

**Н.И. Тапильская,  
И.Ю. Коган, А.М. Гзгзян**

---

# **ВЕДЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ РАННИХ СРОКОВ, НАСТУПИВШЕЙ В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРОТОКОЛОВ ВРТ**

**РУКОВОДСТВО ДЛЯ ВРАЧЕЙ**



**Москва  
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА  
«ГЭОТАР-Медиа»  
2020**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений и условных обозначений . . . . .	4
<b>Глава 1. Поддержка лютеиновой фазы цикла в протоколах ЭКО . . . . .</b>	<b>5</b>
Гестагены в акушерско-гинекологической практике . . . . .	5
Поддержка лютеиновой фазы в протоколах ЭКО . . . . .	10
Список литературы . . . . .	33
<b>Глава 2. Роль ультразвукового исследования на ранних сроках беременности, наступившей в протоколах ЭКО . . . . .</b>	<b>41</b>
Патология беременности . . . . .	46
Осложнения . . . . .	54
Список литературы . . . . .	57
<b>Глава 3. Синдром гиперстимуляции яичников как частный случай синдрома повышенной проницаемости капилляров . . . . .</b>	<b>60</b>
Классификация . . . . .	60
Характеристика основных заболеваний и состояний, сопровождающихся синдромом повышенной проницаемости капилляров . . . . .	61
Патогенез синдрома повышенной проницаемости капилляров . . . . .	67
Патофизиология синдрома повышенной проницаемости капилляров . . . . .	70
Клиническая картина . . . . .	72
Классификация синдрома гиперстимуляции яичников . . . . .	74
Лечение синдрома повышенной проницаемости капилляров . . . . .	76
Профилактика синдрома гиперстимуляции яичников . . . . .	81
Список литературы . . . . .	82
<b>Глава 4. Возможности пренатальной диагностики на ранних сроках беременности, наступившей в протоколах ВРТ . . . . .</b>	<b>86</b>
Метод сравнительной геномной гибридизации . . . . .	95
Список литературы . . . . .	99
<b>Глава 5. Привычная потеря беременности в протоколах ВРТ. Диагностика причины потери беременности и возможности терапии с позиций доказательной медицины . . . . .</b>	<b>104</b>
Список литературы . . . . .	127

## **ВОЗМОЖНОСТИ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ НА РАННИХ СРОКАХ БЕРЕМЕННОСТИ, НАСТУПИВШЕЙ В ПРОТОКОЛАХ ВРТ**

---

Пrenатальная диагностика (ПД) включает следующие задачи:

- 1) предоставление будущим родителям исчерпывающей информации о степени риска рождения больного ребенка;
- 2) в случае высокого риска — предоставление информации о возможности прерывания беременности и последствиях принятого родителями решения — родить больного ребенка или прервать беременность;
- 3) обеспечение оптимального ведения беременности и ранней диагностики внутриутробной патологии;
- 4) определение прогноза здоровья будущего потомства.

Методы ПД могут быть прямыми, когда исследуется сам плод, либо непрямыми, когда объектом исследования является беременная. В свою очередь, прямые методы подразделяются на неинвазивные и инвазивные.

Непрямые методы (обследование беременной):

- клинические (акушерско-гинекологические);
- медико-генетические:
  - генеалогические;
  - цитогенетические;
  - молекулярно-биологические.

Прямые методы (обследование плода):

- неинвазивные:
  - ультразвуковое исследование;
- инвазивные:
  - получение плодного материала.

В I триместре инвазивный метод диагностики — биопсия хориона.

К лабораторным методам относятся:

- цитогенетические;
- молекулярно-генетические;

- биохимические;
- иммуноцитохимический.

Современная стратегия проведения пренатального скринингового исследования, декларированная во многих европейских странах, основывается на расчете комбинированного риска [возраст пациентки, толщина воротникового пространства (ТВП) и оценка носовых костей у плода, биохимический скрининг с определением уровней В-ХГЧ и РАРР-А]. Все эти белки являются эмбрионспецифичными, то есть продуцируются клетками самого плода или плаценты и поступают в кровоток матери. Их концентрация в сыворотке крови меняется в зависимости от срока беременности и от состояния плода.

При таком подходе выявляемость синдрома Дауна, наиболее сложного для пренатальной диагностики из всех хромосомных аномалий, в 11–14 нед беременности составляет более 90% при 5% частоте ложноположительного результата (Nicolaides К.Н., 2011).

Однако более эффективным методом скрининга является комбинация возраста пациентки, ТВП и оценки носовых костей у плода, определение уровней 13-ХГЧ и РАРР-А, а также изучение лицевого угла, кривых скоростей кровотока (КСК) в венозном протоке (ВП) и через трикуспидальный клапан у плода. Эта схема скрининга значительно снижает число женщин, которым требуется проведение инвазивной диагностики, и увеличивает частоту обнаружения синдрома Дауна и других хромосомных заболеваний до 95%, а ложноположительный результат снижается при этом до 2–3% (Nicolaides К.Н., 2011).

В начале 90-х годов прошлого столетия были опубликованы первые клинические наблюдения, в которых сообщалось о выявлении хромосомных аномалий у плодов с расширением воротникового пространства в ранние сроки беременности. К 2000 г. М.В. Медведевым был обобщен опыт разных зарубежных клиник и отечественного мультицентрового исследования о 1983 случаях расширенного воротникового пространства. Цитогенетические исследования доказали наличие тесной связи этого эхографического признака с аномалиями кариотипа: у каждого третьего плода (29,6%) была диагностирована патология хромосом.

