

Тезисы Всероссийской научно-практической конференции «Пренатальная диагностика наследственных и врождённых заболеваний: настоящее и будущее»,

Санкт-Петербург, 22—23 мая 2015 г.*

Неинвазивная пренатальная диагностика анеуплоидий методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) в группе женщин высокого риска

Баранова Е.Е., Каретникова Н.А., Шубина Е.С., Коростин Д.О., Екимов А.Н., Парсаданян Н.Г., Бахарев В.А., Трофимов Д.Ю., Гус А.И., Тетруашвили Н.К., Сухих Г.Т.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

117997, г.Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
e-mail: baranova.gen@gmail.com

Хромосомные аномалии (ХА) являются одной из ведущих причин перинатальной смертности и детской инвалидности в развитых странах. В существующем в настоящее время скрининге беременных оцениваются только косвенные маркёры ХА плода, а инвазивная пренатальная диагностика, обеспечивающая необходимый уровень достоверности в 1—3% случаев осложняется потерей беременности и противопоказана женщинам с угрожающим и привычным выкидышем. Выход в данном случае — применение неинвазивной пренатальной диагностики анеуплоидий (Non Invasive Prenatal Test — NIPT), основанной на анализе свободной циркулирующей в крови беременной женщины фетальной ДНК. Цель: оценить возможность применения неинвазивной пренатальной диагностики анеуплоидий методом высокопроизводительного секвенирования в группе беременных высокого риска хромосомной патологии плода. Обследован биологический материал 200 женщин в сроке беременности 10—20 недель (медиана — 14 недель). Результаты NIPT оценивали с помощью биоинформатической обработки данных секвенирования ДНК, выделенной из плазмы крови беременных женщин, для сравнения покрытия внутри образца применяли T-test. В качестве метода сравнения использовали цитогенетическое исследование — G-окрашивание клеток ворсин хориона, плаценты, амниотической жидкости по стандартному протоколу. При сравнении с инвазивной пренатальной диагностикой были получены идентичные результаты в 196 случаях из 200. Достоверно определены 17 из 19 образцов с трисомией 21, 8 из 8 образцов с трисомией 18, 1 образец с трисомией 16, 1 образец с трисомией 13 и 4 из 4 образцов с моносомией X. Ложноотрицательные результаты (2 образца с трисомией 21) были получены для образцов с низким содержанием фетальной ДНК, а два ложноположительных результата — 1 по трисомии 13 и 1 по моносомии X вероятно были обусловлены плацентарным мозаицизмом. Учитывая полученную высокую чувствительность и специфичность для оценки анеуплоидий по 21, 18 и X хромосомам, а также определения пола плода (наличие хромосомы Y) данный тест может быть рекомендован для пренатального скрининга.

Пренатальный скрининг рождения ребёнка с синдромом Дауна в 1 триместре: сравнение двух расчётных программ

Вербицкая Н.А., Тронова С.Г., Сафонова Н.А., Беляева Т.И., Ворошнин В.В. Николаева Е.Б.

Лаборатория пренатального скрининга, ГБУЗ СО «КДЦ» ОЗМР 620067, г.Екатеринбург, ул. Флотская, 52, факс (343) 374-31-10
E-mail: VerbitskayaN@yandex.ru

На территории Свердловской области использовались две программы для расчёта риска рождения ребёнка с хромосомной патологией: «Life Cycle» (Wallac/Perkin Elmer Life & Analytical Science, Turku, Finland) и «Astraia» (Astraia software gmbh, Germany), которые учитывают: возраст беременной женщины, её анамнез, биохимические маркёры и ультразвуковые маркёры. Целью работы было сравнение двух расчётных программ, используемых для проведения пренатального скрининга рождения ребёнка с синдромом Дауна.

В исследовании приняло участие 9521 женщина. Средний возраст пациенток составил $28,7 \pm 5,2$ года. Все беременные имели одноплодную беременность, наступившую естественным путём. В исследуемой группе женщин было выявлено 77 случаев синдрома Дауна у плодов: у 67 плодов синдром Дауна был выявлен пренатально, у 9 скрининг-негативных женщин родились дети с трисомией 21 хромосомы, одна пациентка имела высокий риск рождения ребёнка с трисомией 21 хромосомы, но отказалась от прохождения инвазивной процедуры и родила ребёнка с синдромом Дауна. Так же пренатально было выявлено 15 случаев плодов с синдромом Эдвардса, 6 — с синдромом Тернера, 6 — с синдромом Патау, 1 — с трисомией 16 хромосомы, 5 случаев триплоидии у плодов.

Для анализа эффективности проведённого пренатального скрининга в двух расчётных программах нами были рассчитаны чувствительность и специфичность: чувствительность метода — 88,3% для «Astraia» и 85,7% для «Life Cycle», специфичность — 95,9% для «Astraia» и 93,4% для «Life Cycle», ложноположительные результаты — 4,1% для «Astraia» и 6,6% для «Life Cycle». В ходе проведённого исследования мы сравнили процент выявления и процент ложноположительных значений при уровне границы индивидуального риска рождения ребёнка с синдромом Дауна $\leq 1:100$. Процент выявления в программе «Astraia» 88,3% и 85,7% в «Life Cycle», при ложноположительных значениях 4,8% и 7,2% соответственно.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что обе расчётные программы в равной степени можно использовать для проведения пренатального скрининга. Но по рассчитанным показателям таким как, чувствительность, специфичность, эффективность выявления «Astraia» предпочтительней для расчёта риска рождения ребёнка с синдромом Дауна.

* Конференция проходит при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект №15-04-20250г

Год	2012		2013		2014		Всего
	Кровь плода	Ворсины хориона	Кровь плода	Ворсины хориона	Кровь плода	Ворсины хориона	
Всего пренатальных исследований	395	108	318	295	319	403	1838
	503		613		722		
Выдано заключений	395	99	313	293	314	402	1816
	499		606		716		
	В 22 случаях результат не получен, 11 исследований проведено с целью забора материала для ДНК диагностики моногенных заболеваний						
Выявлено хромосомных заболеваний у плодов	27	26	26	47	17	61	204
	53		73		78		
% выявляемости	6,8	26,3	8,3	16,0	5,4	15,2	11,3%
	10,7		12,0		10,9		
Выполнено исследований FISH	40		143		84		267
Выявлено патологии	13		28		10		51
% выявляемости	36,1		21,1		14,1		21,3

Итоги работы цитогенетической лаборатории краевого центра пренатальной диагностики за 2012—2014 гг.

*Гергерд И.Г., Шпилов А.А.,
Плотникова О.В., Гончарова О.Д.*

*КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края» г.Барнаул
Алтайская межрегиональная медико-генетическая консультация
Irina16053@mail.ru*

С целью улучшения раннего выявления наследственной и врожденной патологии плода, снижения перинатальной и младенческой смертности в Алтайском крае на базе Алтайской межрегиональной медико-генетической консультации организован Краевой центр пренатальной (дородовой) диагностики нарушений развития ребёнка как структурное подразделение КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края».

Центр организован как ведущее лечебно-профилактическое учреждение края, обеспечивающее современные принципы диагностики врожденных и наследственных заболеваний плода.

Итоги работы цитогенетической лаборатории Краевого центра пренатальной диагностики за период 2012—2014 гг. отражены в таблице.

За отчетный период выявлено 37 нозологических форм хромосомных болезней у плодов. Отмечается ежегодный прирост проводимых исследований, увеличение выявляемости хромосомных болезней у плодов. В динамике отмечается смещение акцента на проведение инвазивной пренатальной диагностики в I триместре беременности. Отмечается значительно большая выявляемость хромосомной патологии при проведении диагностики в I триместре.

Мозаицизм в культуре клеток амниотической жидкости

Головатая Е.И.

ГУ РПНЦ «Мать и дитя», Минск, Беларусь

Амниоцентез проводится во втором триместре беременности с целью выявления хромосомных заболеваний у плода. Мозаицизм, установленный в клетках амниотической жидкости, может отражать как мозаицизм тканей плода, так и мозаицизм клеток амниотической оболочки. Целью исследования был анализ частоты и структуры мозаицизма при кариотипировании клеток амниотической жидкости.

Цитогенетические анализы выполнялись в генетической лаборатории ГУ РПНЦ «Мать и дитя». Основным методом исследования было стандартное кариотипирование, для уточнения хромосомных перестроек использовался метод флуорес-

центной гибридизации *in situ* (FISH). У живорожденных проводилось кариотипирование лимфоцитов периферической крови методом GTG-banding.

За 1996—2014 гг. проанализировано 43066 образцов амниотической жидкости. Мозаицизм выявлен в 126 случаях (0,29%). Наиболее часто встречался мозаицизм по количественным аномалиям половых хромосом — 49 образцов (38,9%), с одинаковой частотой наблюдался мозаицизм по количеству аутосом и наличию маркерной хромосомы в кариотипе — по 27 образцов (21,4%), мозаицизм по структурным перестройкам установлен в 23 образцах (18,3%). Среди числовых аномалий аутосом мозаицизм по 21 хромосоме выявлен в 11 образцах, по 20-й хромосоме — в 7 образцах, по 16-й — 3 образца, по 2, 4, 8, 13, 15 и 17 — по одному образцу. Среди количественных аномалий половых хромосом наиболее частыми были кариотипы 45,X/46,XX (23 образца) и 45,X/46,XY (13 образцов). Практически с равной частотой наблюдались структурные перестройки аутосом (11 образцов) и половых хромосом (12 образцов). Среди структурных перестроек выявлены делеции, изохромосомы (по длинным плечам X, Y, 20 хромосом и по коротким плечам Y, 9 и 12 хромосом), дериватные и кольцевые хромосомы.

