

# РАННЯ ПРЕНАТАЛЬНА ДІАГНОСТИКА ВРОДЖЕНИХ ВАД РОЗВИТКУ (огляд літератури)

Т.Р. Савка, Г.С. Янюта, О.В. Головченко

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ

## Резюме

В оглядовій статті наведено результати дослідження літературних джерел з основних аспектів сучасного пренатального скринінгу на хромосомні аберації. Як альтернативний неінвазивний високоточний метод діагностики хромосомних вад для жінок, що входять у групу високого ризику, пропонується використання визначення фетальної позаклітинної ДНК.

## Ключові слова

Пренатальний скринінг, неінвазивні методи діагностики, хромосомні аберації, фетальна позаклітинна ДНК.

Одним із головних напрямків надання медичної допомоги є зниження показників материнської та малюкової смертності. Дані показники є не просто статистичними даними, а лакмусовим папірцем стану медичної допомоги в конкретно взятій країні.

За даними FIGO, впровадження ефективних, перевірених методик в акушерстві та гінекології могли б зменшити до 2025 року смертність новонароджених на 71% (у середньому 1,9 млн на рік), на 33% мертвонароджених (у середньому 0,82 млн на рік) та на 51% материнську смертність (у середньому 0,16 млн на рік) [1]. Відповідно до статистичних даних ВООЗ, близько 3% дітей у світі народжуються з вродженими вадами розвитку (ВВР), причому їх частка в малюковій смертності становить 35-45% [2].

Саме в контексті вищевказаних даних стає зрозумілим, чому протягом останніх років збільшується акцент на профілактиці та ранньому виявленні ВВР. Варто лише зазначити що дві з трьох тем, згідно з рекомендаціями FIGO в інформаційному листі 2015 р., присвячено саме даній проблемі [1].

Для лікарів у практичному аспекті важливим є раннє виявлення ВВР, що в подальшому дає можливість жінці обрати інформоване рішення щодо доцільності такої вагітності. Саме з цією метою розроблено пренатальні скринінги на ВВР. Виділяють такі етапи неінвазивного пренатального скринінгу [3].

- Скринінг I триместру — комбінований, у терміні гестації від 10 тижнів 6 днів до 13 тижнів 6 днів. Скринінг включає: біохімічне дослідження крові — вільна субодина β-ХГЛ, РАРР-А; УЗД — товщина

© Т.Р. Савка, Г.С. Янюта, О.В. Головченко



комірцевого простору (ТКП), наявність носових кісток.

- Скринінг II триместру вагітності — кватротест у терміні від 15 тижнів 6 днів до 20 тижнів 6 днів. Цей етап передбачає тільки біохімічне дослідження крові:  $\alpha$ -фетопротейн (АФП), некон'югований естріол,  $\beta$ -ХГЛ, інгібін А.

Інтегральний скринінг дозволяє зіставити поєднання ультразвукових даних (I триместр) і результатів двох аналізів крові (I і II триместрів). При скринінгу, крім  $\beta$ -ХГЛ, РАРР-А, ТКП, беруть до уваги вік жінки. Комп'ютерна інтегративна оцінка таких показників вже в I триместрі дозволяє діагностувати до 90% трисомій за 21-ю хромосою і до 95% трисомій за 18-ю і 13-ю хромосомами. Додавання в програму обстеження додаткових ультразвукових предикторів, таких як розмір носових кісток, пульсаційний індекс у веннозній протоці, регургітація крові через тристулковий клапан серця, значно збільшує ймовірність виявлення хромосомних аберацій [4].

Якщо за результатами неінвазивних тестів виявлено високий ризик народження плода з хромосомними абераціями, жінці рекомендують інвазивну пренатальну діагностику — генетичний аналіз клітин, отриманих при біопсії ворсин хоріона або амніоцентезі. На інвазивну діагностику направляють тільки пацієнок із високим ризиком вроджених і спадкових синдромів і захворювань. Основними недоліками інвазивних технологій скринінгу є ускладнення у вигляді репродуктивних втрат (1%) і їх висока вартість [3-5]. Саме тому в даний час науковий світ зайнятий пошуком високоінформативних, чутливих і специфічних предикторів генетичних аномалій плода, які могли б замінити традиційні інвазивні методики. У даному контексті перспективним розглядається виявлення анеуплоїдій за допомогою дослідження фетальної позаклітинної ДНК (cffDNA — cell-free fetal DNA) в плазмі крові матері.

