

# Выявить болезнь у эмбриона

*Специалисты НИИ медицинской генетики в Томске помогают диагностировать наследственную патологию еще до наступления беременности, используя новый более точный метод исследования хромосомного набора эмбриона при осуществлении ЭКО. Эта технология позволяет не касаться эмбриона, а использовать для анализа внеклеточную ДНК, содержащуюся в жидкости в полости развивающегося зародыша. О перспективах методики корреспонденту «МВ» Ольге Коберник рассказал руководитель лаборатории цитогенетики НИИ медицинской генетики Игорь ЛЕБЕДЕВ.*

— Игорь Николаевич, кто первым предложил использовать для анализа не ДНК клетки самого эмбриона, а внеклеточную ДНК?

— В 2013 году вышла первая публикация итальянских исследователей, которые обнаружили, что внутри развивающегося зародыша на ранних стадиях онтогенеза (на 4–5 день) появляется жидкость, в составе которой есть молекулы ДНК. Они попадают туда из клеток, которые начинают погибать, разрушаться, это нормальный процесс клеточной дифференцировки на данном этапе развития. И появилась идея, что эту ДНК можно использовать для диагностики хромосомных особенностей самого эмбриона.

Но возник вопрос: поскольку это ДНК из погибших клеток, то насколько она реально представляет генетический состав сохранившихся клеток? Этот вопрос и является предметом наших исследований.

— Почему нельзя просто брать клетки зародыша, как делают исследователи сейчас?

— Во-первых, не всегда мы можем провести биопсию эмбриона, часто есть риск, что эмбрион может остановиться в развитии, поэтому ему противопоказана любая дополнительная манипуляция.

Вторая проблема биопсии эмбриона — генетическая. На ранних этапах эмбрионального развития очень высока частота хромосомного мозаицизма. Это ситуация, когда одна клетка имеет одну мутацию, другая может иметь другую мутацию, третья имеет нормальный хромосомный набор. Мозаичны 60% зародышей человека, когда он состоит из 8 клеток. Мы можем выявить мутацию в одной клетке, а другие клетки будут нормальными, и этот эмбрион лишаем возможности развития. Еще хуже, когда происходит наоборот: исследуемая клетка не несет мутаций, а в оставшихся они есть.

— Получается, что забор жидкости в таких случаях безопаснее?

— Забор жидкости из полости эмбриона — это процедура, которая уже много лет проводится традиционно перед заморозкой blastocyst. Не все эмбрионы в рамках одного цикла переносятся женщине, часть можно заморозить и оставить для следующих попыток, если первая беременность не состоялась. Чтобы при размораживании не произошло разрушение клеток, лишняя жидкость отсасывается и выбрасывается. Эта процедура в строгом смысле не является инвазивной, потому что есть прокол, но нарушения клеточного состава не происходит.

— А ДНК жидкости соответствует генетическому набору всех клеток сразу?

— Это мы хотим узнать в ходе исследований. Итальянцы показали, что внеклеточная ДНК есть, с ней можно работать. Но они не доказали, каким клеткам она соответствует — только погибшим или и оставшимся. В чем идея нашей работы? С согласия родителей мы исследуем эмбрионы, которые не пригодны для переноса по морфологическим критериям и должны быть утилизированы. Мы берем клетки, окружающие эмбрион (клетки трофобласты, из которых

чтобы посчитать число хромосом, например, FISH-диагностика на 5–7 хромосом, — для выявления распространенных хромосомных аномалий, которые клинически связаны с синдромами Дауна, Патау, Эдвардса. Но дисбаланс по всем остальным хромосомам остается при этом незамеченным, и эмбрион может или вообще не прижиться, или произойдет выкидыш. Преимущества микрочипов в том, что мы анализируем все хромосомы одновременно. Такая диагностика — традиционная, с использованием blastomeres, а не внеклеточ-

чивает масштаб исследований и повышает информативность оценки генетического качества эмбрионов — это дополнительный инструмент, который позволит врачам принять верное решение.

— На какой день после оплодотворения проводится диагностика ДНК жидкости?

— О диагностике пока говорить преждевременно. Сейчас необходимо провести научную работу, а затем клинические испытания, по результатам которых метод может быть рекомендован для практического применения. Исследование проводится на 4–5 день, когда появляется жидкость и клеток уже более 200–300. На этой стадии начинается их «отсев». Вообще 5–6 день — это уже критический период, когда эмбрион нужно пересаживать, а с момента забора материала на анализ требуется 24 часа. Когда мы сдвигаем время диагностики на «последний момент», на нас начинают работать сама природа. Она «убирает» некачественные эмбрионы, они останавливаются в развитии, становится видно, что это материал худшего качества. Поэтому эмбриолог может отобрать для диагностики те, которые действительно являются кандидатами на перенос, чтобы мы могли убедиться, что они не только в морфологическом плане хороши, но еще и с генетикой здесь все в порядке.