В структуре цитогенетических находок самой частой был синдром Дауна (50,7%). На синдром Эдвардса приходилось 23,7% всех хромосомных аномалий, на синдром Тернера — 9,9% и синдром Патау — 4,9%. Другие виды патологии кариотипа были диагностированы у 10,8% плодов.

Еще в середине 1990-х годов английские исследователи отметили интересную закономерность: частота хромосомных аномалий находится в прямо пропорциональной зависимости от величины ТВП. При ТВП 3 мм хромосомные аномалии обнаружены у 7% плодов, при 4 мм — у 27%, при 5 мм — у 53%, при 6 мм — у 49%, при 7 мм — у 83%, при 8 мм — у 70%, при 9 мм — у 78%. Аналогичные данные получили испанские специалисты: при ТВП от 3 до 4 мм частота хромосомных аберраций составляла 18%, от 4 до 5 мм — 19%, от 5 до 6 мм — 29%, от 6 до 7 мм — 82%, от 7 до 8 мм — 100%, от 8 до 9 мм — 67%, 9 мм и более — 100%.

В свое время были подведены итоги первого российского мультицентрового исследования, посвященного изучению феномена воротникового пространства (Алтынник Н.А., 2002). В нем приняли участие четыре диагностических центра из Астрахани, Казани, Москвы и Йошкар-Олы. Участниками российского мультицентрового исследования было выявлено 80 случаев расширенного воротникового пространства (от 3 до 10 мм). Частота хромосомных аномалий варьировала в пределах 23,8–42,9% и в среднем составляла 32,5%, что полностью согласуется с суммарными результатами исследований в других странах (29,6%). Спектр хромосомных аномалий несколько отличался от данных зарубежных авторов: на долю синдрома Дауна пришлось 34,6%, на синдром Эдвардса — 7,7%, на синдром Тернера — 11,5%. Синдром Патау (один из самых редких хромосомных синдромов) выявлен не был в связи с небольшим количеством наблюдений. В 46,2% были диагностированы другие хромосомные аномалии (делекции, несбалансированные транслокации, триплоидия и др.).

Российское мультицентровое исследование в очередной раз доказало, что расширенное воротниковое пространство является надежным эхографическим маркером хромосомных аномалий, в том числе и в нашей популяции, и этот признак можно эффективно использовать в формировании группы риска в ранние сроки беременности.

В 2000–2003 гг. исследования, проведенные в других регионах нашей страны, также продемонстрировали высокую эффективность использования оценки ТВП в ранней диагностике хромосомных аномалий. Так, в исследованиях специалистов из Оренбурга (Ионова С.Г. и др., 2004) среди 26 случаев расширения воротникового пространства плода в ранние сроки беременности хромосомные аномалии были диагностированы в 7 наблюдениях (26,9%): трисомия 21 — 4, трисомия 18 — 2, трисомия 13 — 1.

Особый интерес представляют результаты исследований, проведенных в Краснодаре, Минске и Санкт-Петербурге, поскольку в них была осуществлена оценка эффективности изучения ТВП в ранней диа-

гностике хромосомных аномалий. В исследованиях специалистов из Научно-исследовательского института акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта (Санкт-Петербург) установлено, что увеличение ТВП было зарегистрировано у 15 (78,9%) из 19 плодов с хромосомными аномалиями (Некрасова Е.С. и др., 2005).

При этом частота ложноположительных результатов составила только 2,4%. При синдроме Дауна увеличение ТВП было обнаружено у 6 из 7 плодов (85,7%). Аналогичные данные приводят наши коллеги из Минска (Новикова И.В. и др., 2004). В их исследованиях увеличение ТВП было выявлено у 25 из 34 плодов с трисомией 21 (73,5%). Схожие результаты были получены в Кубанской межрегиональной медико-генетической консультации (Клипа М.В. и др., 2004): у 8 из 12 плодов с синдромом Дауна, диагностированным в I триместре, было обнаружено расширение воротникового пространства (66,7%).

Выявляемость синдрома Дауна в ранние сроки беременности может возрасти при формировании группы риска не только по ТВП, но и по возрасту пациентки. Большой интерес представляют данные исследований Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group, в которых приняли участие 306 опытных специалистов из 22 центров пренатальной диагностики. В ходе этих исследований ТВП оценивалась в режиме скрининга у 100 311 плодов (Snijders R.J. et al., 1998). Всем беременным проводился комбинированный расчет риска на основании возраста и ТВП >95-го перцентила. Показанием к пренатальному карiotипированию являлся риск 1:300. В ходе комплексного учета данных оценки ТВП и возраста пациентки удалось обнаружить 268 из 326 случаев синдрома Дауна (82,2%), при этом у 234 (71,8%) плодов ТВП превышала нормативные значения.

Более впечатляющие результаты были получены нашими коллегами из Минска (Новикова И.В. и др., 2004). В их исследованиях было выявлено увеличение ТВП у 14 из 15 плодов с трисомией 13 (93,3%) и у 20 из 23 плодов с трисомией 18 (86,9%).

