

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

О.Г. Сидорова, С.К. Кононова, А.Л. Сухомясова,
Э.К. Хуснутдинова

ПРОБЛЕМЫ ПРЕНАТАЛЬНОГО МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ МОНОГЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ С ДИНАМИЧЕСКИМИ МУТАЦИЯМИ В ЯКУТИИ

Введение

Моногенные заболевания, часто являющиеся причиной неизлечимых наследственных патологий, имеют неравномерную частоту встречаемости в различных популяциях. В зависимости от остроты медико-социальных проблем, государства самостоятельно выбирают стратегию предотвращения новых случаев моногенных болезней, вплоть до принятия государственных скрининговых программ.

Динамические мутации или мутации экспансии связаны с нестабильностью числа тринуклеотидных повторов в функционально значимых частях генов. Болезнь развивается лишь тогда, когда число повторов в данных сайтах превосходит определенный критический уровень. Для наследования таких мутаций характерны: различная пенетрантность (степень проявления фенотипических признаков); различия фенотипических проявлений в зависимости от того, получена мутация от матери или отца; феномен антиципации – нарастание тяжести проявления заболевания в последующих поколениях [1].

Понятие «пренатальное медико-генетическое консультирование» сформировалось благодаря применению в медицине современных методов диагностики (ультразвуковое исследование плода, инвазивные методы, молекулярно-генетические исследования), а также развитию взглядов на плод с его правом на сохранение здоровья и жизни в пренатальном периоде.

Для моногенных заболеваний инвазивная пренатальная диагностика (ИПД) в Якутии стала возможной с 2002 г. после внедрения в практику

Медико-генетической консультации РБ №1-НЦМ МЗ РС(Я) инвазивных методов получения плодного материала (ворсин хориона) и методов молекулярно-генетического тестирования моногенных заболеваний, распространенных в Якутии. Исследованиями установлено, что в якутской популяции наибольшую частоту встречаемости имеют поздне манифестирующие заболевания с динамическими мутациями: спиноцеребеллярная атаксия 1-го типа (СЦА1) и миотоническая дистрофия (МД) [3,4] (таблица). Впервые пренатальная диагностика была проведена в семьях,отягощенных СЦА1 и МД.

Медико-генетическое консультирование, молекулярно-генетическое тестирование и пренатальная диагностика СЦА1 и МД сопряжены со множеством биоэтических проблем, касающихся отношений врача и пациента, информированного согласия и конфиденциальности генетической информации [2].

В зарубежных публикациях изучение вопросов пренатальной диагностики моногенных поздне манифестирующих заболеваний посвящено в большинстве случаев хорее Гентингтона [5]. В России методы профилактики наследственных заболеваний с поздним началом манифестации остаются не разработанными. В данной статье на примере спиноцеребеллярной атаксии 1 типа и миотонической дистрофии обсуждены особенности пренатального медико-генетического консультирования при болезнях, обусловленных динамическими мутациями.

Материалы и методы

В исследование включались индивиды из семей, отягощенных СЦА 1 и МД, разного пола и возраста старше 18 лет, беременные из группы риска по заболеваниям. Использовались клиничко-генеалогический метод, пренатальное медико-генетическое консультирование, инвазивные методы пренатальной диагностики, ультразву-

ковое исследование плода, методы ДНК-диагностики (выделение ДНК, ПЦР, электрофорез, детекция мутантных аллелей). Всего было обследовано 20 семей с СЦА1 и 12 семей с МД за период с 2002 по 2006 гг.

Результаты и обсуждение

Высокая частота носителей мутации и высокая распространенность в якутской популяции СЦА1 и МД (соответственно 38,0 :100 000 и 21,3 :100 000) представляют собой одну из проблем медико-генетической службы в Республике Саха (Якутия). При отсутствии радикальных методов терапии данных заболеваний наиболее эффективным способом первичной профилактики моногенной патологии является пренатальная диагностика. Особенностью пренатального медико-генетического консультирования моногенных заболеваний является дифференцированный подход в зависимости от генетических особенностей и клинических проявлений наследственной болезни (таблица).

Особое значение приобретает процесс обсуждения врачом и консультирующейся семьей вопроса о возможности применения пренатальной диагностики для предотвращения новых случаев заболевания в семье.