— Если природа сама «выбрасывает» генетически дефектные эмбрионы, почему рождаются дети с пороками развития?

— Гибель эмбрионов с хромосомными мутациями высока, некоторые не доживают до наступления беременности. Но существуют типы мутаций, совместимые с прохождением этапов внутриутробного развития. Например, при синдроме Дауна дети рождаются, но это не значит, что все организмы с лишней 21 хромосомой проходят отбор — летальность таких эмбрионов доходит до 99%. Эти процессы обусловлены клиническим полиморфизмом, сочетанием различных наследственных и средовых факторов, которые обеспечивают возможность развития.

— Какова при этом роль полиморфизма?

— В своих исследованиях мы используем технологии, которые очень глубоко внедряются в наш геном и выявляют такую особенность, как полиморфизм. Друг от друга мы все отличаемся разными сочетаниями нуклеотидов, и не всегда известна клиническая значимость этой вариативности.

Параллельно в нашей лаборатории занимаются изучением цитогенетики умственной отсталости

у детей: выявляем хромосомные и микрохромосомные дефекты у детей с недифференцированной умственной отсталостью. Это ситуации, когда все возможные известные факторы — средовые, генетические — исключены, у матери нет вредных привычек, во время беременности она не болела, не принимала лекарства, родовых травм не было, а проблемы у ребенка есть. Мы проводим диагностику и находим причину — микроструктурную хромосомную перестройку, которая выявляется только микрочиповыми технологиями. Она затрагивает регионы хромосом, где есть гены, имеющие отношение к функции мозга. Становится понятным, почему это произошло. Но самое загадочное в том, что в некоторых случаях мы подобные изменения находим у родителей, клинически абсолютно здоровых.

Последний случай: ребенок с умственной отсталостью имеет лишнюю копию гена, и такую же мутацию имеют его папа и бабушка, но они здоровы. Здесь может наблюдаться особый генетический эффект: проявление болезни может зависеть от пола родителя, от которого передается мутация.

Если бы гипотетически мы могли провести диагностику эмбриона этой паре до беременности, что бы мы им посоветовали? Ведь двое членов семьи, имея такую же мутацию, здоровы, и это может быть вариант нормы, то есть полиморфизм. Другое дело, когда мы попадаем в регион ДНК, который неоднократно описан в литературе, и знаем, что при такой мутации в 100% случаев будет данный дефект.

Диагностика в этой области медицины сопряжена с очень высокой зависимостью от фундаментальной науки.

— То есть это открытие ничего не дало бы родителям?

— Напротив! Ребенку, которого мы обследовали, 13 лет. Все это время семья жила в неведении, почему это случилось. Родители хотели иметь второго здорового ребенка, но боялись повторения сценария. Теперь мы можем провести доимплантационную диагностику и гарантировать, что у ребенка не будет умственной отсталости, связанной с этим конкретным хромосомным нарушением.

Нам нужно накапливать данные, но, к сожалению, многие семьи отказываются от диагностики. А уже есть современные технологии, над которыми работают ученые во всем мире для того, чтобы обеспечить рождение здорового потомства. ■



формируется плацента), клетки внутренней клеточной массы, которые дают начало зародышу, и жидкость. И на трех уровнях смотрим, есть ли соответствия по составу хромосомного набора.

Если мы анализируем 1–2 клетки с целью выявления нарушений по всем хромосомам, то не знаем, что осталось в других клетках. В ситуации же, когда ДНК попадает в жидкость из разных клеток, точность становится выше, причем мы можем взять несколько клеток и жидкость одновременно.

— Какими методиками вы пользуетесь в своих исследованиях?

— Методика, которую мы используем для хромосомного анализа, — это сравнительная геномная гибридизация. Микрочиповое исследование очень дорого, не все клиники, которые практикуют доимплантационную диагностику, используют такие методы. Есть более простые технологии,

ночной ДНК — применяется сейчас только на нашей базе и в московском Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова.

Когда в Томске заговорили о создании перинатального центра, директор нашего института академик РАН Валерий Павлович Пузырев решил, что это учреждение должно тесно сотрудничать с институтом, чтобы обеспечить циклы ЭКО генетическим сопровождением. Такую идею приняли, и мы работаем тремя коллективами: Институт медицинской генетики обеспечивает тестирование, на базе Областного перинатального центра проводятся обследование, подготовка женщин и сама процедура ЭКО, а эмбриологическую составляющую обеспечивают специалисты Красноярского центра репродуктивной медицины.

На исследования внеклеточной ДНК нам выделен грант РФФИ сроком на три года. Методика увели-