Беременности были прерваны в 67 случаях, информация об исходах беременностей недоступна в 5 случаях. В 54 случаях родились дети, кариотип установлен по лимфоцитам периферической крови у 12 детей, и у 9 из них обнаружен мозаицизм и, таким образом, подтвержден результат, полученный при кариотипировании клеток амниотической жидкости. Принятие решения о продолжении беременности в значительной степени зависело от наличия пороков развития плода, выявленных при ультразвуковом исследовании (УЗИ) и от типа хромосомной аномалии. Так, в 10 из 11 беременностей плодами с пренатально выявленным синдромом Дауна (от 20 до 80% аномальных клеток) были прерваны. У одного рожденного ребёнка подтвердилась мозаичная форма синдрома Дауна. В единственном случае выявления в клетках амниотической жидкости мозаицизма по трисомии 13-й хромосомы (45% аномальных клеток) и отсутствии пороков на УЗИ семья приняла решение о проведении повторного амниоцентеза (подтвержден мозаицизм) и кордоцентеза (установлен нормальный кариотип). В результате беременности была продолжена, родилась здоровая девочка. С другой стороны при выявлении мозаичной формы дополнительной маркерной хромосомы или мозаицизма по моносомии X, как при женском, так и мужском кариотипе, и отсутствии пороков развития у плода на УЗИ большая часть пациентов принимает решение о продолжении беременности и рождении ребёнка.

Мозаицизм при кариотипировании культуры клеток амниотической жидкости выявлен в 0,29% случаев. На решение о тактике ведения беременности влияют результаты УЗИ и тип хромосомной перестройки.

Эффективность комбинированного пренатального скрининга в Республике Саха (Якутия)

Готовцева Л.В.^{1,2}, Сухомясова А.Л.^{1,2}, Павлова К.К.^{1,2},
Тапыев Е.В.^{1,2}, Петрова А.А.^{1,2}, Павлова Т.Ю.²

¹ ГБУ РС (Я) «Республиканская больница №1 — Национальный центр медицины», Якутск, Сергеляхское ш., 4, lucia@list.ru
² ФГУ Якутский научный центр КМП ФАНО, Якутск

В 2014 г. выполнено 246 инвазивных процедур 244 беременным. Из них в 234 случаях проводилось пренатальное кариотипирование, в 16 — диагностика моногенных заболеваний, при их диагностике одновременно взят анализ на кариотип у 6 беременных. Возрастные беременные составили 37%, из них 20% беременные в возрасте 39 лет и старше.

За 2014 г. по комбинированному (ультразвуковому и биохимическому) пренатальному скринингу в сроки 11–13 нед. 6 дней обследованы 10315 беременных (охват 75,3%). Выявлено с высоким риском (риск 1:100 и меньше) 164 беременных (1,6% от обследованных). Инвазивная диагностика после обследования в МГК проведена 115 беременным. Соответственно процент инвазивных исследований от группы риска составил 70%. Из них выявлено хромосомной патологии — 28 (с.Дауна — 10, с.Эдвардса — 10, с. Патау — 3, с.Шерешевского—Тернера — 3, другие хромосомные аномалии — 2). Эффективность пренатального кариотипирования по РС (Я) составила по комбинированному скринингу — 24,3%. Кроме того, вне скрининга выявлено хромосомной патологии — 5 (с.Дауна — 2, с.Эдвардса — 1, другие хромосомные аномалии — 2). Т.е., всего выявлено пренатально в РС(Я) — 33 случая. Все беременности прерваны по решению семей.

С проведением комбинированного пренатального скрининга повысилась эффективность выявления хромосомных аномалий, увеличилось количество хорионбиопсий в связи с ранними выявлениями эхографических и биохимических маркёров.

Также появилась возможность дифференциальной диагностики хромосомных и моногенных заболеваний, в частности, с 3М-синдромом (аутосомно-рецессивное заболевание), при котором в I триместре беременности наблюдается увеличение воротникового пространства, но в отличие от хромосомных заболеваний во всех случаях отмечался низкий риск хромосомной аномалии по комбинированному пренатальному скринингу. В связи с этим при увеличении воротникового пространства у беременных, не вошедших в группу высокого риска, проводится ДНК-тестирование на носительство этноспецифических моногенных заболеваний супругов, экспертное ультразвуковое исследование из-за опасения нарушения прав и свобод людей, опасности принуждения для решения евгенических задач.

Анализ причин отказов от инвазивной пренатальной диагностики женщин из группы высокого риска по хромосомным аномалиям плода в Московской области

Жученко Л.А.^{1,2}, Голошубов П.А.¹, Ижевская В.Л.³

¹ ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, e-mail mrrcm@mail.ru
² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии»
³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»

Программы пренатального скрининга все шире используются в практическом здравоохранении, в них участвуют ежегодно сотни тысяч человек, и все больше семейных пар сталкиваются с необходимостью принимать важные решения, основываясь на полученной при тестировании информации. Программы пренатального скрининга являются предметом широкого общественного обсуждения из-за опасения нарушения прав и свобод людей, опасности принуждения для решения евгенических задач.

Основываясь на принципах медицинской этики, при проведении скрининговых программ рекомендуется обеспечить её участникам равную доступность, полную и непредвзятую информацию о целях, способах проведения обследования и его последствиях для пациента, добровольность участия в программе и возможность отказаться от проведения теста.

Массовое обследование беременных женщин по программе раннего пренатального скрининга в Московской области началось в 2011 г., за 2011—2013 гг. обследовано свыше 150 000 женщин (около 70% от всех беременных, проживающих в регионе). В группу риска по хромосомной патологии (риск 1:100 и выше) вошли 2380 женщин, 1668 из них (70%) прошли инвазивную диагностику. Проведён предварительный анализ причин отказов от инвазивной пренатальной диагностики 416 женщин беременных женщин из группы высокого риска, проживающих в Московской области, за период с 19.12.2012 по 28.10.2014.

Причины отказов формулировались женщинами самостоятельно, затем ответы пациенток были переформулированы (не интерпретированы) для отнесения в соответствующую группу. Проведён анализ распределения этих женщин по возрасту, месту жительства, социальному статусу, наличию/отсутствию детей, наличию/отсутствию больных детей, наличию/отсутствию в анамнезе спонтанного прерывания беременности и медицинских аборт. Распределение респондентов по возрасту: до 20 лет — 11 чел. (3%), 21—30 лет — 149 (36%), 31—40 лет — 233 (56%), 41 год и более — 23 чел. (6%). Большинство проживало в городах (297 чел., 71%), в селе проживали 118 чел. (2%). В выборке преобладали служащие (175 чел., 42%), представители рабочих профессий (116 чел., 28%) и домохозяйки (105 чел., 25%), 277 чел. (66%) уже имели детей, в том числе 21 чел. (5%) — детей с хромосомными аномалиями, врождёнными пороками развития и другими заболеваниями. У 101 чел. (24%) были в анамнезе спонтанные прерывания беременности, а 135 чел. (32%) делали медицинские аборты. Среди причин отказа от инвазивной диагностики чаще всего называли боязнь осложнений процедуры — 145 чел. (35%), неготовность принять решение в раннем сроке беременности — 91 чел. (22%), решение рожать ребёнка независимо от диагноза — 78 чел. (19%), уверенность, что ребёнок здоров — 55 чел. (13%). Реже назывались запрет родственников — 8 чел. (2%), желание пройти обследование в другой клинике — 4 чел. (1%), 2 чел. (0,5%) медицинские противопоказания; 12 (3%) респондентов не смогли сформулировать мотив отказа от процедуры, а 21 чел. (5%) выбрали прерывание беременности без проведения инвазивной процедуры. Обращает на себя внимание, что при отказе от инвазивной процедуры женщины выбирали медицинские и бытовые причины, не ссылаясь на религиозные и этические установки. Высокая доля женщин, испытывающих страх осложнений и не готовых к принятию решения, может свидетельствовать о дефектах информационной и психологической составляющих медико-генетического консультирования, требующих дополнительной подготовки врачей-генетиков и, возможно, привлечения в ряде случаев психологов.

Работа выполнялась при поддержке РФФИ (проект 13-06-00710) и РГНФ (проект 15-03-00822)

К вопросу об эффективности раннего пренатального скрининга на территории Ивановской области

Зайцева Е.С., Артемичева И.Л., Жукова Т.П.,
Кутюева Е.И., Ратникова С.Ю.

ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Гордкова» МЗ РФ
153045, г.Иваново, ул. Победы, 20, e-mail: ivmedgen@mail.ru

В целях повышения эффективности пренатального выявления врождённых пороков развития (ВПР) и хромосомных аномалий с 2010 г. на территории Российской Федерации в рамках Нацпроекта «Здоровье» осуществляется ранний пренатальный скрининг (РПС), включающий УЗИ экспертного уровня, исследу-

дование материнских сывороточных маркёров хромосомной патологии (РАРР-А, β -ХГЧ), обработку полученных данных с помощью программы «Astra», аудит. Ивановская область включилась в это направление в конце 2012 г. Мы проанализировали результаты РПС за 2 года (2013—2014). Процент охвата пациенток ранним пренатальным скринингом, вставших на учёт в I триместре беременности, составил в 2013 г. 87%, в 2014 г. — 97% (для сравнения, в 2012 г., т.е. до внедрения РПС — всего 75%). Процент охвата биохимическим скринингом в рамках РПС — 99%, что значительно выше, чем в предыдущие годы, когда исследование материнских сывороточных маркёров проводилось лишь у 20—30% женщин данного срока беременности.

Анализ показал, что работа в новой системе пренатальной диагностики позволила значительно уменьшить группу риска по хромосомной патологии у плода (в 2012 г. она составила около 20%, в 2013 г. — 0,7%, в 2014 г. — 1,1%) и тем самым снизить число необоснованных инвазивных вмешательств. Значительно повысилась эффективность пренатального выявления хромосомной патологии (в 2012 г. — 12,7%, в 2013 г. — 37,5%, в 2014 г. — 23,4%).

Возросло число выявленных антенатально летальных и трудно корригируемых ВПР (в 2012 г. — 9, в 2013 г. — 15, в 2014 г. — 15).

Своевременная диагностика тяжёлых ВПР и элиминация плодов с тяжёлыми ВПР и хромосомными аномалиями внесли существенный вклад в снижение показателей младенческой смертности в Ивановской области (в 2013 г. на 2,3%, в 2014 г. — на 2,7%).

