

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ



Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

2016 г.

регистрационный № 191-1115

МЕТОДЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ СИСТЕМНЫХ
СКЕЛЕТНЫХ ДИСПЛАЗИЙ И ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЙ
ВЕРИФИКАЦИИ ДИАГНОЗА В ПЕРВОМ И ВТОРОМ ТРИМЕСТРАХ
БЕРЕМЕННОСТИ
инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический
центр «Мать и дитя»

АВТОРЫ:

Лазаревич А.А., к.м.н Новикова И.В., к.м.н. Прибушеня О.В., к.м.н.
Ершова-Павлова А.А., к.м.н. Наумчик И.В.

Минск, 2015

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложены методы пренатальной диагностики и патоморфологической верификации диагноза системных скелетных дисплазий, использование которых позволит повысить эффективность пренатального ультразвукового (УЗ) выявления на ранних сроках беременности системных скелетных дисплазий (ССД, по МКБ-10 Q77.0-Q78.0) у плода и патоморфологической верификации пренатально установленного диагноза во 2 и 1 триместрах беременности.

Область применения

Инструкция предназначена для врачей ультразвуковой диагностики и врачей-генетиков медико-генетических центров (отделений, консультаций), врачей патологоанатомов, врачей лабораторной диагностики.

Показания к применению

Беременность 1 триместра (10 недель 5 дней - 13 недель 6 дней) и 2 триместра (18-21 неделя).

Противопоказания к применению

Противопоказаний к применению не имеется.

Перечень необходимого оборудования и реагентов

1. Ультразвуковые аппараты экспертного класса, оснащенные трансабдоминальными (4-6 МГц) и вагинальными (6-8 МГц) датчиками.
2. Оборудование для патоморфологического исследования постабортного материала – стереомикроскоп.
3. Реагенты для гистологического исследования.

Выделение беременных группы риска

Ультразвуковое исследование плода:

1. Беременные женщины, с отягощенным генетическим анамнезом по ССД, у которых имеются дети, родители, близкие родственники с ССД, прерывание беременности в связи с выявлением ССД у плода.

2. Беременные женщины, у которых при УЗИ в 1 триместре беременности у плода выявлено: увеличение толщины воротникового пространства (NT) 3 мм и более; ограничение подвижности; визуальное укорочение конечностей; визуальное укорочение отдельных сегментов конечностей; вынужденное, не типичное положение конечностей.

3. Беременные женщины, у которых при УЗИ во 2 триместре беременности у плода выявлено: отставание бедренной и других костей на 3 недели и более от акушерского срока; снижение эхогенности костей; ограничение подвижности; особенности анатомии, деформация, необычное положение конечностей.

Для патоморфологического исследования:

1. Плоды, абортированные по медико-генетическим показаниям в 1 и 2 триместрах беременности.

ПЕРВЫЙ ТРИМЕСТР БЕРЕМЕННОСТИ

Алгоритм выполнения УЗИ в 1 триместре (10 недель 5 дней - 13 недель 6 дней) беременным групп риска

1. Проведение фетометрии.

1.1 Базовая фетометрия и осмотр плода проводятся согласно приказа Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 30.01.2012 года №83 «О совершенствовании организации проведения пренатальных ультразвуковых исследований по выявлению пороков

развития и хромосомной патологии у плода в Республике Беларусь» (далее – Приказ).

1.2 При копчико-теменном размере (КТР) 38-80 мм оценивается носовая кость (NB) в средне-сагиттальном срезе профиля плода при увеличении изображения таким образом, чтобы голова плода и верхняя часть грудной клетки занимали весь экран.

1.3 Интракраниальное пространство (IT) измеряется при увеличении изображения (на экране только голова и грудная клетка плода), в строго средней сагиттальной плоскости сканирования. Оценивается максимальный размер по внутренним контурам пространства.

1.4 Окружность головы плода и бипариетальный диаметр (БПД) измеряются при поперечном (аксиальном) сканировании.