Согласно международным этическим правилам, пренатальной диагностике должно обязательно предшествовать генетическое консультирование, при котором семья/женщина должна получить исчерпывающую информацию о возможностях применяемых методов, доступности лечения заболевания, риске заболевания у плода, вероятности неблагоприятных результатов теста, возможных альтернативах для беременных пораженным плодом, о медицинском риске для матери и плода при проведении процедуры и др. Главным принципом является добровольность пренатальной диагностики. Только будущие родители вправе решать, оправдывает ли генетическое заболевание проведение прена-

СИДОРОВА Оксана Гаврильевна – генетик-гинеколог ПЦ РБ№1-НЦМ; **КОНОНОВА Сардана Кононовна** – к.б.н., с.н.с. ЯНЦ РАМН и Правительства РС(Я); **СУХОМЯСОВА Айталина Лукинична** – к.м.н., зав. МКГ ПЦ РБ№1-НЦМ; **ХУСНУТДИНОВА Эльза Камилевна** – д.б.н., зав. отделом геномики НИИ БИГ УНЦ РАН.

Сравнительная характеристика спиноцереbellарной атаксии 1 (СЦА1) типа и миотонической дистрофии (МД)

Моногенное заболевание	Ген	Тип мутации	Возраст манифестации	Основной клинический фенотип	Феномен антиципации	Доступность для пренатального ДНК-тестирования
СЦА1	SCA1 6p21.3	(CAG) _n экспансия	От 30 до 50 лет, в редких случаях юношеская форма, отсутствие врожденной формы	Нейродегенеративный процесс, поражение клеток мозжечка и ЦНС	При передаче по отцовской линии	Доступна для пренатальной диагностики
МД	MD	(CTG) _n экспансия	Врожденная, детская, юношеская, классическая, взрослая формы	Преимущественно нервно-мышечные патологические признаки, мультисистемные нарушения	При передаче по материнской линии	Ограничена для применения в пренатальной диагностике

тальной диагностики или прерывание беременности пораженным плодом [6,7].

В настоящее время нами разрабатываются алгоритмы и этические правила пренатальной диагностики на основе международных документов.

Ниже приводим случаи пренатального медико-генетического консультирования в семьях, отягощенных СЦА 1 и МД.

СЦА1. Пробанд Е. в возрасте 26 лет без клинических проявлений атаксии в первом браке имела одного сына 1992 г. рождения, супруг был из отягощенной семьи, являлся асимптоматичным носителем мутации СЦА1, впоследствии у него развилась клиника заболевания. Сын пробанда генетическому тестированию не подвергался (здесь может быть случай гомозиготы по мутации СЦА1). До вступления во второй брак пробанд не знала о том, что и она является носителем мутации, как ее первый муж. В 2001 г. мать пробанда, она сама и ее брат прошли тестирование с положительным результатом обследования у всех троих. В данном случае мы имели дело с семьей, которая узнала о факте носительства СЦА1 впервые. Мать пробанда в возрасте 50 лет с начальными признаками мозжечковой атаксии имела мутантный ген SCA1 с числом CAG-повторов 30 (нормальная аллель) – 45 (экспансия). Ее дочь-пробанд была асимптоматичной носительницей мутантного гена с числом CAG-повторов – 44. Во втором браке у пробанда беременность наступала два раза. Первая беременность была прервана мед.бортом по собственному желанию, в МГК пробанд не обращалась. Во время второй беременности в 2002 г. при сроке 9 недель пробанд прошла пренатальное тестирование. Результат пренатальной диагностики показал наличие мутации у плода. Пробанд приняла собственное ре-

шение о прерывании беременности в сроке 10 недель. В 2006 г. пробанд вновь обратилась в МГК на ранних сроках беременности для пренатального тестирования. Результат ДНК-диагностики показал отсутствие патологического аллеля у плода. Беременность сохранена.

МД. В МГК пренатальная ДНК-диагностика была проведена двум сестрам, страдающим МД, из семьи Р. В семье МД болен отец 43 лет, у которого заболевание началось в возрасте 25 лет: гипомимия, миотонические явления в виде затруднения при открывании рта, разжимании пальцев рук, сжатых в кулак, дизартрия. Молекулярно-генетическая диагностика проводилась в НИИАиГ им. Д.О.Отта в Санкт-Петербурге в 1998 г., обнаружены аллель нормального размера (13 CTG-повторов) и экспансия величиной 300 нуклеотидных CTG-повторов методом блот-гибридизации по Саузерну, что соответствует классической форме МД и подтверждает диагноз миотонической дистрофии.