Старые заботы и новые этические проблемы в пренатальной диагностике

Ижевская В.Л.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д.1, e-mail izhevskaya@med-gen.ru

В последнее время активно развиваются новые технологии пренатальной и преимплантационной диагностики. В практике уже используется неинвазивная пренатальная диагностика патологии плода путем анализа ДНК плода, выделенной из сыворотки крови беременной женщины (в первую очередь синдрома Дауна). Такое исследование позволяет получить информацию о здоровье плода без риска потери беременности в результате инвазивной процедуры для получения материала для генетического анализа. При этом важно понимать, что неинвазивная процедура не позволяет избежать этических проблем, свойственных пренатальной диагностике, связанных с одним из главных следствий пренатальной диагностики — абортom поражённого плода. Поэтому особое внимание должно быть уделено предоставлению пациентам непредвзятой информации, информированному согласию и информированному выбору при использовании неинвазивной пренатальной диагностики. Многими экспертами уже высказываются опасения, что благодаря использованию неинвазивных методов возможно увеличение использования пренатальной диагностики в немедицинских целях, например, для селекции по полу. Применение новых технологий генетического тестирования привело к изменению их правового регулирования в некоторых западных странах. В пренатальной/преимплантационной диагностике используются новые методы анализа генома (микроматричного анализа, секвенирования генома нового поколения). Новые технологии исследования генома в сочетании с современными репродуктивными технологиями (экстракорпоральное оплодотворение, преимплантационная диагностика), предлагаемые обществу, создают новые этические вызовы. Биотехнологические компании начинают предлагать тестирование для выбора детей с заданными признаками. Новый этап дискуссии об этичности применения новых технологий связан с потенциальным применением технологий редактирования генома эмбриона для «исправления» генетических дефектов. Эти вызовы дают новые поводы для дискуссий о

том, какое генетическое тестирование полезно, а что следует признать этически неприемлемым.

Работа выполнялась при поддержке РФФИ (проект 13-06-00710) и РГНФ (проект 15-03-00822)

Чувствительность и специфичность метода количественной флуоресцентной ПЦР в пренатальной диагностике анеуплоидий

Калашикова Е.А., Воскобоева Е.Ю., Судакова Е.В., Давыдова О.Н., Иванюк А.С., Семенова Е.А., Цветкова Т.Г., Кокаровцева С.Н.

ГБУЗ МО МОНИИАГ, Москва, 100101, Покровка 22а E-mail: elenakalash@yandex.ru

Инвазивную пренатальную диагностику проводили беременным женщинам группы высокого риска, сформированной при массовом раннем комбинированном скрининге I триместра беременности в Московской области. Целью исследования являлось определение чувствительности и специфичности метода количественной флуоресцентной ПЦР (КФ-ПЦР) в определении наиболее частых анеуплоидий в пренатальном периоде (по хромосомам 13, 18, 21, X, Y) в 1251 образце плодного материала.

КФ-ПЦР основана на амплификации полиморфных микросателлитных участков хромосом (STR-локусов) с помощью флуоресцентно-меченых праймеров и последующим фрагментным анализом продуктов ПЦР на генетическом анализаторе. Валидирующими методами для каждого образца являлись методы стандартного кариотипирования ($n = 1251$) и дополнительно по показаниям — флуоресцентной гибридизации *in situ* ($n = 27$).

В таблице представлены результаты по чувствительности и специфичности метода КФ-ПЦР за период 2011—2013 гг. с полным анализом исходов беременности.

Выявленные анеуплоидии	N	Чувствительность	ЛПР	Специфичность
Трисомия 21	241	99,2%	0,1%	99,9%
Трисомия 18	110	99,1%	0,0%	100%
Трисомия 13	33	100%	0,08%	99,9%
Анеуплоидии по хромосомам X и Y	114	98,2%	0,16%	99,8%

Метод КФ-ПЦР показывает высокую степень чувствительности и специфичности, низкие ложноположительные результаты (ЛПР) и приемлем в наибольшей степени для быстрого анализа анеуплоидий в отсутствие возможности определить полный кариотип плода другими методами и для подтверждения результатов неинвазивного теста по 5 хромосомам.

При назначении данного исследования в пренатальном периоде и интерпретации его результатов при медико-генетическом консультировании следует учитывать ограничения данного метода при различных случаях мозаицизма, контаминации материнскими тканями, псевдомозаицизма (при анализе культур клеток), тетраплоидии и хромосомных реструктур.

Современные возможности пренатальной диагностики при увеличении толщины воротникового пространства (ТВП) у плода

Каретникова Н.А., Екимов А.Н., Баранова Е.Е., Бахарев В.А., Трофимов Д.Ю., Гус А.И.

ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, г.Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, e-mail: n_karetnikova@oparina4.ru

Одним из значимых эхографических маркёров хромосомной патологии плода является увеличение толщины воротни-

кового пространства (ТВП). Увеличение ТВП — не показание к прерыванию беременности, а основание к инвазивной пренатальной диагностике кариотипа плода, который может быть как нормальным, так и патологическим. Однако даже при нормальном хромосомном наборе, по данным цитогенетического анализа, возможно рождение ребёнка с задержкой и пороками развития. В настоящее время разработана методика сравнительной геномной гибридизации (aCGH), которая позволяет выявлять делеции или дупликации генетического материала размером до 20 раз меньше, чем выявляемые стандартным кариотипированием.

Цель: определение диагностической значимости увеличения размера воротниковой области плода. Обследованы 244 беременные женщины с увеличением у плода размера воротниковой области 2 мм и более, изолированное или в сочетании с другими особенностями его фенотипа, выявленное при УЗИ в I триместре беременности. В группу сравнения вошло 21 наблюдение, где женщина и/или супруг являлись носителями хромосомных аномалий или генных мутаций. Обследование осуществляли в 11–14 (n = 232) или в 17–20 (n = 33) недель беременности.

Методы — неинвазивные: общеклинические; скрининг I триместра беременности — эхография, исследование сывороточных маркёров, компьютерный анализ; цитогенетический анализ; сравнительная геномная гибридизация на микрочипах SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8x60K, (Agilent, США); и инвазивные: внутриматочные вмешательства с целью получения хориона, плаценты, амниотической жидкости.

Нарушения кариотипа при цитогенетическом исследовании выявлены в основной группе в 26,2% (n = 64): трисомия 21 — 37 наблюдений, 18 — 11 наблюдений, 13 — 4 наблюдения, нарушения количества X-хромосом — 4 наблюдения, несбалансированные структурные перестройки *de novo* — 6 наблюдений. В группе сравнения у плода женщины-носительницы робертсоновской транслокации 45,XX,der(13;14);(q10;q10) диагностирован кариотип аналогичный материнскому. Методом aCGH дополнительно обследовано 16 беременных женщин с аномальным кариотипом плода (группа №1), 20 — с нормальным (группа №2) и 21 пациентка из группы сравнения (группа №3). В группе №1 результаты молекулярно-генетического и цитогенетического метода совпали. В группе №3 методом aCGH хромосомная перестройка 45,XX,der(13;14);(q10;q10) не была обнаружена, так как имелся сбалансированный кариотип, у остальных плодов были выявлены только доброкачественные вариации числа копий ДНК (copy number variation — CNV). В группе №2 у трёх плодов выявлены патогенные CNV, в том числе выявлен ранее описанный синдром микроделеции 13q31.3q34, ассоциированный с грубыми пороками развития в сочетании с дупликацией 10q26.11q26.3. Метод aCGH преодолевает некоторые ограничения стандартного кариотипирования и может быть полезен при диагностике микрохромосомных аномалий у плодов с увеличением ТВП при его нормальном кариотипе.

Стандарты биохимического скрининга в 1-м триместре беременности

Кащеева Т.К.

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

В августе 2014 г. в Казани были подведены пятилетние итоги выполнения Территориальной программы, направленной на внедрение в регионах страны комбинированного скрининга (КС) (биохимического и ультразвукового) в 1-м триместре беременности. Такой КС начал внедряться в Санкт-Петербурге с 2003г. В результате применения КС в ряде регионов РФ отмечено значительное повышение эффективности пренатальной диагностики (ПД) при условии строгого соблюде-

ния определённых стандартов биохимического и УЗ скрининга. Разобщённость действий специалистов УЗ и акушерской служб и отсутствие стандартов приводит к существенному снижению эффективности КС, к увеличению числа ложноположительных и ложноотрицательных результатов. При наличии современных анализаторов основная погрешность в биохимическом скрининге возникает за счёт ошибок определения срока беременности. Свести к минимуму влияние этой погрешности можно постоянным контролем и коррекцией медиан, либо с помощью жёсткого соблюдения стандартов УЗ измерений. Стабильность измерения толщины воротникового пространства и регистрация других УЗ маркёров хромосомной патологии у плода появляется только после большого числа самостоятельных измерений, поэтому необходимы постоянные тренировки специалиста, аудит измерений УЗ параметров на достаточной выборке пациентов с контролем качества сохранившихся изображений. Важную роль играет выбор критерия, по которому результаты скрининга будут считаться положительными (пациентки нуждаются в дополнительном обследовании) или отрицательными (пациентки не относятся в группу повышенного риска хромосомной патологии плода). Точность результатов биохимических и УЗ измерений, высокая квалификация специалиста в области пренатального консультирования позволяет уменьшить размер группы высокого риска до 1–3% и, соответственно, свести к минимуму число необходимых инвазивных процедур. В докладе проводится сравнение различных биохимических анализаторов, программ расчёта риска и оценка влияния порогового значения риска на эффективность выявления плодов с хромосомными аномалиями.

Значение биохимического пренатального скрининга в эпоху неинвазивной диагностики

Кащеева Т.К., Баранов В.С.

