



## ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

© И.Ю. Коган, П.П. Яковлев, А.М. Гзгзян, И.Д. Мекина, М.А. Маретина, Т.Э. Иващенко,  
Е.В. Мишарина, И.О. Крихели

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»,  
Санкт-Петербург, Россия

Для цитирования: Коган И.Ю., Яковлев П.П., Гзгзян А.М., и др. Преимплантационное генетическое тестирование моногенных заболеваний. Описание клинического случая // Журнал акушерства и женских болезней. — 2018. — Т. 67. — № 1. — С. 92–95. doi: 10.17816/JOWD67192-95

Поступила в редакцию: 26.12.2017

Принята к печати: 15.01.2018

■ Преимплантационное генетическое тестирование применяется для выявления хромосомных структурных перестроек, моногенных/одинокных генных дефектов и анеуплоидий. В статье описан клинический случай преимплантационного генетического тестирования в семье носителей мутации гена *SMN1* с последующим рождением здорового ребенка.

■ **Ключевые слова:** преимплантационное генетическое тестирование; моногенные болезни; спинальная мышечная атрофия.

## A PREIMPLANTATION GENETIC TESTING OF MONOGENIC DISEASES. DESCRIPTION OF CLINICAL CASE

© I.Yu. Kogan, P.P. Iakovlev, A.M. Gzgzyn, I.D. Mekina, M.A. Maretina, T.E. Ivaschenko, E.V. Misharina, I.O. Krikheli

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

For citation: Kogan IYu, Iakovlev PP, Gzgzyn AM, et al. A preimplantation genetic testing of monogenic diseases. Description of clinical case. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2017;67(1):92-95. doi: 10.17816/JOWD67192-95

Received: 26.12.2017

Accepted: 15.01.2018

■ Preimplantation genetic testing performed to analyze the chromosomal structural rearrangements, monogenic/single gene defects and aneuploidies. The aim of this study is to show the discussion of a clinical case of preimplantation genetic testing in the family of *SMN1* gene mutation carriers with the subsequent birth of a healthy child.

■ **Keywords:** preimplantation genetic testing; monogenic diseases; spinal muscular atrophy.

### Введение

Основной целью репродуктивной медицины является рождение здорового ребенка. Развитие новых технологий и методов исследований в программах вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) позволяет не только выявить хромосомные аномалии, определить пол эмбриона на доимплантационном этапе, но и определить и предупредить рождение детей с наследственной патологией. С этой целью применяются преимплантационный генетический скрининг и преимплантационная генетическая диагностика.

Согласно глоссарию обществ в области репродуктивной медицины 2017 г. данные термины объединены в преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ). ПГТ выполняется для HLA-типирования или определения генетических аномалий путем анализа ДНК, полученной из ооцитов (полярных телец) или эмбрионов (на стадии дробления или бластоцисты). Оно применяется для выявления хромосомных структурных перестроек, моногенных/одинокных генных дефектов и анеуплоидий [1]. Последнее особенно актуально, так как приблизительно половина эмбрионов,

полученных в протоколах ЭКО, имеет неправильное количество хромосом [2], а анеуплоидия, как известно, является причиной примерно 50–70 % выкидышей в популяции [3].

Конкретные генетические аномалии, которые обнаружены у одного или обоих родителей, например, моногенные болезни, приводящие к тяжелой, нередко смертельной патологии у детей, могут служить показанием для ПГТ. Результаты ПГТ позволяют выбрать оптимальные эмбрионы для последующего переноса в полость матки и рождения здорового ребенка. К таким заболеваниям можно отнести муковисцидоз, миодистрофию Дюшенна, синдром ломкой (фрагильной) X-хромосомы, гемофилию А и В, фенилкетонурию, атаксию Фридрейха, врожденную вирилизующую гиперплазию коры надпочечников, спинально-мышечную атрофию и др.