1.5 Окружность грудной клетки плода измеряется на уровне 4-ех камерного среза сердца плода при поперечном сканировании.

1.6 Окружность живота измеряется при поперечном сканировании плода при одновременной визуализации желудка.

2. Измерение сегментов конечностей плода (анатомическая часть, включающая мягкие ткани)

Сегменты верхних конечностей: плечо – от плечевого до локтевого сустава; предплечье – от локтевого до лучезапястного сустава; кисть – от лучезапястного сустава до максимально удалённой точки кисти (дистальная фаланга третьего пальца).

Сегменты нижних конечностей: бедро – от проксимального конца бедренной кости до наружной точки коленного сустава; голень – от верхней точки согнутого колена до подошвенной поверхности пятки; стопа – от максимально удалённой точки на пятке до дистальной фаланги первого или второго пальца.

3. Измерение длинных трубчатых костей плода

Измерение проводят при расположении конечности в сагиттальной, парасагитальной или поперечной плоскости. Необходимо достигнуть максимально четкого изображения зон окостенения костей (гиперэхогенные зоны). Для получения корректных данных изображения исследуемая конечность должна быть в разогнутом положении и на максимальном увеличении. Измеряется расстояние между максимально удалёнными участками костей (верхняя конечность – плечевая, локтевая, лучевая кости; нижняя конечность – бедренная, большеберцовая и малоберцовая кости).

4. Качественная оценка

4.1 Оценка подвижности плода: активная, сниженная, отсутствует.

4.2 Определение типа укорочения конечностей: ризомелия – укорочение проксимального отдела (плечо, бедро), мезомелия – укорочение среднего отдела (предплечье, голень), акромелия – укорочение дистального отдела (кисть, стопа), микромелия – укорочение всей конечности.

4.3 Оценка эхогенности и формы трубчатых костей: искривление, деминерализация, переломы, отсутствие кости.

4.4 Оценка кистей и стоп: норма, полидактилия, синдактилия, эктродактилия, деформация фаланг, гипоплазия пальцев, латеральное отведение больших пальцев, позиционные деформации кистей, стоп.

4.5 Оценка грудной клетки: гипоплазия, узкая.

4.6 Оценка черепа: снижение эхогенности костей черепа, изменение формы черепа.

4.7 Оценка структур лица (профиль, переносье, глазницы, верхняя и нижняя челюсти).

4.8 Оценка позвоночника: снижение эхогенности, spina bifida, полупозвонки, дезорганизация позвонков.

4.9 Исследование внутренних органов.

Все полученные данные заносятся в форму учета УЗ фетометрии плода 1 триместра беременности (приложение А)

5. Дифференциальная УЗ диагностика ССД у плодов 1 триместра беременности

Уточнение диагноза ССД у плодов 1 триместра проводится в соответствии с алгоритмом дифференциальной УЗ диагностики представленном на рисунке 1.