Абсолютные размеры воротникового пространства при синдромах Эдвардса и Патау обычно выше, чем при синдроме Дауна, и в среднем составляют 7 мм, в отличие от трисомии 21 (5,9 мм). Как и при синдроме Дауна, при трисомии 18 и 13 отмечается зависимость увеличения частоты выявляемости порока плода от размеров воротникового пространства. По данным Р. Pandya и соавт. (1995), при ТВП 3 мм в 10–14 нед беременности из 64 наблюдений синдромов Эдвардса и Патау было диагностировано 15,6% случаев, при 4 мм — 12,5%, при 5 мм — 15,6%, а при величине более 5 мм — 56,3%.

К настоящему времени накоплены убедительные данные об увеличении ТВП при патологии половых хромосом, самой частой из которых является синдром Тернера. По данным Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group, расширение ТВП при синдроме Тернера встречается в 87% случаев (Nicolaides K.H. et al., 2005). Оценка ТВП в режиме скрининга является эффективным методом ранней диагностики синдрома Тернера. В исследованиях N. Sebire и соавт. (1998) чувствительность эхографии в выявлении этого синдрома составила 87,9%.

Таким образом, открытие феномена ТВП вооружило врачей новым эффективным пренатальным ультразвуковым маркером хромосомных аномалий в ранние сроки беременности. Главное значение этого открытия состоит в том, что специалисты ультразвуковой диагностики получили возможность перенести обследование пациенток на ранние сроки беременности. Высокие чувствительность и специфичность скрининга по ТВП позволяют эффективно сформировать среди беременных новую группу риска и расширить рамки клинического обследования. Своевременная и методически правильная оценка ТВП позволяет обосновать применение инвазивных методов исследования уже в I триместре и исключить грубую патологию плода, требующую прерывания беременности по медицинским показаниям.

Изменение длины костей носа плода было отмечено не только при синдроме Дауна, но и при других хромосомных аномалиях. Так, итальянские исследователи G. Monni и соавт. (2002) обнаружили отсутствие изображения костей носа плода в 75% случаев синдрома Эдвардса, в 66% — синдрома Тернера, а также у плода с трисомией 9. Английские специалисты S. Cicero и соавт. (2003) зарегистрировали отсутствие изображения костей носа плода в 57,1% случаев синдрома Эдвардса и в 31,8% наблюдений синдрома Патау, а также при других хромосомных аномалиях. L. Otano и соавт. (2002) сообщили об отсутствии изображения костей носа в ранние сроки беременности у плода с синдромом Эдвардса. По данным итальянских исследователей M.A. Zorri и соавт. (2003), отсутствие изображения костей носа было отмечено в 66% случаев синдрома Тернера и в 80% наблюдений синдрома Эдвардса.

Согласно данным мультицентрового исследования, осуществленного в трех центрах пренатальной диагностики Италии и Нидерландов, отсутствие изображения костей носа зарегистрировано у 50% плодов с синдромом Патау и у 66,7% — с синдромом Эдвардса (Orlandi F. et al., 2003).

Подводя итог приведенным фактам, можно сделать вывод о том, что оценка костей носа плода представляет собой перспективный метод для улучшения ранней пренатальной диагностики хромосомных аномалий. Однако остается актуальной разработка нормативов этого маркера в зависимости от копчиково-теменного размера плода.

Реверсные значения кровотока в ВП в фазу сокращения предсердий являются маркером синдрома Дауна у плода лишь в определенные сроки беременности. Так, по данным E. Antolin и соавт. (2001), патологический спектр кровотока в ВП при синдроме Дауна достоверно чаще встречается в гестационном сроке 10–13 нед (76,9%) по сравнению с 14–16 нед беременности, когда аномальные КСК были зарегистрированы лишь в 42,2% всех хромосомных дефектов.

Наряду с формированием группы высокого риска по хромосомным аномалиям, оценка КСК в ВП в ранние сроки беременности обладает высокой чувствительностью в отношении врожденных пороков сердца как в случаях расширения воротникового пространства и хромосомных аномалий, так и при нормальном кариотипе плода и нормальных значениях ТВП. Согласно опубликованным данным, до 30–60% всех значимых случаев врожденных пороков сердца в пренатальном периоде сопровождались аномальными КСК в ВП в 11–14 нед беременности (Clur S.A. et al., 2008; de Mooij Y.M. et al., 2009; Martinez J.M. et al., 2010).

По этой причине в случаях обнаружения реверсных значений КСК в ВП необходимо проведение расширенной эхокардиографии плода уже в конце I триместра беременности в региональном центре пренатальной диагностики. При исключении хромосомных аномалий и врожденных пороков сердца у плода в ранние сроки следует провести повторно расширенную эхокардиографию в 20–22 нед беременности.

Таким образом, оценка кровотока в ВП является важным пренатальным маркером, который необходимо использовать в комбинации с другими эхографическими маркерами для увеличения эффективности ультразвукового скрининга по синдрому Дауна и врожденным порокам сердца у плода в 11–13/6 нед беременности.

В настоящее время одним из самых изучаемых биохимических маркеров является PAPP-A, которому придается большое значение при организации пренатального скрининга в ранние сроки беременности.

ХГЧ — это гликопротеин, который продуцируется синцитиотрофобластом и попадает в материнский кровоток вскоре после имплантации плодного яйца. В сыворотке крови матери и плода можно обнаружить



несколько фракций ХГЧ: биологически активную форму ХГЧ, неактивную форму, свободные и связанные фракции.