Старшая сестра С., 20 лет. Наблюдается в МГК с 14 лет. Первые признаки болезни начались в 6 лет, с возрастом наблюдается прогрессирование заболевания. Инвалидность с детства. В 2002 г. на сроке беременности 14 недель проведена пренатальная ДНК-диагностика МД у плода: на материале хориона, выявлены две аллели с нормальным числом CTG-повторов 11 и 13, что свидетельствовало об отсутствии мутации в гене МД. Беременность была сохранена. Ребенок осмотрен после рождения, клинические признаки МД отсутствовали. В 2005 г. С. обратилась в МГК по поводу второй беременности. ДНК-диагностика также показала наличие двух аллелей с нормальным числом CTG-повторов, т.е. отсутствие патологически удлиненного аллеля у плода. Таким образом, больная миотонической дис-

трофией С. родила двух здоровых детей.

Младшая сестра Л., 18 лет. Первые симптомы заболевания проявились в 10 лет. Наблюдается в МГК с 12 лет, инвалидность с детства. Заболевание в динамике прогрессирует, отмечаются мультисистемные проявления МД. В 2002 г. в сроке беременности 12 недель была проведена пренатальная ДНК-диагностика: у плода выявлено наличие только одного аллеля с числом CTG-повторов 11, что свидетельствовало об унаследовании нормальной аллели 11 от отца и удлиненного патологического аллеля от матери, который не визуализировался, таким образом было выявлено носительство мутации у плода. При консультировании после проведения пренатальной диагностики больной Л. было очень трудно понять информацию о носительстве мутации у плода, тем более что у родной сестры плод оказался здоровым. В конечном итоге на ее решение о прерывании беременности большее влияние, чем кто-либо, оказала мать – беременность была прервана. Спустя год, в 2003 г. Л. обратилась в МГК по поводу второй беременности. На сроке 11 недель ей была проведена пренатальная ДНК-диагностика и вновь с положительным результатом на носительство МД у плода. При консультировании у больной отмечалась подавленность, признаки стресса. Больная приняла решение родить ребенка: «Пусть он будет больной, такой же, как и я». У ребенка были выявлены признаки врожденной формы МД. В данное время наблюдается грубое отставание в психоречевом развитии, выраженная мышечная слабость, состоит на инвалидности.

Генетические и клинические особенности описанных выше заболеваний обуславливают различия в отношении семьи к пренатальной диагностике. Так, семьи с МД в случае заболевания

женщины имеют существенный риск рождения ребенка с врожденной формой и охотнее соглашаются на пренатальное ДНК-тестирование (даже на поздних сроках беременности), нежели семьи с СЦА1, при которой нет врожденной формы болезни. Но если семья с СЦА1 приняла решение родить только здорового ребенка, то практически нет отказов от пренатального тестирования, при этом женщины обращаются преимущественно в первом триместре беременности, что говорит о психологической готовности семьи.

В нашей практике был случай обращения здоровой женщины, у которой муж был носителем мутации СЦА1. Эта семья обращалась дважды: в первый раз было установлено, что ребенок – не носитель мутации, беременность сохранили; при втором обращении оказалось, что ребенок унаследовал патологическую аллель от отца, семья приняла решение прервать беременность.

Причинами отказов от проведения пренатального ДНК-тестирования при СЦА являются: поздний срок – второй триместр беременности, стрессовая ситуация, когда беременная информируется о своем положительном тесте на СЦА и решиться на пренатальное ДНК-тестирование уже психологически сложно. Многие молодые беременные из отягощенных семей с СЦА1 отказываются от пренатальной ДНК-диагностики, когда им предлагается пресимптоматическое тестирование, мотивируя тем, что не хотели бы знать свой диагноз на данном этапе жизни.

На решение семьи о согласии или отказе в прохождении дородового тестирования влияют многие обстоятельства, основными из которых являются:

- возраст и образовательный уровень супругов;
- имеется ли в семье близкий родственник (ребенок) с манифестирующей клиникой заболевания;
- кто из супругов является носителем мутантного гена;
- является ли брак повторным;
- какой по счету ребенок в семье и желанный ли;
- является ли заболевание поздно манифестирующим;
- морально-психологический климат в семье;
- имеется ли поддержка в семье со стороны представителей старшего поколения или родственников.