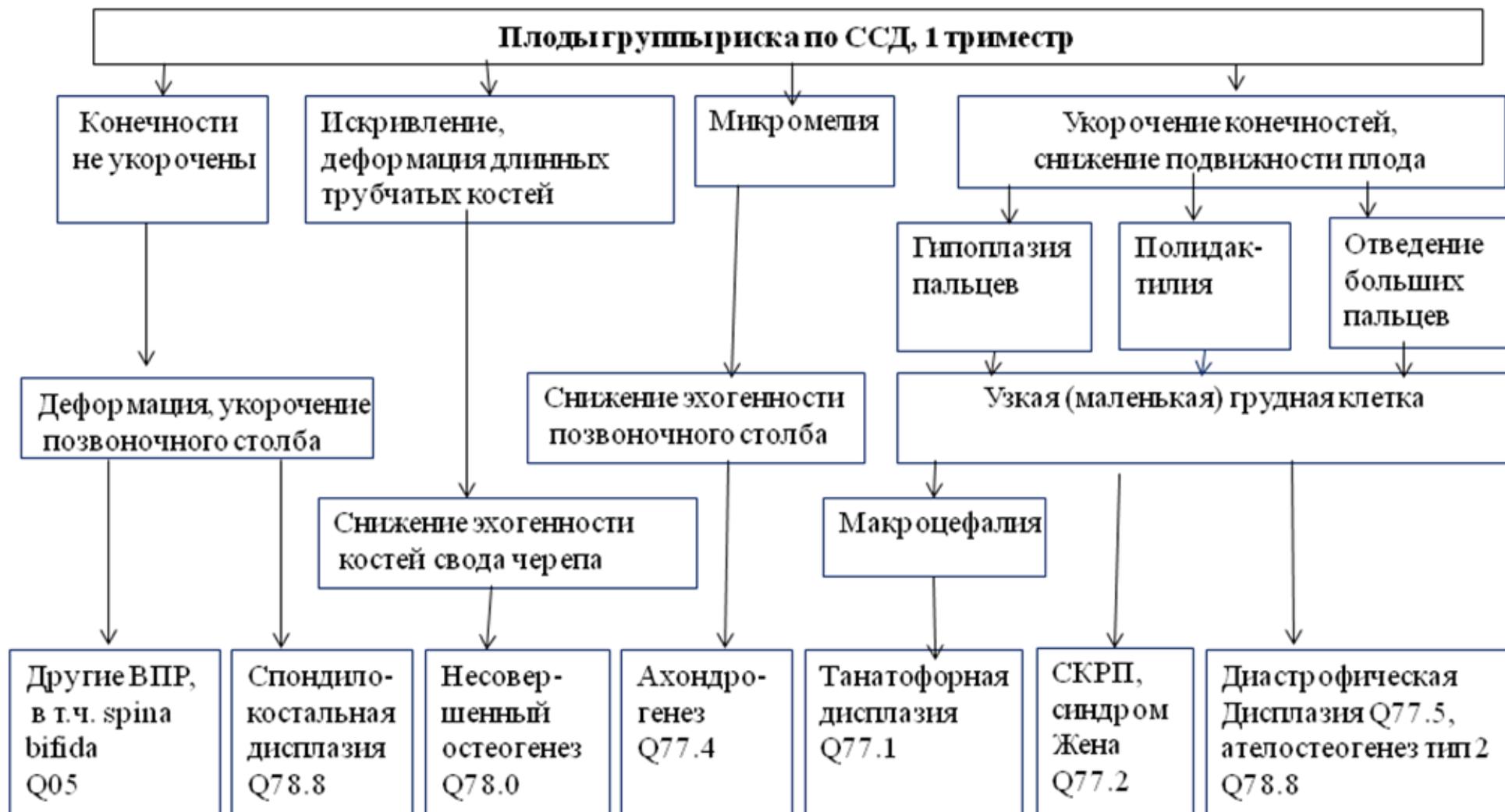


Рисунок 1 – Алгоритм дифференциальной ультразвуковой диагностики ССД у плодов 1 триместра беременности

Медико-генетическое консультирование семей группы риска по ССД

Этапы медико-генетического консультирования

1. Первичное медико-генетическое консультирование (сбор анамнеза, генеалогических данных, заполнение медико-генетической карты, пренатальное консультирование) с оценкой риска по ССД и хромосомным болезням у плода.

2. Проведение комбинированного пренатального скрининга беременных 1 триместра, согласно приказа.

3. Расширенная фетометрия плода в соответствии с выше описанным алгоритмом.

4. При визуализации УЗ маркеров ССД у плода или при установленном моногенном варианте ССД проведение биопсии ворсин хориона (БВХ) для пренатального кариотипирования, и ДНК-диагностики.

5. При выявлении ССД у плода оценка прогноза для жизни и здоровья плода/ребенка и при неблагоприятном прогнозе может быть предложено прерывание беременности в 1 триместре.