Фракция  $\beta$ -ХГЧ является одним из наиболее чувствительных биохимических маркеров при скрининге на хромосомные аномалии, поэтому ее оценка входит в большинство скрининговых программ, применяемых в настоящее время. Механизм повышения уровня  $\beta$ -ХГЧ при трисомии по 21-й паре хромосом до сих пор до конца не ясен. Существует теория, пытающаяся объяснить повышение уровня  $\beta$ -ХГЧ при синдроме Дауна нарушением дифференцировки цитотрофобласта в синцитиотрофобласт при этой трисомии, однако абсолютные доказательства этого предположения не найдены.

Расчет риска рождения ребенка с хромосомной аномалией проводится с помощью специальной компьютерной программы, которая учитывает возраст пациентки, результаты биохимического скрининга [РАРР-А, свободная фракция ( $\beta$ -ХГЧ)] и ультразвуковых маркеров хромосомных дефектов. Программа также учитывает поправку с учетом веса беременной, соматической патологии, курения и т.д. При определении высокого риска беременным предлагается пренатальное кариотипирование, а в случаях низкого риска пациенткам рекомендуется дальнейшее обычное обследование и наблюдение.

Скрининговое обследование в 11–13 нед беременности для комбинированного расчета индивидуального риска хромосомных аномалий наиболее целесообразно осуществлять по системе OSCAR (One Stop Clinic for Assessment of Risk), что означает комплексное обследование с расчетом риска при однократном посещении специализированной клиники. И поэтому региональные центры пренатальной диагностики, осуществляющие скрининговое обследование, должны быть оснащены не только экспертными или как минимум высокого класса ультразвуковыми аппаратами для надежной оценки эхографических маркеров хромосомных аномалий в 11–14 нед беременности, но и экспресс-анализатором биохимических маркеров, который позволяет получить результат в течение 30 мин. Следует иметь в виду, что самой распространенной причиной положительных результатов скрининга является неверное определение срока беременности, поэтому при несоответствии уровня белка норме необходимо в первую очередь уточнить срок беременности с помощью УЗИ.

В I триместре беременности наибольшие отклонения при хромосомных аномалиях у плода наблюдаются в содержании плазменного ассоциированного с беременностью белка А (ПАББ-А) и свободного  $\beta$ -ХГЧ в крови матери. ПАББ-А является протеазой, расщепляющей белки,

связывающие инсулиноподобный фактор роста 1. Низкий уровень ПАББ-А — сильный маркер, который увеличивает риск рождения ребенка с сахарным диабетом. Уровень маркеров определяют в 9–13 нед беременности. Концентрация маркеров сильнее зависит от срока беременности, чем во II триместре, поэтому окончательный расчет риска можно проводить только после точного установления размеров плода при УЗИ.

Основная доля инвазивной ПД с целью исключения хромосомных болезней проводится в группах риска, сформированных по результатам ультразвукового и биохимического скрининга. Под инвазивными методами ПД следует понимать внутриматочные вмешательства при ультразвуковом контроле в условиях операционной с целью получения плодного материала для последующего гистологического, биохимического, цитогенетического или молекулярно-генетического анализа.

Зародыш человека доступен для исследований, а значит, и для диагностики практически на любой стадии развития. Очевидно, арсенал методов и их диагностические возможности могут быть различными. Выбор инвазивного метода определяется сроком беременности, показаниями к его проведению, инструментальной и методической оснащенностью центра ПД, а также квалификацией медицинского персонала.

Трансцервикальную биопсию (или аспирацию) хориона проводят с 8-ю по 12-ю неделю беременности. Биопсийные щипцы или катетер проводят через цервикальный канал в просвет между стенкой матки и оболочками плода, проводят биопсию или аспирацию ворсин хориона в объеме 20–100 мг. Эффективность получения материала: 90% с первой попытки и 96,4–99,5% с двух попыток. Трансабдоминальную аспирацию хориона (или плаценты) проводят в виде пунктирования брюшной стенки иглой с мандреном и аспирации ворсин хориона в объеме 2–50 мг шприцем или вакуумной системой на сроках с 9,5-й по 19-ю неделю беременности.

Согласно классическим представлениям, группы риска женщин по наследственной и врожденной патологии у плода следующие: женщины в возрасте старше 35 лет; женщины, имеющие не менее двух самопроизвольных аборт на ранних сроках беременности; имеющие в семье ребенка или плод от предыдущей беременности с болезнью Дауна, с другими хромосомными болезнями, с множественными врожденными пороками, с семейным носительством хромосомных перестроек; с моногенными заболеваниями, ранее диагностированными в семье

или у ближайших родственников; применявшие перед и на ранних сроках беременности ряд фармакологических препаратов (цитостатики и другие препараты); с перенесенными вирусными инфекциями; из семьи, где было облучение кого-нибудь из супругов до зачатия.

В настоящее время группы риска для проведения инвазивной ПД формируются главным образом по результатам программ ультразвукового и биохимического скрининга, а также на основании медико-генетического консультирования. Однако существуют так называемые абсолютные показания к ПД, когда врач должен направлять беременную на консультацию к генетику сразу после постановки на учет. Эти показания включают:

- наличие у супружеской пары ребенка или плода с болезнью Дауна или другими хромосомными болезнями;
- наличие у супружеской пары ребенка или плода с множественными врожденными пороками развития;
- семейное носительство хромосомных перестроек;
- наличие в семье моногенных заболеваний: муковисцидоза, фенилкетонурии, гемофилии А и В, миопатии Дюшенна, миотонической дистрофии, адреногенитального синдрома, спинальной амиотрофии Верднига—Гоффмана, хореи Гентингтона и др.;
- ультразвуковые маркеры хромосомных болезней у плода;
- высокий риск болезни Дауна по результатам комбинированного скрининга в I триместре, биохимического скрининга маркерных сывороточных белков или наличия УЗ-маркеров во II триместре беременности. Важно помнить, что спектр показаний и объем инвазивной ПД для каждого центра ПД определяется его диагностическими возможностями.