Например, в семье, отягощенной

МД, из которой четверо представительниц прошли пренатальное ДНК-тестирование, большую роль в формировании положительного репродуктивного поведения молодых женщин сыграла представительница старшего поколения с высоким образовательным уровнем и пользующаяся большим уважением в роду. В результате в данной семье родилось четверо детей – не носителей данного заболевания.

По нашим наблюдениям, основными причинами отказа от пренатального тестирования являются:

- проведение в период беременности пресимптоматического тестирования;
- планируемое исследование во втором триместре беременности;
- запрет супруга на прохождение ПД;
- влияние родителей на решение беременной о прохождении ИГД;
- отсутствие дипломированного психолога в штате МГК;
- генетическая непросвещенность населения.

Характерно, что о возможности неблагоприятного влияния результатов пренатального ДНК-тестирования самостоятельно интересуется очень небольшое количество обратившихся пациентов. Обследуемые не задают врачу вопросов о возможных последствиях пренатального тестирования и рисках процедуры ПД для плода и для беременной. Данный факт отчасти можно объяснить издавна сложившимся доверительным отношением пациентов к врачу.

В методическом плане пренатальное ДНК-тестирование плода на носительство мутации СЦА1 полностью доступно в отличие от МД, где анализ на наличие мутантной удлинённой аллели может дать результат только в семьях, информативных для молекулярного тестирования, что также создает определенные сложности при медико-генетическом консультировании. Тем не менее при обнаружении двух аллелей с нормальным числом СТГ-повторов возможно исключение МД.

Заключение

Таким образом, пренатальное медико-генетическое консультирование семей с моногенными заболеваниями сопряжено с проблемами клинического, методического и этического характера. Мы выделяем заболевания с динамическими мутациями в силу

их наибольшей распространенности в якутской популяции и серьезности этических проблем, с которыми сталкиваются как врачи-генетики, так и члены семей, обратившихся за медицинской помощью. В мире продолжают дискуссии о приемлемости пренатальной диагностики поздне манифестирующих наследственных заболеваний с прерыванием пораженного плода. В условиях развитых технологий западных стран в качестве альтернативы таким семьям все чаще предлагается воспользоваться предимплантационной ДНК-диагностикой. В России единственным методом профилактики моногенных болезней остается пренатальная диагностика. Необходимо выработать определенные алгоритмы пренатального медико-генетического консультирования, основанные на клинических наблюдениях и молекулярно-генетических исследованиях. Соблюдение основных биоэтических принципов, изложенных в международных документах, должно оставаться обязательным. Однако представляется возможным выработать собственные биоэтические правила, адаптированные к региональным и национальным особенностям.

Литература

1. **Горбунова В.Н.** Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний / В.Н. Горбунова, В.С. Баранов. – СПб.: Специальная литература, 1997. – 278с.
2. **Ижевская В.Л.** Этические аспекты пренатальной диагностики / В.Л. Ижевская // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / Под ред. А.Б. Масленникова. – Новосибирск, 2003. – Вып. 4. – С. 46-58.
3. **Коротов М.Н.** Миотоническая дистрофия в Республике Саха (Якутия) // Материалы рос. съезда мед. генетиков / М.Н. Коротов, З.М. Кузьмина. – Курск, 2000. – Ч. 1. – С. 31-32.
4. **Платонов Ф.А.** Структура и распространенность наследственной мозжечковой атаксии в Якутии / Ф.А. Платонов, С.К. Кононова, М.П. Гоголев // Неврологический журнал. – 2003. – Т. 8, № 6. – С. 12-15.
5. **Guidelines** for the molecular genetics predictive test in Huntington's Disease // Neurology. – 1994. – № 44. – P. 1533-1536.
6. **Proposed** International Guidelines on Ethical Issues in Medical Genetics and Genetic Services // Report of WHO Meeting on Ethical Issues in Medical Genetic / WHO Human Genetic Programme. – Geneva, 15-16 Desember 1997. – 15 p.
7. **WHO.** Primary health care approaches for prevention and control of congenital and genetic disorders. – 2000. – 77 p.