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

Пренатальный комбинированный (биохимический и ультразвуковой) скрининг (КС) стал рутинным методом формирования групп беременных высокого риска по рождению детей с хромосомными aberrациями (ХА) и, в первую очередь, с синдромом Дауна. Окончательный диагноз устанавливается путём проведения инвазивного вмешательства с целью получения клеток плода и анализом его кариотипа. Несомненно, существует определённый риск прерывания беременности после инвазивной пренатальной диагностики (ИПД), однако его величина согласно нашему многолетнему опыту последним зарубежным данным не превышает 0,1–0,5%. Использование современных УЗ аппаратов экспертного класса в сочетании с биохимическим анализом маркёрных белков в сыворотке крови беременной в условиях применения чётко разработанных стандартов КС и автоматических компьютерных программ расчёта риска позволяет достичь эффективности КС в ранние сроки беременности до 90–95% (при снижении числа ложноположительных результатов до 1–1,5%). Начиная с 90-х годов прошлого века предпринимались многочисленные попытки выделения клеток, а позже — нуклеиновых кислот плода, находящихся в кровотоке беременной. Неинвазивная технология обнаружения «лишней» хромосомы 21 у плода и сама неинвазивная пренатальная диагностика (НИПД) стала реальной и начала активно рекламироваться с 2011г. К настоящему времени в США, Китае и Западной Европе число НИПД составляет несколько сотен тысяч. Вместе с тем анализ большого статистического материала, свидетельствует о том, что кроме несомненных достоинств у этого метода существует ряд ограничений (количество фетальной ДНК в крови матери, многоплодная беременность, мозаицизм хромосом, наличие ложноотри-

цательных и ложноположительных результатов и др.), не позволяющих достоверно установить наличие СД у плода. На сегодня считается, что метод НИПД следует рассматривать как скринирующий, но не диагностический. В докладе обосновывается положение о том, что независимо от дальнейших успехов технологии НИПД ставший уже классическим стандартом пренатальной диагностики метод КС должен быть сохранен. Золотым стандартом ПД ещё на неопределённо долгий срок сохраняются и кариотипирование плода, дополненное при необходимости, исследование микрохромосомных нарушений. В заключение в докладе дан анализ эффективности КС, результатов ИПД в Санкт-Петербурге и обсуждаются возможности применения НИПД в алгоритме обследования беременных го-

Генетический биохимический скрининг беременных в Республике Казахстан: итоги 2014 года

Кирибаева М.С., Салимбаева Д.Н., Святова Г.С.

Республиканская медико-генетическая консультация, Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗСР РК 050020, Казахстан, г.Алматы, проспект Достык, 125, e-mail: respmgk@mail.ru

Республиканская медико-генетическая консультация НЦ АГиП МЗСР координирует работу и контролирует генетический биохимический скрининг беременных в Республике Казахстан (РК). В 2014 г. пренатальный генетический скрининг (ПС) прошли 257517 беременных, что составило 64,8%. В различных регионах РК охват ПС варьировал от 36% до 99%. ПС 1 триместра прошли 40,8% беременных, 2 триместра — 45,6% и комбинированный тест — 13,6% от общего количества прескринированных беременных. В группу риска по отклонению сывороточных маркеров (СМ) и различных сочетаний с возрастным фактором (ВФ) и УЗ-маркерами (УЗМ), вошли 72,4% беременных от общего числа беременных группы риска, из них 1718 прошли инвазивную пренатальную диагностику. Хромосомная патология (ХП) внутриутробного плода была диагностирована в 87 случаях (коэффициент эффективности ИПД 5,1% и 1:20).

В структуре показания для ИПД отклонения СМ составили 53,3%, СМ+ВФ — 29,4%, СМ+УЗМ — 11,1% и СМ+ВФ+УЗМ — 6,3%. Наиболее диагностически значимым для выявления ХП плода была комбинация СМ+ВФ+УЗМ, ХП диагностирована в 13,9% случаях (1:7). Сочетание СМ+ВФ и СМ+УЗМ были практически равнозначны (6,9%, 1:14 и 6,3%, 1:16 соответственно). Наименее значимым были СМ (2,7%, 1:37).

Были проанализированы МоМы для СМ в 1 и 2 триместрах при подтвержденной ХП. Для синдрома Дауна в 1 триместре ПАПП-А колебался от 0,12 до 1,5 МоМ (среднее 0,60 МоМ), β-ХГЧ от 0,35 до 5,0 МоМ (среднее 2,16 МоМ), во 2 триместре АФП от 0,25 до 2,31 МоМ (среднее 0,91 МоМ), β-ХГЧ от 0,8 до 6,32 МоМ (среднее 2,56 МоМ) и НЭ от 0,5 до 2,0 МоМ (среднее 1,02 МоМ). Для синдрома Эдварса в 1 триместре ПАПП-А варьировал от 0,2 до 0,82 МоМ (среднее 0,40 МоМ), β-ХГЧ от 0,2 до 1,13 МоМ (среднее 0,59 МоМ), во 2 триместре АФП от 0,49 до 1,29 МоМ (среднее 0,81 МоМ), β-ХГЧ от 0,33 до 0,84 МоМ (среднее 0,43 МоМ) и НЭ от 0,5 до 1,54 МоМ (среднее 0,97 МоМ).

Таким образом, в 2014 г. наиболее диагностически значимым для выявления ХП плода была комбинация СМ + УЗМ и наиболее информативным сывороточным маркером был β-ХГЧ, как в 1, так и во 2 триместре беременности. Для повышения качества пренатального биохимического скрининга в РК региональные медико-генетические консультации проходят внутрилабораторный, межлабораторный и международный контроль качества (RIQAS, UK).

Эффективность современных методов лабораторной диагностики хромосомных нарушений в пренатальной цитогенетике

Климова М.И., Тихонова О.А.

Медико-генетическая консультация, БУЗ ВО ВОКБ№1 Воронеж, Московский проспект, 151. e-mail: klimova_mi@mail.ru

Пренатальное кариотипирование в случае высокого генетического риска является обязательным этапом обследования беременных женщин, однако исследование кариотипа плода в первом триместре обусловило необходимость минимизировать сроки его проведения при сохранении максимальной достоверности.

Цель данной работы — анализ эффективности лабораторных методов диагностики хромосомных нарушений у плода цитогенетическими (ПЦГ), молекулярно-цитогенетическими (FISH) и молекулярными методами (MLPA) в связи с необходимостью минимизации продолжительности исследования при отсутствии чётко предписанного диагностического алгоритма пренатального кариотипирования.

Исследования кариотипа выполнены в 2013—2014 гг. на метафазных GTG-окрашенных хромосомах, полученных из клеток ворсин хориона/плаценты методом «прямой» постановки, молекулярно-цитогенетические — методом интерфазной FISH с центромерными зондами на хромосомах X, Y, 13, 18, 21 наборами Metasystems (Германия). ДНК-исследования по выявлению анеуплоидий по 13,18 и 21 хромосомам выполнены на геномной ДНК ворсин хориона методом MLPA на секвенаторе AB PRISM 310 наборами фирмы MRC Holland (Голландия) по протоколам фирм производителей.

Проведено 704 ПЦГ, 198 исследований FISH, 152 исследования MLPA при низкой митотической активности хориона, хромосомном мозаицизме. Выявлено 164 ХА, в том числе регулярные трисомии — 126 случаев, моносомии X — 15, триплоидии — 14, мозаичные нарушения — 6, структурные — 5. Результат FISH не соответствовал цитогенетическому заключению в 3 случаях мозаичных нарушений по хромосомам X, 18 и 21, и позволил выявить низкоуровневый мозаицизм и дифференцировать моносомию X-хромосомы с артефактом. Трисомии по хромосомам 13, 18 и 21 диагностированы MLPA в 18 случаях, что согласуется с результатами ПЦД и FISH. Проведена идентификация сегментной моносомии длинного плеча 18 хромосомы. Однако триплоидии, выявленные в этой группе обследованных в 6 пренатальных цитогенетических исследованиях, методом MLPA диагностированы не были, что свидетельствует о неэффективности метода в диагностике синдрома триплоидии. Таким образом, наиболее информативным методом пренатального кариотипирования является цитогенетический, однако использование FISH и MLPA повышает достоверность цитогенетического исследования.

Результаты проведения преимплантационного генетического скрининга (ПГС) методом сравнительной геномной гибридизации

Ковалева Я.В., Сергеев С.А., Зинина Ю.М.,

Коновалов Ф.А., Марахонов А.В.,

Исаев А.А., Померанцева Е.А.

ООО «ЦГРМ ИСКЧ», 119991, Москва, ул. Губкина, д. 3, корп. 1; kovaleva@genetico.ru

Преимплантационный генетический скрининг (ПГС) представляет собой комплекс методов, направленных на определение хромосомных аномалий и моногенных заболеваний у эмбрионов в цикле ЭКО-ИКСИ до их переноса в полость матки.

На сегодняшний день в мире самым распространённым и надёжным методом для выявления хромосомных аномалий,

таких, как численные нарушения и крупные aberrации, является сравнительная геномная гибридизация (СГГ) на микроматрицах.

В лаборатории Genetico ЦГРМ ИСКЧ применяется эта методика.

Этапами ПГС-СГГ являются: полногеномная амплификация ДНК из биоптата, полученного от эмбриона на 3-й или 5-й день его развития, с последующим флуоресцентным мечением и конкурентной гибридизацией на ВАС-чипе. Для визуализации прошедшей гибридизации применяется лазерное сканирование микроматриц и компьютерная обработка полученных сигналов от флуоресцентных меток. Для постановки ПГС использовались коммерческие наборы 24sure производства компании Illumina, USA.

С июня 2013 г. по февраль 2015 г. в лаборатории проанализировано 507 образцов из 107 циклов ЭКО-ИКСИ, из них 109 blastомеров, полученных на 3-й день развития эмбриона, и 398 образцов трофобластодермы, полученных на 5-й день развития эмбриона. Средний возраст женщин, обратившихся за помощью в центры ЭКО, 38 лет.

В результате проведения генетического скрининга доля выявленных эмбрионов с нормальным кариотипом, которые пригодны для переноса, составила 38,8% (197).

Доля эмбрионов с аномальным кариотипом 52,5% (266), из них у 83,4% (222) обнаружено нарушение численности хромосом и у 6,4% (17) изолированные сегментарные делеции или дупликации.

Доля эмбрионов, по которым была получена неполная информация (обычно отсутствие данных по одной из 23 пар хромосом) составила 5,9% (30).

Таким образом, доля эмбрионов с аномальным кариотипом составляет большую часть проанализированных образцов. Применение метода СГГ позволяет увеличить вероятность наступления и благополучного протекания беременности, так как для имплантации рекомендуются только эуплоидные эмбрионы.

Внешняя оценка качества биохимического скрининга хромосомных аномалий в I триместре беременности

Кокаровцева С.Н., Калашникова Е.А., Серкова Н.А.

ГБУЗ МО МОНИИАГ, Москва, 100101, Покровка 22а
E-mail: immgen@yandex.ru

Контроль качества всех составляющих звеньев комбинированного скрининга I триместра беременности является обязательным условием правильности его проведения и повышения эффективности его алгоритмов.