Клетки ворсинчатого хориона и плаценты, доступные для традиционного цитогенетического анализа с 10-й до 20-й недели беременности, имеют различное экстраэмбриональное происхождение: клетки цитотрофобластического эпителия (производные трофобласта, дифференцируются на стадии морулы) и клетки мезенхимальной стромы ворсин (производные эпибласта, дифференцируются на стадии бластоцисты).

Согласно рекомендациям Европейского общества цитогенетиков<sup>1</sup>, FISH на метафазных хромосомах и интерфазных ядрах с использованием

---

<sup>1</sup> Ознакомиться с данными рекомендациями можно на сайте [http://www.eurogentest.org/fileadmin/templates/eugt/pdf/E.C.A.\\_General\\_Guidelines](http://www.eurogentest.org/fileadmin/templates/eugt/pdf/E.C.A._General_Guidelines).

ДНК-зондов является весьма информативным методом в самых разных клинических ситуациях:

- при подозрениях на микроделеционный синдром или повышенный риск микроделеционного синдрома по анамнестическим данным;
- при наличии клинических признаков, позволяющих предположить мозаичную форму определенного хромосомного синдрома;
- при подозрении на хромосомную аномалию, возникшем при стандартном цитогенетическом исследовании.

В зависимости от задач исследования могут использоваться ДНК-зонды на хромосомные участки (центромеры, теломеры, локусы, сегменты), плечи и целые хромосомы.

FISH на метафазных хромосомах показана для идентификации маркерных хромосом и дополнительного материала неизвестного происхождения на aberrантной хромосоме или при подозрении на делецию хромосомного сегмента, уточнении хромосомных перестроек и точек разрыва, а также при анализе мозаицизма.

FISH на интерфазных ядрах возможна при анализе численных и структурных аномалий кариотипа, определении хромосомного пола и уточнении хромосомного мозаицизма.

## **МЕТОД СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГЕНОМНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ**

Большие перспективы для ПД открывает метод сравнительной геномной гибридизации — CGH (comparative genomic hybridization), который позволяет сканировать весь геном человека с помощью микроматриц, четко улавливать не только хромосомные aberrации, но и тонкие субмикроскопические нарушения, невидимые под микроскопом. Недостатками этого метода на сегодняшний день являются сравнительно высокая стоимость наборов микроматриц и сложности интерпретации полученных результатов в случае выявления у плода микронарушений, отсутствующих у родителей. Наличие в сети Интернет соответствующего информационного банка данных в значительной мере помогает в решении этих проблем. Стремительное развитие метода микроматриц, возможности его автоматизации и широкое внедрение в диагностических центрах Западной Европы и США вселяют уверенность, что уже в скором будущем этот метод станет общедоступным и в России.

Метод основан на конкурентной полногеномной гибридизации двух образцов ДНК: первого — выделенного из ткани с заведомо нормальным кариотипом, а второго — из образца исследуемой ткани. После

амплификации и рестрикции полученные фрагменты ДНК контрольного и исследуемого образцов метят разными флюорохромами и проводят конкурентную гибридизацию непосредственно на цитогенетических препаратах метафазных хромосом (вариант стандартной CGH). В более усовершенствованном варианте (array-CGH) проводится гибридизация исследуемой ДНК на микроматрицах с полногеномным набором фрагментов нормальной ДНК (бактериальные клоны размером около 5000 п.о., так называемые BAC-клоны) или с иммобилизованными на микроматрицах короткими синтезированными ДНК-зондами (20–25 п.о.), соответствующими маркерным SNP-фрагментам ДНК.

При общегеномном исследовании можно выявить числовые и несбалансированные структурные аномалии любой хромосомы, а также определить изменения числа копий участка ДНК (CNV), нередко ассоциированных с патологией плода. Выборочный анализ нацелен на выявление анеуплоидий по половым хромосомам и аутосомам 21, 13, 18, а также микроделетий, приводящих к наиболее частым синдромам (Прадера–Вилли, Ангельмана, Вольфа–Хиршхорна, «кошачьего крика», Лангера–Гидиона и др.). Метод CGH не позволяет обнаружить сбалансированные перестройки хромосом, полиплоидию.

Решающий перелом в ПД произошел после 2006 г., когда впервые была показана принципиальная возможность диагностики хромосомных, а впоследствии и генных болезней путем анализа свободной ДНК плода, присутствующей в крови женщин начиная с 4–5-й недели беременности. Технология получила название неинвазивной пренатальной диагностики или неинвазивного пренатального тестирования и с 2015 г. была официально рекомендована Международным обществом по пренатальной диагностике (ISPD) для скрининга частых хромосомных болезней.

Новый неинвазивный подход в ПД наследственных заболеваний связан с исследованием клеток, ДНК или рибонуклеиновой кислоты (РНК) плода, находящихся во время беременности в периферической крови матери вследствие их трансплацентарной трансфузии.