Наследственные спинальные мышечные атрофии (СМА) — генетически гетерогенная группа заболеваний, характеризующихся прогрессирующей дегенерацией и гибелью двигательных нейронов передних рогов спинного мозга, а в ряде случаев и ядер ствола головного мозга. Болезнь выражается в постепенном развитии симметричных вялых параличей и атрофии поперечно-полосатой мускулатуры, качественном перерождении соответствующих мышц и снижением их возбудимости [4]. Наиболее распространенной формой в этой группе заболеваний является СМА с аутосомно-рецессивным типом наследования. К данной патологии приводят нарушения в функционировании гена *SMN1* (survival motor neuron 1 — ген фактора выживания мотонейрона-1), характеризующиеся потерей моторных нейронов спинного мозга, мышечной атрофией и параличом [5]. *SMN1* присутствует в виде единственной копии в геноме всех эукариотических организмов и располагается на длинном плече 5-й хромосомы (5q11.2–q13.3) [6]. Установлено, что 90–95 % пациентов со СМА имеют гомозиготную делецию 7-го экзона *SMN1* (из них 60–70 % — еще и 8-го экзона); 2–5 % — гетерозиготную делецию 7-го экзона *SMN1* в компаунде с какой-либо точечной мутацией.

Распространенность данного заболевания составляет 1 на 10 тыс. новорожденных. Частота гетерозиготного носительства — 1 на 40–60 человек [7]. Выделяют четыре клинических типа проксимальной СМА на основе различий в возрасте начала, тяжести течения и продолжительности жизни пациентов [8].

## Клинический случай

Пациентка К., 29 лет, в 2016 г. обратилась в ФГБНУ НИИ АГиР им. Д.О. Отта в отделение вспомогательных репродуктивных технологий по поводу носительства делеции в 7-м и 8-м экзонах в гене *SMN1*.

В анамнезе у пациентки рождение ребенка со спинальной мышечной атрофией плода. В 2014 г. на сроке 39 недель через естественные родовые пути был рожден доношенный мальчик со спинально-мышечной атрофией I типа. Ребенок умер в 6 месяцев. В дальнейшем, в 2015 г. у пациентки была неразвивающаяся беременность на сроке 5 недель. И в том же году было выполнено искусственное прерывание беременности на сроке 14 недель по медицинским показаниям. При проведении инвазивной пренатальной диагностики у плода была подтверждена спинальная мышечная атрофия I типа.

Из анамнеза: менструации с 14 лет, цикл регулярный, по 6 дней через 27 дней, обильные, болезненные в первый день цикла. Гинекологические заболевания: аденомиоз, параовариальная киста слева. Половая жизнь с 20 лет, брак первый. Индекс массы тела — 20 кг/м<sup>2</sup> (рост 167 см, масса тела 56 кг). Соматических заболеваний не выявлено. При проведении ультразвукового исследования органов малого таза на этапе подготовки к программе ЭКО: тело матки размером 52 × 41 × 50 мм, миометрий диффузно-однородный, эндометрий соответствует дню менструального цикла, М-эхо 4 мм, яичники нормальных размеров, в правом яичнике определяется 2 антральных фолликула до 5 мм, в левом — 4 фолликула до 5 мм (исследование проводилось на 3-й день менструального цикла).

Супругу 36 лет, для супруга данный брак первый. Соматически здоров, по данным спермограммы — нормозооспермия.

Учитывая носительство делеции в 7-м и 8-м экзонах в гене *SMN1* у супругов, было рекомендовано ЭКО/ИКСИ, ПГТ спинальной мышечной атрофии с последующей инвазивной пренатальной диагностикой на СМА в первом триместре беременности.

При выполнении ЭКО использовали протокол с антагонистами гонадолиберина (цетротид, Merck Serono, Швейцария). Введение рекомбинантного ФСГ (рФСГ) (пурегон, Organon, Нидерланды) проводилось ежедневно со 2–3-го дня менструального цикла, суммарная доза гонадотропинов составила 1400 МЕ, длительность стимуляции — 7 дней. Критерием

назначения триггера финального созревания ооцитов являлось достижение тремя лидирующими фолликулами среднего размера не менее 17 мм. В качестве триггера овуляции использовался препарат хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) в дозе 10 000 МЕ (прегнил, Organon, Нидерланды). Через 36 часов после введения триггера овуляции проводилась трансвагинальная пункция фолликулов и аспирация ооцитов под давлением 140 мм рт. ст. с использованием однопросветной иглы диаметром 17G (Cook Medical, Bloomington, IN, USA).