Биохимический скрининг первого триместра проводили у женщин в сроке 11–14 недель беременности на анализаторе Brahms Kryptor (TRACE-технология) с определением материнских сывороточных маркеров (PAPP-A и свободной субъединицы β -ХГЧ). Внешняя оценка качества (ВОК) представляла собой ретроспективную оценку качества результатов после их клинического использования с помощью российской федеральной системы внешней оценки качества (ФСВОК), а также международной программы RIQAS (Randox International Quality Assessment Scheme). Программа RIQAS включала в себя 12 циклов в год, в каждом из которых было проанализировано по 12 образцов для каждого анализатора («слепые пробы» без указания концентрации аналитов). Результаты лаборатории обрабатывали оперативно, в течение 72 часов по истечении установленной конечной даты отправки и высылали в электронном виде. ВОК отражала статистический анализ по всем параметрам определяемого показателя, используемого метода, оборудования; сравнение группы инструментов, метода группы и совокупности методов с отображением результатов в виде гистог-

рамм; идентификация трендов, смещений и изменений точно; идентификация приемлемого и неудовлетворительного качества анализа с использованием соответствующих целевому назначению индикаторов. График контрольной оценки отображал результат в движущемся окне по последним 20 образцам. Контрольная оценка соотносилась с процентом отклонения вашего результата от среднего значения к целевому отклонению, что способствовало достижению и поддержке приемлемого качества измеряемого аналита.

Участие лабораторий, проводящих биохимический скрининг не только в программах ФСВОК, но и в международных программах, позволяет более объективно оценить качество аналитического этапа и сразу после получения отчётов внести соответствующие коррективы в работу аналитических систем (приборов, реактивов, персонала).

Пренатальная генетика — путь снижения младенческой смертности

Кононенко Н.И., Кожухов М.А., Тюрина Г.Л., Ржевкина Н.Н., Кононова М.В., Кудрявцева О.К., Железнова М.А., Комкова Г.В., Вялых Е.К.

БМУ «КОКБ» Медико-генетическая консультация,
г. Курск, ул. Сумская, д. 45 А, okb5@kurskokb.ru

Цель мероприятий пренатальной диагностики — предупреждение рождения детей с тяжёлыми нарушениями развития.

Врождённые пороки развития и хромосомные синдромы составляют 4–6% популяции и в структуре младенческой смертности занимают первое и второе место.

Ранний пренатальный скрининг (РПС) в Курской области был начат с января 2012 г. За три года обследование по пренатальной (дородовой) диагностике нарушений развития ребёнка прошли 28482 беременные женщины. Из числа женщин, взятых на учёт по беременности в сроке до 13 недель, охват составил 85% (международный стандарт >50%).

В группу риска вошли 498 женщин (1,7%), что соответствует международному стандарту (МС). Все женщины из группы риска были направлены на инвазивную пренатальную диагностику (ИПД), но прошли её 265 (53%). Проведено 265 инвазивных процедур, из которых аспирация ворсин хориона составила 189, т.е. 71%.

Выявлена хромосомная патология в 68 случаях, таким образом, эффективность пренатального кариотипирования составила 25% (МС >15%).

Ранний пренатальный скрининг позволил выявить в первом триместре беременности врождённые пороки развития в 199 случаях, т.е. 0,7% от числа обследованных (МС 0,5–1%).

С болезнью Дауна зарегистрировано 73 беременности: пренатально диагностирован 41 случай, 7 — пропущено скринингом, 25 — не прошли обследование РПС. Чувствительность раннего пренатального скрининга составила 85% (МС 85–95%).

Проведение РПС позволило предупредить рождение 125 детей с инвалидизирующими тяжёлыми заболеваниями и несовместимыми с жизнью пороками развития. Младенческая смертность за рассматриваемый период снизилась с 7,3‰ до 6,3‰, однако врождённые пороки развития остаются на первом месте в структуре младенческой смертности и 30% из них приходится на врождённые пороки сердца.

В рамках повышения выявляемости врождённых пороков сердца необходимо особое внимание уделить экспертному ультразвуковому исследованию беременных женщин на сроке 18–20 недель беременности по примеру раннего пренатального скрининга. Пренатальная генетика стала одним из регулируемых путей снижения младенческой смертности.

Опыт использования «Prenatal VoBs» в практической медицине Свердловской области

Коноплев А.А., Дерябина С.С., Лагутина О.В.

ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребёнка»,
620067, Россия, Екатеринбург, ул. Флотская 52,
E-mail: saxxx66@mail.ru

В алгоритме пре- и постнатальной диагностики заболеваний, связанных с генетическими нарушениями, все чаще востребованы молекулярно-генетические методы исследования. Одним из таких методов является технология VACs-on-Beads™ (VoBs), которая позволяет в короткие сроки определить наличие анеуплоидий по 13, 18, 21, X и Y-хромосомам и 9 наиболее распространённых микроделеционных синдромов.

В работе представлены итоги трёхлетнего опыта пре- и постнатальной диагностики хромосомной патологии набором «Prenatal VoBs™» (PerkinElmer). Все образцы, поступающие на исследование хромосомных аномалий технологией VoBs, параллельно были исследованы классическими методами цитогенетики. В случае обнаружения микрохромосомных перестроек верификация диагноза проводилась методом FISH.

Всего проанализировано 2633 образца. Исходя из типа исследуемого материала, были сформированы две группы. В первой группе (1978 образцов) использовался материал, полученный в результате инвазивных процедур для пренатальной диагностики (ворсины хориона — 1827, амниотическая жидкость — 79, пуповинная кровь — 72). Вторую группу (655 образцов) составил материал, взятый у пациентов отделения медико-генетического консультирования (ОМГК) с подозрением на хромосомную патологию.

В результате проведённого анализа выявлен 401 случай (20,2%) хромосомных aberrаций в первой группе и 87 случаев (13,3%) — во второй. Превалирующая патология для данных групп оказалась различной. Согласно полученным данным, в группе пренатальной диагностики наиболее часто встречались триплоидии по аутосомам — 81,1% (325/401) от всей выявленной хромосомной патологии (по 21 хромосоме — 54,4%; по 18 хромосоме — 19,2%; по 13 хромосоме — 7,5%). Доля анеуплоидий по половым хромосомам составила 10% (10/401), 8 из которых — синдром Тернера. На микрохромосомные перестройки пришлось около 6,0% образцов (23/401), 1,5% из которых — известные микроделеционные синдромы (4 случая синдрома ДиДжорджи и 2 — Вильямса—Бюрена). В спектре хромосомной патологии группы пациентов ОМГК ведущая роль принадлежит микрохромосомным аномалиям — 87,4% (76/87), обнаружение которых в более чем половине случаев (45/76) дало возможность поставить окончательный диагноз. В 21 случае найденная микроаномалия хромосом имела недоказанное клиническое значение или была мало изучена. Анеуплоидии аутосом и половых хромосом при постнатальной диагностике были обнаружены лишь в 11 образцах (12,6%).

При сопоставлении спектра хромосомной патологии в обеих группах, становится ясно, что существующие критерии отбора пациентов для пренатальной диагностики по совокупности анамнестических данных, биохимических и ультразвуковых маркёров хромосомной аномалии достаточны для своевременной идентификации численных и крупных структурных хромосомных нарушений у плода. Однако, ввиду отсутствия специфичных фенотипических признаков микроделеционных (микродупликационных) синдромов, такие критерии отбора становятся не эффективными для этой цели в существующем алгоритме пренатальной диагностики, что обусловило малый процент выявления данной патологии в первой группе. Структура патологии во второй группе пациентов объясняется тем, что обнаружение субхромосомных нарушений вызывает затруднения для цитогенетики при рутинном исследовании в отличие от несложной диагностики анеуплоидий методом классического кариотипирования. Таким образом, совместное при-

менение цитогенетических и молекулярно-генетических методов позволяет наиболее корректно и своевременно интерпретировать выявленные aberrации для установления более точного прогноза беременности или постановки диагноза.

Оценка кровотока в венозном протоке — пренатальный скрининговый тест по формированию группы высокого риска плодов с хромосомными аномалиями и пороками развития

Корф М.П., Филиппова М.О., Пурыскина Н.Л.,
Заюкова О.С., Назаренко Л.П., Рудко А.А., Пузырев К.В.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», г. Томск,
E-mail: mariya_korf@mail.ru

Эффективный скрининг трисомии 21 в I триместре беременности предусматривает комбинированное использование материнского возраста, ТВП, ЧСС и измерение в сыворотке крови матери уровней свободной субъединицы бета ХГЧ и PAPP-A. По данным литературы частота обнаружения хромосомных аномалий (ХА) составляет 90%, а ложноположительных результатов 3%. Оценка аномальной волны в венозном протоке улучшает результаты комбинированного скрининга I триместра на 5% со снижением ложноположительных результатов до 2,5%. За 2013 г. в клинике института было проведено 11513 экспертных УЗИ в I триместре беременности. Аномальный кровоток в венозном протоке (АКВП) обнаружен в 461 случае (4%). Средний возраст беременных составил 30,7 лет, срок обследования — 12,4 недели. Изолированный АКВП наблюдался в 295 случаях (64%). При изолированном АКВП у 15 плодов были выявлены пороки развития. В I триместре беременности — 5 (гастролизис — 2, инфравезикулярная обструкция — 2, МВПП — 1). Во II триместре беременности — 15 (МВПП — 4, ВПС — 8, расщелина верхней губы и неба — 3). Сочетание АКВП с другими ультразвуковыми маркёрами составило 166 (36%). Расширение ТВП наблюдалось в 24,8%, отсутствие или гипоплазия носовых костей в 15%, трикуспидальная регургитация 11,3%, увеличение фронто-максиллярного угла более 90° 17,8%. Частота выявления АКВП при различных ХА составила: при трисомии 21 — 68%, при трисомии 18 — 62,5%, при трисомии 13 — 66%, при синдроме Тернера — 57%, при триплоидии — 71% и у эуплоидов — 3,3%. При наличии АКВП 300 беременностей закончились рождением здоровых детей. ХА аномалии выявлены в 89 случаях (17,7%), врождённые пороки развития в 72 случаях (22%), антенатальная гибель плода (при отсутствии ХА и ВПР) в 11 случаях (3,4%). Всего плодов с ХА, ВПР и погибших антенатально составило 99 случаев (30,3%). Аномальный кровоток в венозном протоке является эффективным ультразвуковым маркёром ХА в первом триместре беременности. Наиболее часто он сочетается с расширением воротникового пространства, самым распространённым пороком развития является порок сердца. Наличие АКВП является показателем к расширенной эхокардиографии и тщательной оценке анатомии плода, как в первом, так и во втором триместре беременности для исключения пороков развития.