6. Проведение морфологического исследования abortированного по генетическим показаниям плода для верификации пренатально установленного УЗ диагноза.

7. При отсутствии УЗ признаков ССД у плода 1 триместра рекомендуются повторные динамические УЗ осмотры с 18 по 21 неделю беременности для исключения или подтверждения диагноза ССД у плода.

8. Заключительное медико-генетическое консультирование с оценкой прогноза для потомства. При установлении у пробанда ССД с аутосомно-рецессивным типом наследования проводится осмотр sibсов пробанда для исключения у них такой же патологии. Риск повторения для sibсов оценивается в 25% для любой последующей беременности.

При выявлении у пробанда ССД с аутосомно-доминантным типом наследования необходимо обследовать родителей для исключения унаследованной формы патологии. При фенотипически нормальных родителях риск повторения для потомства составляет менее 1%. При фенотипических проявлениях патологии у родителей даже в мягкой форме риск повторения для потомства составляет 50%.

ВТОРОЙ ТРИМЕСТР БЕРЕМЕННОСТИ

Алгоритм выполнения УЗИ во 2 триместре (18-21 неделя) беременным групп риска

1. Базовая фетометрия и осмотр плода осуществляются в соответствии с приказом.
2. Проводится измерение всех длинных трубчатых костей, а также ключицы и лопатки.
3. Измеряется диаметр и окружность грудной клетки, соотношение окружности груди/окружности живота.
4. Проводится подробное изучение структур лица (профиль, переносье, глазницы, верхняя и нижняя челюсти).
5. Проводится подробное описание кистей и стоп.
6. Осуществляется оценка подвижной активности плода в динамике с интервалом 30-60 минут не менее 3 раз.
7. Данные исследования заносятся в протокол УЗ исследования внутриутробного плода в соответствии с приказом.
8. При оформлении заключения выявленной ССД использовать алгоритм УЗ дифференциальной диагностики ССД у плода во 2 триместре беременности, представленном на рисунке 4.



Рисунок 4 – Алгоритм ультразвуковой дифференциальной диагностики ССД у плода во 2 триместре беременности

Проведение морфологического исследования абортированного материала по генетическим показаниям в 1 триместре беременности

1. После прерывания беременности в максимально короткие сроки абортированный материал (соскоб/плод) в полном объеме доставляется в лабораторию для морфологических исследований.

2. Под стереомикроскопом из соскоба извлечь все части плода, предварительно распределив содержимое соскоба по чашкам Петри.

3. Возраст плода определить по длине стопы и наличию первичных центров оссификации (ПЦО) в кистях и стопах, используя данные, приведенные в таблице 1.

Таблица 1 – Возраст плода по длине стопы и наличию первичных центров оссификации в кисти и стопе

| Возраст, недели | Длина стопы, мм | Наличие ПЦО | |
|-----------------|-----------------|--|--|
| | | Кисть | Стопа |
| 9 | 7-8 | пястные 2-5 дистальные фаланги 1-5 проксимальные фаланги 1-3 | дистальные фаланги 1 |
| 10 | 9-11 | пястные 1-5 проксимальные фаланги 1-5 средние фаланги 2-4 | плюсневые 2-5 дистальные фаланги 2-4 |
| 11 | 12-14 | средние фаланги 5 | плюсневые 1-5 проксимальные фаланги 1-2 |
| 12 | 15-16 | средние фаланги 5 | проксимальные фаланги 3-4 |

4. Измерение сегментов конечностей проводится с помощью циркуля и миллиметровой линейки, как показано на рисунке 2. Длина плеча измеряется от верхнего полюса головки плечевой кости до верхушки локтевого отростка локтевой кости; длина предплечья – от наружного края согнутого локтя до запястья; длина кисти – от запястья до дистального края ногтевой фаланги среднего пальца; длина бедра – от верхнего полюса большого вертела бедренной кости до центрального

отдела надколенной кости; длина голени – от верхнего края согнутого колена до подошвенного края пяточной кости; длина стопы – от заднего полюса бугра пяточной кости до дистального края ногтевой фаланги 1 пальца стопы.