Показано, что ДНК из клеток плода (плаценты, плодных оболочек) попадает в плазму материнской крови и может быть обнаружена при помощи молекулярно-генетических методов. В настоящее время в ряде передовых лабораторий и центров по пренатальной диагностике успешно разрабатываются высокочувствительные методы неинвазивной диагностики пола плода и его резус-принадлежности начиная с 7-й недели беременности.

**Метод секвенирования ДНК нового поколения** (new generation sequencing, NGS). Секвенирование, то есть «чтение» генетического кода всего клеточного генома является «золотым стандартом» выявления любых мутаций на уровне всего генома, индивидуальных хромосом и отдельных генов. Благодаря стремительному развитию технологии секвенирования ДНК стоимость одного «шага», то есть определение позиции одного нуклеотида, за последние 10 лет уменьшилась почти в миллион раз от первоначальной стоимости, а время секвенирования всего генома уже сократилось почти до 24 ч. Кроме того, в последние 5 лет была разработана технология выделения из генома человека только части, необходимой для синтеза белков, так называемого экзона, на долю которого приходится всего около 2% ДНК клетки. Секвенирование экзонов занимает всего несколько часов и уже используется для широкомасштабного (полногеномного) поиска мутаций, лежащих в основе редких заболеваний. Благодаря серьезным усовершенствованиям появилась технология глубокого параллельного секвенирования, или секвенирования нового поколения. С этой технологией стала возможной неинвазивная диагностика частых хромосомных болезней плода по микроколичествам ДНК плода в крови беременной.

Согласно обобщенным современным данным и мнению ведущих специалистов в области ПД в мире, таких как К. Николаидес, Г. Каккл, Е. Биянчи и других, несмотря на то что неинвазивная ПД реально в 10 раз чувствительней стандартного биохимического и даже комбинированного скрининга, тест не готов заменить инвазивную ПД и традиционное кариотипирование. В настоящее время он должен рассматриваться как первичный скринирующий тест на наличие анеуплоидии у плода, неинвазивная ПД только дополняет комбинированный скрининг, и при его позитивных результатах следует рекомендовать подтверждающую диагностику инвазивными методами.

Вместе с тем как за рубежом, так и в нашей стране на протяжении последних лет идет оживленная полемика в отношении преимуществ и ограничений неинвазивного пренатального тестирования. Бурные дебаты вызывает вопрос о том, в какой мере неинвазивное пренатальное тестирование может заменить традиционные алгоритмы ПД.

Технология неинвазивного пренатального тестирования позволяет осуществлять неинвазивную диагностику хромосомных и генных болезней с использованием плавающей в крови женщины плодной ДНК уже с 9-й недели беременности. С помощью секвенирования нового поколения (NGS) и специальных компьютерных программ даже в минимальном

количестве ДНК плода, составляющем 5–10% по отношению к общему количеству ДНК в крови беременной, удается с высокой вероятностью (97–99%) определить наличие у плода частых хромосомных болезней, включая синдром Дауна, другие трисомии, нарушения числа половых хромосом, многие микроделеционные синдромы и даже ряд генных заболеваний.

Технологии неинвазивного пренатального тестирования разработаны и апробированы в Научно-исследовательском институте им. Д.О. Отта. Первые результаты теста неинвазивного пренатального тестирования, полученные при исследовании 149 образцов крови беременных, доказали клиническую ценность данного анализа для выявления трисомии плода по хромосомам 21, 18 и 13. Из 149 образцов были выявлены 22 образца с анеуплоидиями, что в дальнейшем было подтверждено методом цитогенетического анализа кариотипа плода. В 21 образце с анеуплоидиями в 57% случаев встречалась трисомия 21, в 24% — трисомия 18 и в 9% — трисомия 13. В одном образце выявлена анеуплоидия по хромосомам 21 и 13 одновременно и в одном случае — трисомия по хромосоме X. Не было зарегистрировано ложноположительных результатов, 100% трисомий были подтверждены кариотипированием после инвазивной диагностики. Полученная специфичность соответствовала ожидаемой и составила более 99,9%. Чувствительность метода — 100%.

Американская ассоциация акушеров-гинекологов (2013) рекомендовала применять метод СГН для анализа всех плодов с ультразвуковыми маркерами при отсутствии видимых нарушений кариотипа.

Основными лимитирующими факторами в подобных исследованиях являются сложность идентификации фракции внеклеточной ДНК и отнесение того или иного фрагмента к эмбриональной или материнской внеклеточной ДНК.

Например, число копий фетальной хромосомы может быть определено путем сравнения количества прочтений последовательностей хромосомы, представляющей интерес, с количеством прочтений эталонных хромосом. Хромосома 21 составляет примерно 1,3% общей аутосомной ДНК в геноме, а человек с трисомией 21 имеет 1,5-кратное увеличение ДНК из этой хромосомы до 1,85% общего количества. Однако в образце крови с фракцией внутриклеточной ДНК плода в 15% случаев количество фрагментов ДНК, происходящих из хромосомы 21, будет увеличиваться примерно с 1,3 до 1,4%. Следовательно, анализ должен быть очень точным, чтобы иметь возможность обнаружить небольшую разницу в генетическом материале из соответствующей хромосомы.

