедова Вера Александровна

кандидат медицинских наук,
заведующая акушерским
обсервационным отделением, Самарская
областная клиническая больница
им. М. И. Калинина (Россия, г. Самара,
ул. Ташкентская, 159)

E-mail: markelova-an@mail.ru

Likhodedova Vera Aleksandrovna

Candidate of medical sciences, head
of obstetric observation unit, Samara region
clinical hospital named after M. I. Kalinin
(159 Tashkentskaya street, Samara, Russia)

Мелодьева Елена Викторовна

врач акушер-гинеколог, Самарская
областная клиническая больница
им. М. И. Калинина (Россия, г. Самара,
ул. Ташкентская, 159)

E-mail: markelova-an@mail.ru

Melod'eva Elena Viktorovna

Obstetrician-gynecologist, Samara region
clinical hospital named after M. I. Kalinin
(159 Tashkentskaya street, Samara, Russia)

УДК 618.293-07:616.15-07-097.34

Маркелова, А. Н.

Неинвазивная пренатальная диагностика пола плода по крови беременной в акушерстве / А. Н. Маркелова, Т. А. Тезикова, В. А. Лиходедова, Е. В. Мелодьева // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – № 2 (30). – С. 119–124.