Молекулярные исследования родителей и плода в практике репродуктивных исследований при подготовке к беременности и в пренатальной диагностике (ПД)

Кречмар М.В.

Центр медицины плода, 197000 Санкт-Петербург, 14 линия ВО, д.7
Krechmar.mv@mail.ru

Преконцепционное ДНК-тестирование будущих родителей — новая генетическая парадигма в области репродуктивной генетики. Панельное комплексное исследование на сотни генов, а

также полноэкзомное секвенирование позволяют уточнить статус или исключить носительство патологических мутаций аутосомно-рецессивных наследственных заболеваний. По результатам теста проводится расчёт репродуктивных рисков и определяется прогноз потомства в обследуемой семье. Исследование позволяет при высоких рисках в случаях обнаружения мутации в одном гене у обоих супругов провести предимплантационную или ПД и избежать рождения больного ребёнка. Тест рекомендован всем, но особенно важно назначать его в случаях кровнородственных браков и донорам половых клеток в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

С появлением новых технологий тестирования плодной ДНК и биоинформационной обработки полученных данных значительно изменились алгоритмы и клинические подходы в практике ПД. С 2013 г. для мы внедрили в клиническую практику тестирование плодной ДНК в крови матери для исключения наиболее частых анеуплоидий 21, 13, 18, X и Y хромосом и триплоидии. Назначение анализа требует пре- и посттестового медико-генетического консультирования, особенно значимого при высоком риске хромосомной патологии плода. Установлено 9 случаев трисомии 21. В случаях тест «Первая 5!» по плодной ДНК в крови матери позволил с высокой вероятностью предположить наличие трисомии у 9 плодов, подтвердить диагноз другими клиническими исследованиями и в 8 случаях прервать беременность, в 2 — в сроке ещё до 12 недель. Одна беременность по желанию родителей продолжена и закончилась родами. Анеуплоидии половых хромосом установлены в 2 случаях.

При осложнённой генеалогии, при анатомических или функциональных отклонениях и особенностях фенотипа плода, клинические данные приводят к необходимости исследования не только кариотипа, но и его ДНК-статуса. Технологии исследования отдельных генов, хромосомный микроматричный анализ и полноэкзомное секвенирование позволяют выявить как микроделеции, так же отдельные патологические мутации при анализе всего генома. Это даёт возможность уже в пренатальный период — ещё до развития полной клинической картины и фенотипических проявлений наследственной патологии — установить точный диагноз плоду и определить прогноз постнатального развития.

Амниоцентез как оптимальное решение для инвазивной пренатальной диагностики частых анеуплоидий в Ростовской области

Кривенцова Н.В., Авруцкая В.В., Шокарев Р.А., Гимбут В.С., Кригер С.Ю., Клочкова Н.Е.

ФГБУ Ростовский НИИ акушерства и педиатрии Минздрава России Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43, r715@yandex.ru

С 2010 г. в Ростовской области для инвазивной пренатальной диагностики (ИПД) хромосомных нарушений плода наряду со стандартным кариотипированием применяется метод количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР), который основан на выделении ДНК из хориона, амниоцитов или крови плода и амплификации высокополиморфных STR маркёров специфичных для каждой хромосомы с флюоресцентно-меченными праймерами.

Вид инвазивной диагностики	2013 г.	2014 г.
Хорионбиопсия (% от инвазивных процедур)	38 (9,6%)	31 (6,8%)
Амниоцентез	350 (88,6%)	416 (91,6%)
Кордоцентез	7 (1,8%)	7 (1,6%)
Выявлено патологии (эффективность)	51 (10,4%)	60 (13%)

В нашем исследовании мы оценили эффективность применения амниоцентезов и КФ-ПЦР для пренатальной диагностики наиболее частых анеуплоидий у пациенток Ростова и Рос-

товской области в 2013—2014 г. Результаты представлены в таблице.

С 2010 г. в Ростовской области внедряется новый алгоритм пренатального скрининга (ПС) — обследование всех беременных в I триместре с расчётом комбинированного риска по хромосомной патологии. Это позволяет раньше сформировать группу риска и провести уточняющую ИПД в I триместре с проведением хорионбиопсии, а не кордоцентеза, который имеет наибольший риск прерывания беременности. Однако, по данным Минздрава Ростовской области в 2013—2014 г. только 56% беременных прошли ПС первого триместра, что не соответствует показателю для массового скрининга. Из них около 3% попали в группу риска (3% в 2013 и 2,6% в 2014 г.). На ИПД соглашаются около половины из этих пациенток. Это говорит о недостаточном уровне информационно-просветительской работы на местах. Около 90% всех проведённых ИПД приходится на амниоцентезы, которые выполняются с 16 недели беременности. Это объясняется тем, что пациентки, получают расчёт индивидуального риска только к 15—16 неделям (вследствие долгой отправки результатов биохимического скрининга) и особенностями географического расположения ЦРБ Ростовской обл. Таким образом, оптимальным решением для ИПД в условиях ПС в Ростовской области является ранний амниоцентез с проведением молекулярно-генетического исследования (метод КФ-ПЦР).

Антенатальное выявление врождённых пороков развития в Краснодарском крае

Лаврова Л.В., Дацян Г.А., Голихина Т.А., Матулевич С.А.

ГБУЗ «НИИ — Краевая клиническая больница №1 им. проф. С.В. Очаповского»

Кубанская межрегиональная медико-генетическая консультация 350086, г.Краснодар, ул. 1-го Мая 167, e-mail: kubanmgk@mail.ru

С января 2012 г. в Краснодарском крае проводится комбинированный скрининг беременных 1-го триместра (в дальнейшем скрининг) для выявления врождённых пороков развития (ВПР) у плода. Представляло интерес оценить влияние внедрения скрининга на сроки выявления ВПР у плодов. Для сравнения, из компьютерной программы «Регистрация врождённых пороков развития», разработанной в КММГК, взята информация о выявленных ВПР у плодов в течение 3-х лет до введения скрининга (2009—2011 г.) и 3 лет проведения скрининга (2012—2014 г.). В таблице представлены данные структуры выявленных ВПР и сроки их выявления

За три года до внедрения скрининга в КММГК выявлено 1427 ВПР у плодов, из них в 11—14 недель беременности — 10,4% (прервано — 17,2%), в 15—22 недели — 44,4% (прервано — 41,2%) и после 22 недель — 45,2% (прервано — 41,6%). За три года проведения скрининга выявлено 2059 ВПР у плодов (в 1,4 раза больше по сравнению с предыдущим периодом). Отмечается увеличение количества ВПР, выявленных в ранние сроки беременности: до 14 недель — 18,3% (прервано — 34,3%), в 15—22 недели — 41% (прервано — 56,4%), после 22 недель — 40,7% (прервано — 9,3%). Значительно увеличилось количество выявленных в ранние сроки беременности (до 22 недель) ВПР с неблагоприятным прогнозом для жизни будущего ребёнка (ВПР ЦНС — 63,5%, ранее — 60,5%, ВПР ЖКТ — 59,4%, ранее — 50,4%, МВПР — 96%, ранее — 67,2%), в связи с чем количество прерванных беременностей до 22 недель в период проведения скрининга составило 90,7%, по сравнению с предыдущим периодом — 58,4%. С внедрением скрининга значительно возросла выявляемость хромосомных аномалий (ХА) до 22 недель беременности (с-м Дауна — 87,6%, другая ХА — 85,4%) по сравнению с периодом до проведения скрининга (с-м Дауна — 36,4%, другая ХА — 56,9%). Соответственно увеличилось количество беременностей с ХА, прерванных до

Сведения о ВПР, выявленных антенатально в Краснодарском крае

№	Нозология	Сроки беременности							
		11 – 14 недель		15 – 22 недель		22 – 39 недель		Всего	
		Выявлено	Прервано	Выявлено	Прервано	Выявлено	Прервано	Выявлено	Прервано
Период		2009–2011 гг.							
	Всего	148 10,4%**	118 17,2%	634 44,4%**	283 41,2%	645 45,2%**	286 41,6%	1427	687 48,1%**
1.	С.Дауна*	7 (11,1%)	6	16 (25,3%)	13	40 (63,6%)	42	63	61
2.	Др. ХА*	19 (20,4%)	15	34 (36,5%)	18	40 (43,1%)	32	93	65
3.	МВПР*	34 (14,8%)	27	120 (52,4%)	62	75 (32,8%)	60	229	149
4.	ВПР ЖКТ*	17 (12,6%)	13	51 (37,8%)	27	67 (49,6%)	14	135	54
5.	ВПР ЦНС*	50 (17,5%)	47	122 (43,6%)	101	108 (38,9%)	65	280	213
6.	ВПР КС*	6 (6,5%)	5	49 (53,8%)	10	36 (39,7%)	12	91	27
7.	ВПР МВС*	7 (2,3%)	2	140 (46,4%)	22	155 (44,4%)	11	302	35
8.	ВПС и лег*	7 (3,9%)	2	74 (41,3%)	23	98 (54,8%)	39	179	64
9.	РГ и ТН*	1 (1,8%)	1	28 (50,9%)	7	26 (47,3%)	11	55	19
Период		2012–2014 гг.							
	Всего	376 18,3%**	327 34,3%**	842 41%**	538 56,4%**	841 40,7%**	89 9,3%**	2059	954 46,3%**
1.	С.Дауна*	52 (28,1%)	51	110 (59,5%)	107	23 (12,4%)	17	185	175
2.	Др. ХА*	65 (39,4%)	63	76 (46%)	63	24 (14,6%)	17	165	143
3.	МВПР*	90 (32%)	79	125 (64%)	101	66 (4%)	15	281	195
4.	ВПР ЖКТ*	56 (32%)	37	48 (27,4%)	24	71 (40,6%)	2	175	63
5.	ВПР ЦНС*	85 (24,9%)	80	132 (38,6%)	116	125 (36,5%)	25	342	221
6.	ВПР КС*	6 (6,3%)	4	51 (53,7%)	20	38 (40%)	2	95	26
7.	ВПР МВС*	4 (0,9%)	2	117 (27,4%)	29	306 (71,7%)	1	427	32
8.	ВПС и лег*	14 (4,7%)	8	136 (45,5%)	61	149 (49,8%)	9	299	78
9.	РГ и ТН*	4 (4,4%)	3	47 (52,2%)	17	39 (43,4%)	1	90	21

Примечание. * — процент рассчитан от общего количества выявленных ВПР в данном сроке беременности; ** — процент рассчитан от количества выявленной патологии

22 недели беременности (с-м Дауна — 90,2%, другая ХА — 88%) по сравнению с периодом до проведения скрининга (с-м Дауна — 31,3%, другая ХА — 50,6%). Проведенный анализ позволяет говорить о высокой эффективности комбинированного скрининга I-го триместра для выявления ВПР и хромосомных аномалий у плода.