Эту технологически сложную задачу удалось решить группе исследователей из Великобритании, используя основное для большинства технологий NGS массивное параллельное секвенирование. Достоверность данной технологии подтверждена для скрининга фетальных анеуплоидий. Данный метод обеспечивает более низкие значения ложноположительных показателей, чем стандартный комбинированный скрининг. Чувствительность метода составляет 99,94% для трисомии 21 и 100% для трисомий 18 и 13; специфичность — 99,46% для трисомии 21, 99,24% для трисомии 18 и 100% для трисомии 13. Известно, что основными показаниями для инвазивной пренатальной диагностики являются повышенный материнский возраст, а также риск рождения ребенка с анеуплоидией по результатам комбинированного скрининга. В США большинство страховых компаний финансируют неинвазивное пренатальное тестирование для беременных с высокой степенью риска, хотя некоторые из них расширили охват до всех беременных. В некоторых юрисдикциях, таких как Гонконг и Сингапур, неинвазивное пренатальное тестирование доступно только на коммерческой основе.

В Европе (Дания, Франция, Нидерланды и Швейцария) предлагают государственное финансирование неинвазивного пренатального тестирования при повышенном риске рождения ребенка с анеуплоидиями. На сегодняшний день Бельгия является единственной страной, которая использует неинвазивное пренатальное тестирование в качестве первичного скрининга.

Таким образом, метод неинвазивного пренатального тестирования доказал свою надежность и, скорее всего, в ближайшие годы заменит классический комбинированный скрининг I триместра с последующими инвазивными процедурами. Относительно высокая стоимость неинвазивного пренатального тестирования и отсутствие компенсации его стоимости страховыми компаниями в России являются единственными недостатками данного метода. Учитывая ожидаемое дальнейшее снижение стоимости данного типа исследований, технология неинвазивного пренатального тестирования на основе секвенирования генома применима в клинической практике и заслуживает широкого использования в будущем.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Алтынник Н.А. Значение ультразвуковой оценки толщины воротничкового пространства плода в ранние сроки беременности для пренатальной диагностики хромосомных аномалий : дисс. ... канд. мед. наук. М., 2002. 176 с.



Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Новые возможности генетической пренатальной диагностики // Журнал акушерства и женских болезней. 2015. Т. LXIV. Вып. 2. С. 4–12.

Баранов В.С., Кузнецова Т.В. Цитогенетика эмбрионального развития человека. Научно-практические аспекты. СПб. : Издательство Н-Л, 2007. 640 с.

Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Кашеева Т.К., Ивашенко Т.Э. Пренатальная диагностика наследственных болезней. Состояние и перспективы. СПб. : Эко-Вектор, 2017.

Ивашенко Т.Э., Вашукова Е.С., Козюлина П.Ю. и др. Первый опыт применения NGS секвенирования для проведения неинвазивного пренатального тестирования // Генетика. 2019. Т. 55, № 10. С. 1151–1157.

Ионова С.Г., Цымбалова И.П., Сидорова А.В. Диагностическая ценность расширенного воротникового пространства в сочетании с доплеровским исследованием плодово-плацентарного кровотока в I триместре беременности при врожденной и наследственной патологии // Пренат. диагн. 2004. Т. 3, № 3. С. 233.

Исхакова Г.М., Лукманова Г.И., Мусыргалина Ф.Ф. и др. Современные методы пренатальной диагностики и неонатального скрининга на наследственные болезни : учебное пособие. Уфа : Изд-во ФГБОУ ВО БГМУ, 2016. 76 с.

Клипа М.В., Панкова Е.Е., Голихина Т.А. и др. Пренатальная диагностика синдрома Дауна в Краснодарском крае: успехи и проблемы // Пренат. диагн. 2004. Т. 3, № 4. С. 261–264.

Медведев М.В. Пренатальная эхография. Дифференциальный диагноз и прогноз. М. : Реал Тайм, 2009.

Некрасова Е.С., Коротеев А.Л., Кузнецова Т.В., Баранов В.С. Новый подход к расчету риска при проведении скринингового ультразвукового исследования в первом триместре беременности // Пренат. диагн. 2005. Т. 4, № 1. С. 22–28.

Некрасова Е.С., Талантова О.Е., Коротеев А.Л., Баранов В.С. Случаи пренатальной диагностики множественных пороков развития в конце I триместра беременности // Пренат. диагн. 2004. Т. 3, № 2. С. 31–34.

Новикова И.В., Лазюк Г.И., Прибушения О.В. и др. Морфологическое исследование сердца у плодов с хромосомными болезнями, абортированных после пренатальной диагностики в I триместре беременности // Пренат. диагн. 2004. Т. 3, № 3. С. 197–202.

Пренатальная диагностика наследственных и врожденных болезней / под ред. Э.К. Айламазяна, В.С. Баранова. СПб. : МЕДпресс-информ, 2006. 415 с.

Современные алгоритмы и новые возможности пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний : методические рекомендации / под ред. В.С. Баранова, Э.К. Айламазяна. СПб. : Издательство Н-Л, 2013. 156 с.

Antolin E., Comas C., Torrents M. et al. The role of ductus venosus blood flow assessment in screening for chromosomal abnormalities at 10–16 weeks of gestation // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2001. Vol. 17. P. 295–300.

Bianchi D.W., Parker R.L., Wentworth J. et al. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening // *N. Engl. J. Med.* 2014. Vol. 370. P. 799–808.