5. Измерение ПЦО осуществляется на свежих образцах, освобожденных от мягких тканей, с помощью циркуля и миллиметровой линейки, как показано на рисунке 2. Морфометрию ПЦО возможно проводить на изображениях, которые получают с помощью цифровой камеры, установленной на стереомикроскопе и снабженной измерительным устройством. В диафизах длинных трубчатых костей измерить максимальную длину ПЦО (бедренной, большеберцовой, малоберцовой, плечевой, лучевой, локтевой и ключице).

6. Оценка ПЦО в закладках свода черепа, телах позвонков проводится визуально или на изображениях, которые получают с помощью цифровой камеры, установленной на стереомикроскопе. Оценивается их наличие и локализация.

7. Морфометрия лопаток проводится на свежих образцах, освобожденных от мягких тканей, с помощью циркуля и миллиметровой линейки, как изображено на рисунке 3. Определяются кранио-каудальный размер – от верхнего угла до нижнего угла; медио-латеральный – от суставной впадины до середины медиального края.

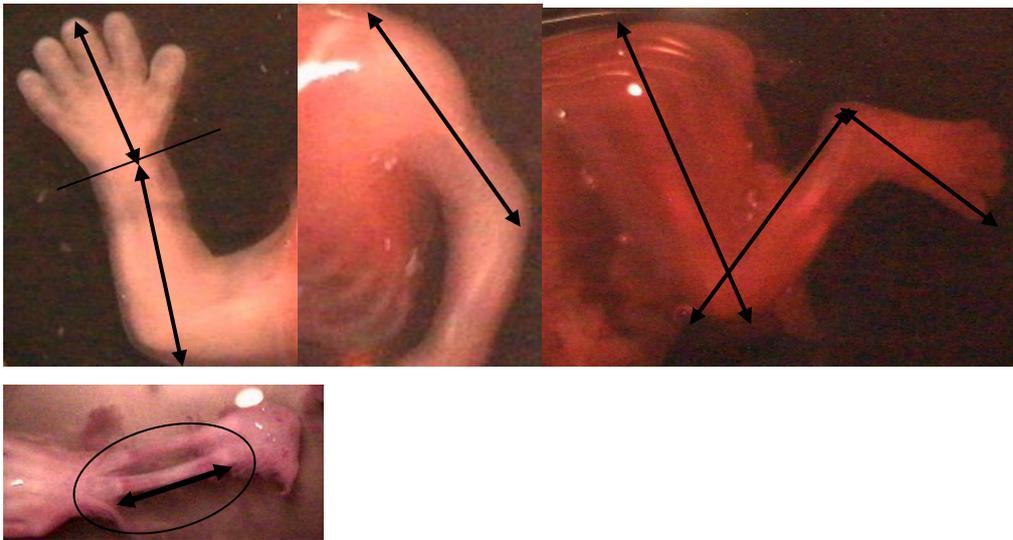


Рисунок 2 – Измерение сегментов конечностей и первичных центров оссификации в диафизах длинных трубчатых костей

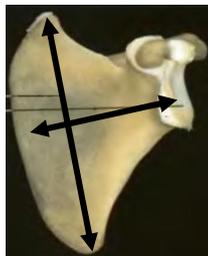


Рисунок 3 – Морфометрия лопаток

8. Все полученные данные заносятся в протокол морфологической оценки скелета плода 1 триместра (приложение Б).

9. Проводится сопоставление полученных данных с разработанными показателями биометрии скелета плода 1 триместра беременности и определение типа укорочения кости с количественным указанием отклонения от нормы (приложение В).