При трансвагинальной пункции яичников аспирировано 4 ооцит-кумулясных комплекса. Все полученные клетки были зрелые, на стадии метафазы II. Оплодотворение осуществляли методом ИКСИ. Оплодотворение оценивали через 17 часов. Все зиготы содержали два пронуклеуса. Для культивирования использовали среды Origio (Дания). Биопсию эмбрионов проводили на стадии компактной морулы [9] для преимплантационного тестирования спинально-мышечной атрофии. После восстановления компактизации эмбрионы криоконсервировали на средах «ПротеинСинтез» (Россия).

Методом ПЦР со вложенными праймерами и последующим SSCP-анализом исследован 7-й экзон гена *SMN1*, а также проанализированы молекулярные STR-маркеры D5S610, D5S1556, D5S1417, D5S2848 в материале биопсии трофэктодермы и семье пробанда. По результатам исследования определено, что возможен перенос двух эмбрионов. В одном из них было выявлено гетерозиготное носительство делеции гена *SMN1* материнского происхождения, а в другом — гетерозиготное носительство делеции гена *SMN1* отцовского происхождения. Все эмбрионы были криоконсервированы.

Через два месяца в протоколе с применением заместительной гормональной терапии препаратами эстрогена и прогестерона был совершен перенос одного криоконсервированного эмбриона (ПЭ) на стадии ранней бластоцисты (1АА). Качество эмбрионов оценивалось согласно морфологическим критериям оценки, предложенным D. Gardner, W. Schoolcraft [10]. По результатам ПГТ данный эмбрион имел гетерозиготное носительство делеции гена *SMN1* отцовского происхождения. Толщина эндометрия на момент ПЭ составляла 9 мм. Через 2 недели после ПЭ была диагностирована биохимическая беременность с последующим ультразвуковым подтверждением клинической беременности. В дальнейшем, в 7/8 недель бере-

менности при наличии признаков угрозы прерывания беременности и определении участка ретрохориальной гематомы 29 × 18 мм при ультразвуковом исследовании пациентка была госпитализирована в отделение эндокринной гинекологии для проведения сохраняющей терапии.

При сроке беременности 14/15 недель была проведена пренатальная инвазивная диагностика (трансабдоминальная плацентобиопсия). По результатам пренатального кариотипирования было получено заключение о нормальном женском кариотипе. При молекулярно-генетической диагностике исследованы 7-й и 8-й экзоны гена *SMN1* с обнаружением делеции 7-го и 8-го экзонов гена *SMN1* в гетерозиготном состоянии с вероятностью спинальной мышечной атрофии у плода менее 1 %.

Беременность протекала без особенностей. При сроке 38/39 недель беременная была госпитализирована в родовое отделение. Роды планировалось вести через естественные родовые пути. На сроке 40 недель была проведена подготовка к родам с применением мифепристона (по схеме 200 мг 2 раза с интервалом в 24 часа). В 40/41 неделю у беременной произошло преждевременное излитие околоплодных вод. Учитывая отсутствие развития родовой деятельности было проведено медикаментозное родоразрешение. Через 7 часов 10 минут от начала родовой деятельности родилась живая доношенная девочка 3390 г длиной 52 см. Оценка по шкале Апгар 8/8 баллов. Было проведено ручное отделение и выделение задержавшихся частей последа. Роженица была выписана домой с ребенком на 5-е сутки после родов. Послеродовой период протекает без особенностей.

Таким образом, в семьях с высоким риском рождения больного ребенка ПГТ позволяет выявить у эмбриона генетические отклонения до его переноса в полость матки, что снижает риск рождения ребенка с генетической патологией.

## Литература

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, 2017. *Fertil Steril.* 2017;108(3):393-406. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.06.005.
2. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, et al. Aneuploidy across individual chromosomes at the embryonic level in trophoctoderm biopsies: changes with patient age and chromosome structure. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31(11):1501-1509. doi: 10.1007/s10815-014-0333-x.