FIGO висуває такі рекомендації щодо пренатальної діагностики ВВР:

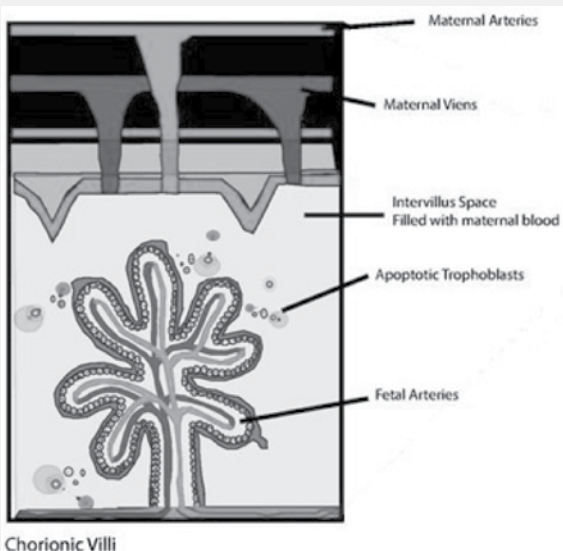
1. Вік матері не слід використовувати як основний прогностичний чинник для виділення груп високого ризику анеуплоїдій і вад розвитку плода. Він не повинен бути основним критерієм для призначення жінкам інвазивних методів пренатальної діагностики. При використанні віку вагітної як єдиного предиктора анеуплоїдій частота

їх виявлення не перевищує 30%, а рівень хибнопозитивних результатів досягає 20%.

2. Поряд з оцінкою віку для первинного неінвазивного пренатального скринінгу рекомендований такий діагностичний комплекс: вимірювання товщини комірцевого простору, визначення концентрації вільної  $\beta$ -субодиниці ХГЛ і РАРР-А. Таке поєднання дозволяє досягти високої точності у виявленні анеуплоїдій плода (понад 92% при частоті хибнопозитивних результатів), яка не перевищує 5%.
3. Слід прагнути до підвищення ефективності первинного скринінгу, вивчаючи додаткові ультразвукові предиктори: візуалізацію і вимір носових кісток, оцінку параметрів кровотоку у веннозній протоці і виявлення регургітації в трьохстулковому клапані серця плода із застосуванням доплерометрії. При використанні цих ехо-маркерів частота виявлення аномалій плода збільшується до 95% при ймовірності хибнопозитивних результатів не більше ніж 3%.
4. При подальшому поглибленому обстеженні вагітних із групи високого ризику хромосомних аномалій плода потрібно віддавати перевагу таким високоінформативним та безпечним дослідженням, як визначення фетальної позаклітинної ДНК у плазмі крові матері. Метод дозволяє значно підвищити точність діагностики анеуплоїдій: синдрому Дауна — до 99%, синдрому Едвардса — до 97% і синдрому Патау — до 92% при мізерно низькій частоті хибнопозитивних результатів (0,2-0,4%). Відбір пацієнок слід засновувати на результатах первинного скринінгу в 11-13 тижнів гестації:
  - при відносному ризику 1:100 і вище показано аналіз на фетальну позаклітинну ДНК (cffDNA) або інвазивна діагностика;
  - від 1:101 до 1:2500 — визначення cffDNA носить рекомендаційний характер;
  - менше ніж 1:2500 — поглиблений пренатальний скринінг не показаний [2, 6].Варто зауважити, що дані рекомендації чітко підкреслюють дві принципові позиції:
  1. Вік жінки не є основним критерієм для поглибленого пренатального скринінгу.
  2. Якщо є потреба в проведенні поглибленого пренатального скринінгу, то це повинен бути насамперед неінвазивний метод визначення cffDNA. CffDNA походить від трофобласта плаценти [7, 8]. Вважається, що 2-6% ДНК у мате-

**Рисунок**

Схема розташування плацентарних термінальних ворсинок хоріона



ринській крові має плодове походження [9]. Фрагменти ДНК плода є власне часточками з плацентарних термінальних ворсинок (апоптотичний трофобласт), які потрапили в материнську кров (рис.) [10].