Bustamante-Aragón A., Rodríguez de Alba M., Perlado S. et al. Non-invasive prenatal diagnosis of single-gene disorders from maternal blood // *Gene.* 2012. Vol. 504. P. 144–149.

Cernat A., De Freitas C., Majid U. et al. Facilitating informed choice about non-invasive prenatal testing (NIPT): a systematic review and qualitative meta-synthesis of women's experiences // *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019. Vol. 19. P. 27.

Cicero S., Bindra R., Rembouskos G. et al. Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 using fetal nuchal translucency, absent fetal nasal bone, free beta hCG and PAPP-A at 11 to 14 weeks // *Prenat. Diagn.* 2003. Vol. 23, N 4. P. 306–310.

Clur S.A., Timmerman E., Snijders R.J.M., Bilardo C.M. Are NT and ductus venosus independent predictors of fetal congenital heart defects? // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2008. Vol. 32. P. 263.

De Mooij Y.M., Bekker M.N., Haak M.C. et al. Ductus venosus flow velocities in first-trimester fetuses with increased nuchal translucency in relation to the type of cardiac defect // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2009. Vol. 34. Suppl. L. P. 126.

Dhallan R., Guo X., Emche S. et al. A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study // *Lancet.* 2007. Vol. 369. P. 474–481.

Fan H.C., Blumenfeld Y.J., Chitkara U. et al. Non-invasive diagnosis fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood // *PNAS.* 2008. Vol. 105. P. 16266–16271.

Hook E.B. Chromosome abnormalities: prevalence, risks and recurrence // *Prenatal Diagnosis and Screening* / Eds. Brock D.L.H., Rodeck C.H., Ferguson Smith M.A. Edinburgh : Churchill Livingstone, 1992. P. 351–392.

Johansson L.F., de Weerd H.A., de Boer E.N. et al. NIPTeR: an R package for fast and accurate trisomy prediction in non-invasive prenatal testing // *BMC Bioinformatics.* 2018. Vol. 19, N 1. P. 531.

Kim S.K., Hannum G., Geis J. et al. Determination of fetal DNA fraction from the plasma of pregnant women using sequence read counts // *Prenat. Diagn.* 2015. Vol. 35, N 8. P. 810–815.

Li H., Handsaker B., Wysoker A. et al. The sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools // *Bioinformatics*. 2009. Vol. 25, N 16. P. 2078–2079.

Liao C., Yin A.-H., Peng C.-F. et al. Non-invasive prenatal diagnosis of common aneuploidies by semiconductor sequencing // *PNAS*. 2014. Vol. 111. P. 7415–7420.

Lo P.S.S., Wang W., Zhang H.Y. et al. Secondary findings from non-invasive prenatal testing for common fetal aneuploidies by whole genome sequencing as a clinical service // *Prenat. Diagn.* 2013. Vol. 33. P. 602–608.

Lo Y.M., Corbetta N., Chamberlain P.F. et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum // *Lancet*. 1997. Vol. 350, N 9076. P. 485–487.

Martinez J.M., Comas M., Borrell A. et al. Abnormal first-trimester ductus venosus blood flow: a marker of cardiac defects in fetuses with normal karyotype and nuchal translucency // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2010. Vol. 35. P. 267–272.

Monni G., Zoppi M.A., Ibba R.M. et al. First-trimester nuchal translucency and nasal bone assessment for Down syndrome screening at a single centre // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2006. Vol. 28. P. 362.

Nicolaides K.H. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks // *Prenat. Diagn.* 2011. Vol. 31. P. 7–15.

Nicolaides K.H., Spencer K., Avgidou K. et al. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2005. Vol. 25. P. 221–226.

NIPT Education for Health Care Professionals : Illumina Inc., 2018. URL: <https://www.illumina.com/clinical/reproductive-genetic-health/nipt/healthcare-providers.html> (date of access: 09.02.2020).

Orlandi F., Rossi C., Orlandi E. et al. Incorporation of nasal bone assessment into first-trimester Down syndrome screening with free beta hCG, PAPP-A and nuchal translucency // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2006. Vol. 28. P. 420–421.

Otano L., Aiello H., Igarzabal L. et al. Association between first trimester absence of fetal nasal bone on ultrasound and Down syndrome // *Prenat. Diagn.* 2002. Vol. 22, N 10. P. 930–932.

Parker M.J., Budd J.L.S., Draper E.S. et al. Trisomy 13 and trisomy 18 in a defined population: epidemiological, genetic and prenatal observations // *Prenat. Diagn.* 2003. Vol. 23. P. 856–860.

Snijders R.J., Noble P., Sebire N. et al. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10–14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group // *Lancet*. 1998. Vol. 352. P. 343–346.

Sparks A.B., Struble C.A., Wang E.T. et al. Non-invasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18 // *Am. J. Obstet Gynecol.* 2012. Vol. 206, N 319. P. e1–e9.

Valera-Lema L., Punal-Rioboo J., Ballini L. Rapid assessment of other health technologies using the HTA Core Model® for Rapid Relative Effectiveness Assessment European Network for Health Technology Assessment. Project ID: OTCA03. 2018. Screening of fetal trisomies 21, 18 and 13 by noninvasive prenatal testing.

Zoppi M.A., Ibba R.M., Axiana C. et al. Absence of fetal nasal bone and aneuploidies at first-trimester nuchal translucency screening in unselected pregnancies // *Prenat. Diagn.* 2003. Vol. 23, N 6. P. 496–500.