3. Hassold T, Hall H, Hunt P. The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. *Hum Mol Genet.* 2007;16 Spec No 2:R203-208. doi: 10.1093/hmg/ddm243.
4. Faravelli I, Nizzardo M, Comi GP, Corti S. Spinal muscular atrophy-recent therapeutic advances for an old challenge. *Nat Rev Neurol.* 2015;11(6):351-359. doi: 10.1038/nrneurol.2015.77.
5. Murray LM, Comley LH, Thomson D, et al. Selective vulnerability of motor neurons and dissociation of pre- and post-synaptic pathology at the neuromuscular junction in mouse models of spinal muscular atrophy. *Hum Mol Genet.* 2008;17(7):949-962. doi: 10.1093/hmg/ddm367.
6. Miguel-Aliaga I, Chan YB, Davies KE, van den Heuvel M. Disruption of SMN function by ectopic expression of the human SMN gene in *Drosophila*. *FEBS Lett.* 2000;486(2):99-102. doi: 10.1016/S0014-5793(00)02243-2.
7. Pearn J. Classification of Spinal Muscular Atrophies. *Lancet.* 1980;315(8174):919-922. doi: 10.1016/S0140-6736(80)90847-8.
8. Crawford TO. Spinal Muscular Atrophies. In: Jones HR, De Vivo DC, Darras BT, editors. *Neuromuscular Disorders of Infancy, Childhood, and Adolescence. A Clinician's Approach.* London; 2003. P. 145-166.
9. Захарова Е.Е., Залетова В.В. Проведение биопсии эмбрионов человека на стадии компактной морулы повышает диагностическую надежность преимплантационного генетического скрининга (ПГС) и обеспечивает высокую частоту наступления беременности (по данным 215 циклов ЭКО-ИКСИ с ПГС) // Проблемы репродукции. — 2013. — № 4. — С. 75–81. [Zakharova EE, Zaletova VV. Compact morula stage biopsy improves the diagnostic reliability of preimplantation genetic screening (pgs) and provides a high pregnancy rate (outcome of 215 cycles of ivf-icsi-pgs). *Modern reproductive technologies.* 2013;(4):75-81. (In Russ.)].
10. Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1999;11(3):307-311. doi: 10.1097/00001703-199906000-00013.

■ **Адреса авторов для переписки (Information about the authors)**

*Игорь Юрьевич Коган* — д-р мед. наук, член-корр. РАН, профессор, научный секретарь. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия. **E-mail:** ikogan@mail.ru.

*Павел Павлович Яковлев* — аспирант ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», отделение вспомогательных репродуктивных технологий, Санкт-Петербург, Россия. **E-mail:** iakovlevpp@gmail.com.

*Александр Мкртичевич Гзгзян* — д-р мед. наук, руководитель отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Ирина Дмитриевна Мекина* — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отделения вспомогательных репродуктивных технологий ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия.

*Марианна Александровна Маретина* — младший научный сотрудник лаборатории пренатальной диагностики врожденных и наследственных болезней. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия. **E-mail:** marianna0204@gmail.com.

*Татьяна Эдуардовна Иващенко* — д-р биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории пренатальной диагностики врожденных и наследственных болезней. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия.

*Елена Владимировна Мишарина* — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения гинекологической эндокринологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия. **E-mail:** mishellena@gmail.com.

*Инна Отаровна Крихели* — канд. мед. наук, научный сотрудник отделения вспомогательных репродуктивных технологий. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Igor Yu. Kogan* — PhD, AM RAM, Scientific Secretary. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** ikogan@mail.ru.

*Pavel P. Iakovlev* — PhD student, The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iakovlevpp@gmail.com.

*Alexander M. Gzgzian* — MD, Head of Department Reproductive Technologies. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iagmail@ott.ru.

*Irina D. Mekina* — Candidate of Biological Sciences. Research fellow of Department Reproductive Technologies. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia.

*Marianna A. Maretina* — junior research associate of the Laboratory of Prenatal Diagnostics of congenial and Hereditary Diseases. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** marianna0204@gmail.com.

*Tatyana E. Ivaschenko* — Dr. Sci, Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Prenatal Diagnostics of Congenial and Hereditary Diseases. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia.

*Elena V. Misharina* — PhD, Senior Researcher at the Department of Endocrinology. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** mishellena@gmail.com.

*Inna O. Krikheli* — MD, Research fellow of Department Reproductive Technologies. The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** iagmail@ott.ru.