Проведение гистологического исследования abortированного по генетическим показаниям плода в 1 триместре беременности

1. Для гистологического исследования рекомендуется брать сегменты верхних и нижних конечностей, но можно использовать позвоночный столб, ребра. Срезы парафиновых блоков окрашивать гематоксилином и эозином.

2. Готовые препараты исследовать под микроскопом с оптическим увеличением от 10 до 200.

3. Выполнение патоморфологического описания случаев ССД, диагностированных в 1 триместре беременности (приложение Г).

Проведение морфологического исследования плодов, абортированных по генетическим показаниям во 2 триместре беременности

1. После предварительной заморозки плода в требуемом положении провести рентгенологическое исследование.

2. Вскрывать по методике, описанной Г.И. Шором с использованием полной эвисцерации.

3. Провести гистологическое исследование дистального эпифиза с частью диафиза бедренной кости по стандартной методике с предварительной декальцинацией муравьиной кислотой в смеси с 10% раствором формалина (1:1) в течение двух недель. После декальцинации во избежание сильного набухания тканей объекты промыть в течение 5 дней в часто сменяемом 10% растворе формалина. Срезы парафиновых блоков окрашивать гематоксилином и эозином.

Перечень возможных осложнений или ошибок и пути их устранения

1. Ошибки, связанные с нарушением алгоритма выполнения УЗИ. Для предупреждения возникновения ошибок этой группы необходимо строго соблюдать порядок проведения УЗИ плода, согласно Приказа.

2. Ошибки, связанные с нарушением правил забора, транспортировки, хранения биологического материала и выполнения лабораторных исследований. Для предупреждения возникновения ошибок такого рода необходимо строго соблюдать правила работы с биологическим материалом и проведения лабораторных исследований.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

ФОРМА УЧЕТА ДАННЫХ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ФЕТОМЕТРИИ ПЛОДА ПЕРВОГО ТРИМЕСТРА БЕРЕМЕННОСТИ

ФИО _____

Дата рождения (возраст) _____ вес _____

Адрес _____

Проведение исследования: трансабдоминально трансвагинально

| | | | |
|-------------|--|-------------------|--|
| LMP | | БПД | |
| Срок по LMP | | Окружность головы | |
| КТР | | Окружность груди | |
| Срок по КТР | | Диаметр груди | |
| NT | | Окружность живота | |
| IT | | NB | |

| Верхние конечности | | | | | | Нижние конечности | | | | | |
|--------------------|-------|------|---------------|-------|------|-------------------|-------|------|---------------|-------|------|
| Размер сегментов | | | Размер костей | | | Размер сегментов | | | Размер костей | | |
| | право | лево | | право | лево | | право | лево | | право | лево |
| Кисть | | | Локтевая | | | Стопа | | | Б/берцовая | | |
| Предплечье | | | Лучевая | | | Голень | | | М/берцовая | | |
| Плечо | | | Плечевая | | | Бедро | | | Бедренная | | |

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

ПРОТОКОЛ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ СКЕЛЕТА ПЛОДА 1 ТРИМЕСТРА №

ФИО _____ Дата рождения _____

Адрес _____

Данные LMP _____ Морфологический срок гестации _____

| Оценка ПЦО в закладках свода черепа | | |
|-------------------------------------|---------------|--|
| | Наличие (+/-) | |
| Затылочная | | |
| Теменные | | |
| Лобные | | |

| Оценка ключиц | |
|---------------|--|
| Наличие (+/-) | |
| форма | |
| Длина, мм | |
| Длина ПЦО, мм | |

| Оценка ПЦО в позвоночнике | | |
|---------------------------|-------------|--------------------------|
| Отдел | Локализация | Расстояние между ПЦО, мм |
| Грудной (1-12) | | |
| Поясничный (1-5) | | |

| Оценка лопаток | | |
|-------------------|------------|---------|
| | Размер, мм | ПЦО, мм |
| Кранио-каудальный | | |
| Медио-латеральный | | |