Дослідження показали, що cfDNA може виявлятися вже з 7 тижнів вагітності, а кількість збільшується прямо пропорційно з прогресуванням вагітності [11]. Кількість cfDNA швидко зменшується після народження дитини — їх практично не виявляють у материнській крові через 2 години після народження [12]. Розміри cfDNA значно менші за ДНК матері і становлять приблизно 200bp [13]. Більшість протоколів із вилучення ДНК плода з материнської плазми використовує саме різницю розмірів, щоб відрізнити його від материнської ДНК [14, 15].

Уперше фетальну позаклітинну ДНК у крові матері вдалось ідентифікувати в 1997 році групі вчених, яку очолював Lo Y.M. У подальшому методика виявлення cfDNA пройшла цілу низку вдосконалень, які дозволили зробити її більш доступною та ефективною. На сьогодні визначення cfDNA — це технологія, яка прогресивно збільшує своє клінічне значення і розширяє свій діагностичний арсенал. У світі щодня відбувається визначення близько 2000 тис. cfDNA [16].

Основні етапи впровадження застосування cfDNA у світі [16, 17]:

- 2001 р. — визначення Rh(D) плодового генотипу;

- 2006 р. — визначення плода та X-зчеплених генетичних порушень;
- 2008-2011 рр. — запровадження для виявлення трисомій (18,13);
- 2014 р. — визначення ймовірності преєклампсії.

Основними перевагами визначення cfDNA є неінвазивність та комфортність проведення для пацієнтки порівняно з інвазивними технологіями та висока інформативність. В оновленому метааналізі наукових досліджень щодо використання cfDNA при діагностиці хромосомних вад, який охоплює 37 перевірених досліджень, наводяться такі дані щодо точності визначення ВВР (табл.) [18].

Основними недоліками даного методу зазначають високу вартість, технічну складність методу та його неуніверсальність. Особливо гостро вони стоять у країнах, що розвиваються, та в країнах із низьким соціальним рівнем життя.

У розвинених країнах світу дані недоліки давно уже нівелювались — вартість проведення визначення cfDNA є мізерною порівняно з перспективою матеріальних затрат при перериванні вагітності в II триместрі, не кажучи вже про медикаментозне та соціальне забезпечення новонародженого з ВВР. Із технічного боку — для визначення cfDNA необхідним є лише взяття 5-10 мл венозної крові з периферичної вени, яка в подальшому направляється на генетичне дослідження. Отже, для вагітної даний метод, навпаки, є більш прийнятним та комфортним, а для лікаря в клініці — більш зручним у повсякденній практиці та не потребує спеціальних додаткових навичок порівняно з інвазивними методами пренатального дослідження. Тому це, найімовірніше, перевага, проблему ж становить необхідність наявності

**Таблиця**

Точність визначення ВВР за допомогою методу (cfDNA)

	Точність визначення	Частота хибно-позитивних результатів
Трисомія 21	99,7% (95% CI 99,1-99,9%)	0,04% (95% CI 0,02-0,08%)
Трисомія 18	98,2% (95% CI 95,5-99,2%)	0,05% (95% CI 0,03-0,07%)
Трисомія 13	99,0% (95% CI 65,8-100%)	0,04% (95% CI 0,02-0,07%)
Моносомія X	95,8% (95% CI 70,3-99,5%)	0,14% (95% CI 0,05-0,38%)
Інші статеві хромосомні анеуплоїдії (крім моносомії X)	99,8% (95% CI 83,6-100%)	0,003% (95% CI 0-0,07%)



спеціалізованого обладнання для діагностики та транспортування забраного матеріалу.

Щодо неуніверсальності методу варто зазначити, що метод не рекомендується для використання при багатоплідній вагітності (при монохоріальній двійні висока частота хибно-позитивних результатів, що зумовлено плацентарним мозаїцизмом) та для діагностики ВВР нервової трубки [19]. Хоча у світлі останніх даних впровадження MPS DNA (Massively Parallel Sequencing DNA — масове паралельне секверування ДНК) дає надію на вирішення

проблем у діагностиці ВВР при багатоплідній вагітності [20].

## Висновок

Виходячи з наведеного вище, слід зауважити, що хоча методика визначення cfDNA і є технічно складною і дорогавартісною, особливо у вітчизняних реаліях, однак вона може бути корисною як тест другої лінії для пацієнок із високою ймовірністю хромосомних аномалій.