| Оценка верхних конечностей | |
|------------------------------------|--|
| Кисть | |
| Длина, мм | |
| ПЦО в пястных костях (1-5) | |
| ПЦО в проксимальных фалангах (1-5) | |
| ПЦО в средних фалангах (2-5) | |
| ПЦО в дистальных фалангах (1-5) | |
| Предплечье | |
| Длина, мм | |
| Длина ПЦО в лучевой кости, мм | |
| Длина ПЦО в локтевой кости, мм | |
| Плечо | |
| Длина, мм | |
| Длина ПЦО в плечевой кости, мм | |

| Оценка нижних конечностей | |
|------------------------------------|--|
| Стопа | |
| Длина, мм | |
| ПЦО в плюсневых костях (1-5) | |
| ПЦО в проксимальных фалангах (1-5) | |
| ПЦО в средних фалангах (2-5) | |
| ПЦО в дистальных фалангах (1-5) | |
| Голень | |
| Длина, мм | |
| Длина ПЦО в б/берцовой, мм | |
| Длина ПЦО в м/берцовой, мм | |
| Бедро | |
| Длина, мм | |
| Длина ПЦО в бедренной кости, мм | |

Примечание

- кисть измеряется от запястья до дистального края ногтевой фаланги среднего пальца
- предплечье – от наружного края согнутого локтя до запястья
- плечо – от верхнего полюса головки плечевой кости до верхушки локтевого отростка локтевой кости
- стопа – от заднего полюса бугра пяточной кости до дистального края ногтевой фаланги 1 пальца стопы
- бедро – от верхнего полюса большого вертела бедренной кости до центрального отдела надколенной кости
- голень – от верхнего края согнутого колена до подошвенного края пяточной кости

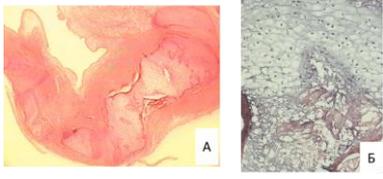
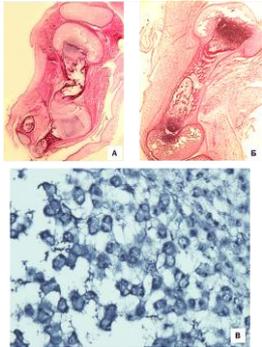
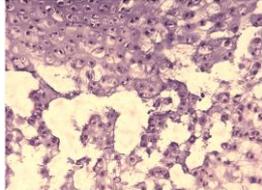
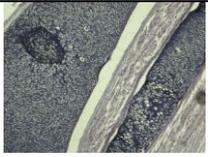
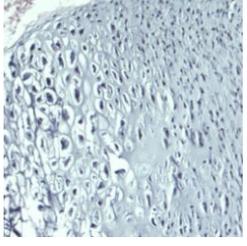
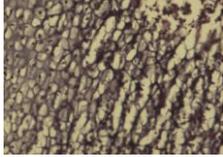
ПРИЛОЖЕНИЕ В

Показатели линейных размеров (среднее±стандартное отклонение, мм) сегментов нижних и верхних конечностей, ПЦО всех закладок длинных трубчатых костей, лопаток плодов человека в сроке гестации 8-12 недель

| Срок гестации, нед | 8 недель | 9 недель | 10 недель | 11 недель | 12 недель |
|--------------------------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Количество плодов | 20 | 20 | 17 | 12 | 9 |
| Стопа | 5,7±0,46 | 7,9±0,87 | 9,6±0,86 | 11,5±0,66 | 13,8±0,41 |
| Голень | 7,6±0,77 | 11,6±1,28 | 16,0±1,71 | 18,7±2,49 | 22,5±1,78 |
| ПЦО большеберцовой кости | 1,6±0,34 | 3,4±0,76 | 5,4±0,83 | 7,65±1,00 | 9,8±0,89 |
| ПЦО малоберцовой кости | 1,3±0,28 | 2,9±0,75 | 5,0±0,53 | 7,1±0,70 | 9,2±1,19 |
| Бедро | 7,8±0,71 | 11,2±1,11 | 16,3±1,77 | 18,7±2,52 | 24,2±2,22 |
| ПЦО бедренной кости | 2,0±0,55 | 4,2±0,72 | 6,1±1,26 | 9,9±1,59 | 11,3±0,82 |
| Кисть | 4,6±0,57 | 6,6±0,64 | 8,4±0,86 | 9,5±1,58 | 11,8±0,89 |
| Предплечье | 6,6±1,22 | 10,0±0,93 | 12,8±1,19 | 15,4±1,62 | 18,0±0,96 |
| ПЦО лучевой кости | 1,7±0,50 | 4,2±0,66 | 5,6±0,48 | 7,9±1,14 | 9,8±0,85 |
| ПЦО локтевой кости | 1,9±0,49 | 4,4±0,72 | 6,1±1,40 | 8,2±1,13 | 10,3±1,17 |
| Плечо | 8,3±1,51 | 12,3±3,14 | 17,0±1,97 | 19,8±1,86 | 23,0±1,15 |
| ПЦО плечевой кости | 1,8±0,82 | 5,0±0,63 | 6,8±1,12 | 10,3±1,31 | 12,0±1,14 |
| Лопатка: | | | | | |
| -кранио-каудальный | 4,3±1,1 | 8,0±0,90 | 9,2±1,38 | 11,7±1,33 | 12,8±0,92 |
| -медио-латеральный | 2,8±1,1 | 5,5±1,03 | 6,6±1,22 | 8,6±0,52 | 9,4±1,19 |
| ПЦО лопатки: | - | | | | |
| -кранио-каудальный | | 4,5±0,80 | 5,5±1,46 | 6,9±0,79 | 7,9±0,93 |
| -медиолатеральный | | 3,6±1,69 | 4,2±1,88 | 5,3±0,38 | 6,0±0,30 |

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Гистологическое описание ростовой пластинки трубчатых костей при ССД,
диагностированных в 1 триместре беременности

| ССД | Гистотопограммы | Гистологическое описание |
|--|---|---|
| Ахондрогенез 2 типа |  | Гипоплазия ПЦО плечевой (А) и бедренной костей; ростовая пластинка хряща сформирована аномально (Б), отсутствие всех зон, линия оссификации неровная, гиперцеллюлярность покоящегося хряща с уменьшением матрикса, нахождение хондроцитов в расширенных лакунах. |
| Ателостеогенез 2 типа |  | Дистальное сужение оссифицированных участков хрящевых закладок плечевой и локтевой костей (А, Б), дегенеративные изменения в зоне неорганизованного хряща в виде кистозных участков неправильной формы и хондроцитов, окруженных ламеллярным материалом, образующим концентрические кольца (В). |
| Диастрофическая дисплазия |  | Миксоидная дегенерация покоящегося хряща в виде кистозных участков неправильной формы, заполненных фиброзной тканью. |
| Несовершенный остеогенез 2 типа |  | Эпифизарная ростовая зона хряща сформирована правильно; нарушение эндохондрального и интрамембранозного окостенения: малочисленные тонкие метафизарные трабекулы; патологические переломы в области диафизов, возможно с образованием многочисленных фиброзных мозолей. |
| Синдром коротких ребер- полидактилии 2 типа |  | Овоидной формы ПЦО большеберцовой кости (патогномичный признак) |
| Синдром коротких ребер- Полидактилии 1/3 типа |  | Аномальная зона гипертрофии с дезорганизацией и укорочение колонок из-за сокращения числа гипертрофированных хондроцитов. |
| Танатофорная дисплазия |  | Баллонные (раздутые) хондроциты зоны пролиферации и гипертрофии, дезорганизация эндохондральной оссификации. |