*Надійшла до редакції 20.06.2017 р.*

## Список використаної літератури

1. Best practice in maternal-fetal medicine. Figo Working Group On Best Practice In Maternal-Fetal Medicine // Int. J. Gynaecol. Obstet. — 2015. — Vol. 128. — P. 80-82.
2. World health statistics 2014. — Geneva: WHO, 2014. — 177 p.
3. Акушерство: Национальное руководство / Под ред. Э.К. Айламазяна [та ін.]. — ГОЭТАР-Медиа, 2013. — 1200 с.
4. Impact of bias in crown-rump length measurement at first-trimester screening for trisomy 21 / K.O. Kagan, M. Hoopmann, A. Baker [et al.] // Ultrasound. Obstet. Gynecol. — 2012. — Vol. 40 (2). — P. 135-139.
5. Современные алгоритмы пренатальной диагностики наследственных болезней: Методические рекомендации / Под ред. В.С. Баранова, Э.К. Айламазяна. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. — 86 с.
6. Рекомендации Международной федерации акушеров-гинекологов (FIGO) 2015 года. Совершенствование практических подходов в акушерстве и фетальной медицине. Информационный бюллетень / Под ред. В.Е. Радзинского. — М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2015. — 8 с.
7. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast / M. Alberry [et al.] // Prenatal Diagnosis. — 2007. — № 27 (5). — P. 415-418.
8. Detection of fetal DNA and RNA in placenta-derived syncytiotrophoblast microparticles generated in vitro / A.K. Gupta [et al.] // Clinical Chemistry. — 2004. — № 50 (11). — P. 2187-2190.
9. Transfer of nucleated maternal cells into fetal circulation during the second trimester of pregnancy / E.S. Lo [et al.] // British Journal of Haematology. — 1998. — № 100 (3). — P. 605-606.
10. Novel biomarkers in preeclampsia / E.M. Smets [et al.] // Clinica Chimica Acta: International Journal of Clinical Chemistry. — 2006. — № 364 (1-2). — P. 22-32.
11. Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis / Y.M. Lo [et al.] // American Journal of Human Genetics. — 1998. — № 62 (4). — P. 768-775.
12. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma / Y.M. Lo [et al.] // American Journal of Human Genetics. — 1998. — № 64 (1). — P. 218-224.
13. Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma / K.C. Chan [et al.] // Clinical Chemistry. — 2004. — № 50 (1). — P. 88-92.
14. Size separation of circulatory DNA in maternal plasma permits ready detection of fetal DNA polymorphisms / Y. Li [et al.] // Clinical Chemistry. — 2004. — № 50 (6). — P. 1002-1011.
15. Detection of paternally inherited fetal point mutations for beta-thalassemia using size-fractionated cell-free DNA in maternal plasma / Y. Li [et al.] // The Journal of the American Medical Association. — 2005. — № 293 (7). — P. 843-849.
16. Non-invasive prenatal testing. — Antwerp, Belgium, 2015. www.DOWNsyndromeNIPT.info
17. Maternal plasma cell-free DNA in the prediction of pre-eclampsia / D.L. Rolnik [et al.] // Ultrasound Obstet. Gynecol. — 2015. — № 45. — P. 106-111.
18. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis / M.M. Gil [et al.] // Ultrasound Obstet. Gynecol. — 2017. — № 11. — P. 37.
19. Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. Committee opinion. No 640. American College of Obstetricians and Gynecologists // Obstet. Gynecol. — 2015. — № 126. — P. 31-37.
20. Massively Parallel Sequencing (MPS) of Cell-Free Fetal DNA (cfDNA) for Trisomies 21, 18, and 13 in Twin Pregnancies / E. Du [et al.] // Twin Res. Hum. Genet. — 2017. — № 20 (3). — P. 242-249.

## Early prenatal diagnosis of birth defects (literature review)

**T.R. Savka, H.S. Yaniuta, O.V. Holovchenko**

### Abstract

This article provides an overview of basic aspects of modern prenatal screening for chromosomal aberrations. As an alternative noninvasive diagnostic method precision chromosomal defects, women belonging to the high risk group, proposes to use the definition of cell-free fetal DNA.

**Keywords:** prenatal screening, non-invasive methods of diagnosis, chromosomal aberrations, cell-free fetal DNA.