Пренатальная диагностика и патоморфологическая верификация ателостеогенеза 2 типа у плода 1 триместра беременности

Лазаревич А.А., Новикова И.В.

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Республика Беларусь (РБ), г. Минск, ул. Орловская, 66, Lazikn@mail.ru

Ателостеогенез 2 типа (АО 2 типа) (ОМIM 256050) — аутомно-рецессивная (АР) летальная скелетная дисплазия (СД), возникающая в результате мутаций гена *SLC26A2* и характеризуется микромелией, косопластостью, расщелиной неба (РН), необычной установкой больших пальцев кистей и стоп в положение отведения («hitchhiker thumb»).

Пробанд — плод от первой беременности, протекавшей с угрозой прерывания. Беременная 20 лет с неотягощённым семейным анамнезом. При скрининговом ультразвуковом (УЗ) исследовании в 12 недель (копчиково-теменной размер — 53,5 мм, толщина воротничкового пространства (ТВП) — 3,1 мм) было выявлено резкое укорочение всех длинных трубчатых костей: плечевая и локтевая по 1,4 мм, лучевая, бедренная, большеберцовая по 1,3 мм, малоберцовая — 1,2 мм. При скани-

ровании кистей установлен симптом «hitchhiker` thumb», стопы были деформированы. Отмечено расширение просвета позвоночного столба в шейном отделе до 2,4 мм и избыточное количество амниотической жидкости. После медико-генетического консультирования беременность была прервана в первом триместре с диагнозом «диастрофическая дисплазия (ДТД)».

При патоморфологическом исследовании постабортного материала были обнаружены фрагменты разрушенного при кюретаже плода с длиной стопы 12 мм (овуляторный возраст 11 нед.) с выраженной микромелией верхних и нижних конечностей: голень — 6,9 мм (норма — $18,7 \pm 2,49$); плечо — 8,7 мм ($19,8 \pm 1,86$); предплечье — 9,8 мм ($15,4 \pm 1,62$). Между I-м и II-м пальцами левой стопы определялся диастаз (правая стопа и кисти в сокосбе отсутствовали). Оссификация закладок свода черепа и высота тел позвонков не была изменена, выявлено нарушение сегментации в поясничном отделе. Диагностированы РН задней трети и дивертикул Меккеля. При гистологическом исследовании установлено дистальное сужение оссифицированных участков хрящевых закладок плечевой и локтевой костей. Выявлены характерные для АО 2 типа дегенеративные изменения в зоне неорганизованного хряща в виде кистозных участков неправильной формы, а также хондроцитов, окружённых ламеллярным материалом, образующим концентрические кольца. Патологоанатомический диагноз: АО 2 типа.

Сходство клинических и рентгенологических признаков АО 2 типа и ДТД объясняется тем, что они являются аллельными состояниями. Степень клинических проявлений связана с остаточной активностью протеина-транспортера сульфатов в хондроцитах. В нашем случае имелось крайнее укорочение конечностей и более выраженные гистологические изменения

в покоящемся хряще, обычно описываемые при АО 2 типа, состоянии не совместимом с жизнью.

Таким образом, представленное наблюдение свидетельствует о том, что не только укорочение и флексорное положение конечностей, характерные для многих скелетных дисплазий, но и радиальное отведение больших пальцев кистей, позволяют установить нозологический диагноз АО 2 типа уже в 11 недель, что важно для раннего решения вопроса о тактике ведения беременности, учитывая АР вариант наследования.

Вследствие невозможности рентгенологической верификации скелетной патологии у абортусов 1 триместра, окончательный диагноз должен быть подтвержден обязательным гистологическим исследованием.

Эффективность пренатальной диагностики ВПР первого триместра беременности в г.Новокузнецке и Юге Кузбасса

Линдина Л.И., Ботвиньева И.А., Герасименко О.Н., Сорокина И.В., Елесина Ю.Ю., Алексеева М.Г., Полукаров А.Н.

Муниципальное бюджетное лечебно-профилактическое учреждение «Зональный перинатальный центр», Россия, Кемеровская область, 654041 г. Новокузнецк, ул. Сеченова 26 lindins@ngs.ru

Высокая частота врождённых пороков развития (ВПР) и спорадический характер их возникновения определили развитие современных профилактических методов и поиск новых эффективных организационных алгоритмов пренатальной диагностики хромосомной патологии плода. В декабре 2000 г. Минздравом РФ был издан приказ №457 «О совершенствовании пренатальной диагностики в профилактике наследственных и врождённых заболеваний у детей».

С марта 2013 г. в Кемеровской области реализуется проект мероприятий по эффективному проведению пренатальной диагностики нарушений развития плода согласно приказа Департамента охраны здоровья населения Кемеровской области №1605 от 08.11.2013 г. «О проведении на территории Кемеровской области пренатальной диагностики нарушений развития ребёнка». Основная цель проекта — проведение массового мониторинга беременных женщин в сроке 11—14 недель с выявлением женщин группы риска по рождению ребёнка с врождёнными пороками развития или хромосомной патологии.

В один день проводится УЗИ-исследование с обязательным измерением толщины воротничкового пространства и копчико-теменного размера, забирается венозная кровь для исследования белков свободной субединицы хорионического гонадотропина (β ХГЧ) и ассоциированного с беременностью белка РАРР-А, проводятся биохимические исследования на автоматическом анализаторе «BRAHMS KRYPTOR compact plus», Германия. Расчёт индивидуального риска рождения ребёнка с хромосомной патологией проводится при помощи акушерско-гинекологической программы «Astraia», Германия, пороговое значение риска 1:100 по трисомии 21, трисомии 18, трисомии 13, с учётом возраста женщины, уровня сывороточных маркёров и толщины воротничкового пространства у плода.

За январь — май 2014 г. обследовано всего 4704 беременных женщин. Группа риска (1:100 и выше) составила 1,4% (68 случаев). В этой группе 22 беременным женщинам проведена инвазивная пренатальная диагностика (исследованы ворсины хориона). Выявлено 7 случаев хромосомной патологии плода, что составило 10,3%. Выявлено 4 плода с синдромом Дауна (1 — транслокационный вариант, 3 — с трисомией 21), 1 случай с трисомией X и 9, 1 случай с синдромом Патау (транслокационный вариант), 1 случай плацентарный мозаицизм.

Совершенствование пренатальной диагностики ВПР, включающей медико-генетическое консультирование, ультразвуковой и биохимический скрининг с применением инвазив-

ных методов, позволяет снизить уровень перинатальной смертности и проводить профилактику наследственных и врождённых заболеваний у детей, предупреждать появление инвалидности в детском возрасте.

Преимплантационная генетическая диагностика, совмещенная с молекулярным кариотипированием на микрочипах. Клинический пример диагностики врождённой спондилоэпифизарной дисплазии

Марахонов А.В., Коновалов Ф.А., Ковалева Я.В., Исаев А.А., Померанцева Е.А.

ООО «ЦГРМ ИСКЧ», 119991 Москва, ул. Губкина, д. 3, корп. 1; marakhonov@genetico.ru

Преимплантационная генетическая диагностика (ПГД) является инструментом профилактики наследственных заболеваний, способствующим рождению здорового потомства в семьях с высоким генетическим риском. Описана разработка и применение тест-системы для ПГД врождённой спондилоэпифизарной дисплазии (СЭД, OMIM #183900), совмещённой с молекулярным кариотипированием эмбрионов для повышения эффективности ЭКО.

В лабораторию Genetico ЦГРМ ИСКЧ обратилась семья, в которой у мужа (пробанда) в гене *COL2A1* была обнаружена гетерозиготная мутация с.1799G>T (p.Gly600Val), что позволило установить диагноз СЭД — наследственного заболевания с аутосомно-доминантным типом наследования. В семье пробанда то же заболевание диагностировано у сестры. У супружеской пары в анамнезе была естественная беременность, однако по результатам УЗИ было сделано предположение о наличии СЭД у плода и принято решение о прерывании беременности, после чего семья обратилась за ПГД.

Тест-система состояла из прямой диагностики мутации методом ПЦР-ПДРФ, позволяющей дифференцировать мутантный и нормальный аллели, косвенной диагностики СЭД по высокополиморфным микросателлитным локусам, тесно сцепленным с исследуемым геном, и системы молекулярного кариотипирования методом сравнительной геномной гибридизации на микрочипах. Тест-система была оптимизирована и валидирована для проведения диагностики на продуктах полногеномной амплификации (WGA) единичных клеток (полученных с использованием набора SurePlex™, Illumina, США).

В результате ЭКО было получено пять эмбрионов, которым на пятые сутки развития была выполнена биопсия трофобласта. Проведённая ПГД эмбрионов показала, что два из них несут мутантный аллель, унаследованный от отца, что было подтверждено и анализом гаплотипов. Три эмбриона, несущих нормальный отцовский аллель, были кариотипированы. Анализ позволил определить, что два из них имеют нормальный кариотип (46, XX и 46, XY), в то время как данных по третьему эмбриону было недостаточно для однозначного вывода.

По результатам проведённой диагностики один эмбрион с нормальным кариотипом, не несущий мутации в гене *COL2A1*, был перенесён в матку, после чего наступила беременность, подтверждённая данными УЗИ на четвёртой неделе.

О необходимости совершенствования пренатальной диагностики врождённых и наследственных болезней на уровне амбулаторного звена акушерско-гинекологической службы

Мачарашвили Т.К., Манухин И.Б., Петрин А.Н., Угаров И.В., Акуленко Л.В.

ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗ РФ, tamari74@mail.ru

Хотя научные проблемы пренатальной диагностики (ПД) врождённых и наследственных болезней уже принципиально решены, на практике все ещё каждый второй порок и многие грубые нарушения развития плода не диагностируются антенатально. С целью оценки потребности в совершенствовании ПД на уровне амбулаторного звена акушерско-гинекологической службы был предпринят ретроспективный анализ архивного материала одной из женских консультаций города Москвы за период с 2007 по 2011 гг. Оказалось, что из общего количества женщин, состоявших на учёте по беременности (290 женщин), в I триместре встали на учёт 69,3% беременных, а пренатальному скринингу (ПС) были подвергнуты 61,4% беременных. Во II триместре у 72,0% женщин сроки проведения ПС были грубо нарушены, 10,0% женщин таковому не подвергались вовсе, заключения об индивидуальном риске хромосомных аномалий у плода имелись в амбулаторных картах только у 61,4% беременных. По данным ПС, 10,4% беременных в I триместре и 12,4% беременных во II триместре были отнесены к группе риска и направлены на второй уровень обследования, однако информация о его результатах в амбулаторных картах женской консультации отсутствовала более чем у 72,0% из них. Основная доля патологии беременности и плода у 17,5% женщин, подвергнутых ПС, была выявлена во 2-м триместре, что свидетельствует об актуальности проведения ПС во II триместре беременности. Сравнительный анализ исходов беременности в группах пациенток, подвергавшихся и не подвергавшихся ПС, не выявил никаких статистически значимых различий. В обеих группах родилось по одному ребёнку с синдромом Дауна. Тестирование врачей акушеров-гинекологов на понимание медико-генетических вопросов ПД показало их недостаточную компетентность: правильные ответы получены в среднем на 56,2% тестовых заданий. Таким образом, ретроспективный анализ архивного материала женской консультации позволил установить, что главной причиной низкой эффективности ПД является систематическое несоблюдение регламента ПС на уровне амбулаторного звена акушерско-гинекологической службы. Конкретными задачами, требующими совершенствования ПД на первом уровне, являются:

- 1) повышение информационной и мотивационной готовности беременных женщин к перинатальной профилактике;
- 2) повышение компетентности врачей в медико-генетических аспектах ПД;
- 3) разработка порядка взаимодействия между первым и вторым уровнем ПД.

Эффективность пренатального медико-генетического консультирования в ЗАО г.Москвы и Новомосковском районе

Мещерякова Т.И.^{1,2}, Лукаш Е.Н.^{1,2}, Сираканя И.К.¹, Иванова О.Г.¹, Мутовин Г.Р.², Притыко А.Г.²

¹ Филиал №4 «Родильный дом №3 ГБУЗ города Москвы «Центр планирования семьи и репродукции Департамента здравоохранения города Москвы». 119501, г.Москва, ул. Нежинская, д. 3. E-mail: Ivanovna-76@mail.ru

² ФГУЗ «Научно-практический центр медицинской помощи детям ДЗМ», 119620, Москва, ул. Авиаторов, д. 38

Целью исследования было проведение сравнительного анализа эффективности пренатальной диагностики (ПД) хромосомных аномалий (ХА) у женщин Западного административного округа города Москвы и Новомосковского района. За период с 2012 по 2014г. в кабинет медико-генетической консультации обратилось 1102 женщины в периоде беременности. Инвазивная диагностика проведена 170 беременным с учётом выявленных ультразвуковых и биохимических маркёров. Инвазивные методы позволили диагностировать хромосомную патологию у 26 плодов. Показатель эффективности инвазивной пренатальной диагностики составил 15,3%, что соответствует

международному стандарту Фонда медицины плода (FMF, Англия). Средний возраст женщин с выявленной хромосомной патологией плода составил 36,8 года (среди женщин с патологией плода синдромом Дауна — 36,5 года). В 33,3% случаев трисомия по 21 паре хромосом была выявлена у плодов женщин возрастной группы 35—40 лет; в 33,3% случаев среди женщин старше 40 лет и в 33,3% случаев среди женщин моложе 35 лет. Сочетание ультразвуковых маркёров с возрастным фактором (>35 лет) и/или с изменённым биохимическим скринингом сывороточных маркёров значительно повышали эффективность инвазивной ПД. В нашем исследовании в данных случаях показатель эффективности инвазивной ПД достигал 52%. Заключение. Система организации массового раннего пренатального скрининга требует дальнейшего совершенствования. Для повышения диагностических возможностей лабораторий пренатальной диагностики необходимо внедрять современные методы исследования, такие, как хромосомный микроматричный анализ и метод количественной ПЦР (QFPCR).

Влияние пренатальной диагностики на распространённость врождённых пороков развития у новорождённых

Минайчева Л.И., Назаренко Л.П.

ФГБНУ «НИИ медицинской генетики»
634050 г. Томск, Набережная Ушайки, д.10
larisa.minaycheva@medgenetics.ru

В Томской области с 1999 по 2011 гг. проведён анализ динамики частот врождённых пороков развития (ВПР) обязательного учёта (согласно требованиям эпидемиологического мониторинга ВПР по приказу №268 МЗ РФ) у новорождённых и среди плодов с ВПР (пороки развития диагностированы в пренатальном периоде и элиминированы вследствие прерывания беременности). Полученные результаты позволили оценить эффективность пренатальной диагностики в Томской области.

Эффективность пренатального выявления ВПР (с последующей их элиминацией) в течение 13-летнего периода значительно увеличилась: с 5,4% (1999 г.) до 61,4% (2011 г.). Для ряда ВПР (анэнцефалия, спинномозговая грыжа, энцефалоцеле, редукционные пороки развития конечностей, диафрагмальная грыжа, омфалоцеле, гастрошизис) в последние годы наблюдаемого периода выявляемость достигает 100%. Полученные результаты согласуются с данными регистров ВПР (Samrana H. et al., 2010; Boyd P.A. et al., 2011). Анализ динамики частоты ВПР обязательного учёта зафиксировал её снижение у новорождённых и в общей группе (новорождённые дети и плоды) для анэнцефалии, спинномозговой грыжи, транслокации крупных сосудов, расщелины губы с или без расщелины неба, редукционных пороков конечностей, диафрагмальной грыжи, гастрошизиса и множественных ВПР. На одном уровне в период с 1999 по 2011 гг. в общей группе (новорождённые дети и плоды) остаётся частота агенезии и дисгенезии почек — 0,49% и синдрома Дауна (СД) — 1,12%. Мероприятия пренатальной диагностики позволили снизить частоту СД и агенезии и дисгенезии почек у новорождённых (0,22% и 0,84% соответственно, $p < 0,05$), среди плодов частота этой патологии в течение наблюдаемого периода увеличивается (0,28 и 0,27% соответственно, $p < 0,05$). Уменьшение частоты СД у новорождённых является, в том числе, результатом проведения мероприятий вторичной профилактики ВПР — пренатальной (дородовой) диагностики нарушений развития плода в Томской области (Nazarenko L.P. et al., 2012). Так, через год после начала работы проекта (в 2011 г.), зафиксирована самая низкая частота СД у новорождённых — 0,29%, среди плодов частота СД превышает её показатель у новорождённых — 0,37%. Мероприятия пренатальной диагностики позволяют снизить частоту ВПР и изменить их структуру у новорождённых (в пренатальном периоде элиминируются тяжёлые, приводящие к инвалидности ВПР) и

тем самым вносят вклад в уменьшение показателей детской заболеваемости, инвалидности и смертности.

Преимплантационный генетический скрининг при выборе эмбриона

Мотырева П.Ю., Серкова М.В., Синьков К.О., Кожин А.Ю., Айзикович И.В.

ЗАО Медицинский центр «Авиценна», 630099, г.Новосибирск, Красный просп., 35 motyрева.avicenna@gmail.com

ПГД — преимплантационная генетическая диагностика — применяется в циклах ЭКО и позволяет исключить ряд хромосомных болезней эмбриона до его переноса в матку. Одним из видов ПГД является преимплантационный генетический скрининг анеуплоидий (ПГС).

Отбор эмбрионов для пересадки в матку осуществляется по разным критериям. Основным критерием для большинства лабораторий является морфологическая оценка (МО), однако она не всегда соответствует нормальному набору хромосом в эмбрионе.

По данным литературы, до 70% ооцитов имеют численные хромосомные аномалии и до 30–70% эмбрионов — анеуплоиды. При этом процент хромосомных патологий среди детей, рождённых после ЭКО, не выше общепопуляционного. Целью нашей работы было сравнить данные морфологической оценки эмбрионов и результаты ПГС.

Для исследования были выбраны 103 семейных пары, которым проводился ПГС по 5, 7, 10 хромосомам методом FISH. Разные варианты скрининга применялись с сопоставимой частотой и были обусловлены показаниями.

При проведении генетической диагностики был встречен ряд хромосомных аномалий у эмбрионов. Встреченные аномалии мы разбили на 2 группы: сублетальные (могущие привести к рождению больного ребёнка) и летальные. Было проанализировано 600 эмбрионов, нормальный хромосомный набор имели 50%, сублетальными было 11%, летальными 39%. В каждом цикле эмбрионы были разделены на 3 группы: отличного, хорошего и плохого качества, исходя из МО, затем для каждой группы проведён ПГС.

Нами показано, что эмбрионы наилучшего качества имеют нормальный хромосомный набор в 55% на 3 день и в 75% на 5-й день развития соответственно. По результатам ПГС циклы ЭКО разделены на три категории. (1) циклы, где выбор эмбрионов на основании МО и ПГС совпал полностью, то есть два наилучших эмбриона, отобранные на перенос без применения ПГС, имели нормальный хромосомный набор (25 циклов); (2) циклы, в которых выбор совпал частично, то есть один эмбрион нормальный, а один с хромосомной патологией (21 цикл); (3) циклы, где выбор не совпал, то есть оба эмбриона, которые были бы перенесены в полость матки без ПГС, имели патологичный набор хромосом (6 циклов).

Таким образом, эмбрионы, которые были бы отобраны для переноса на основании МО и без применения ПГС, в 32% случаев заведомо несут хромосомную патологию, которая может служить причиной ненаступления, невынашивания беременности или рождения больного ребёнка.

Состояние пренатальной диагностики нарушений развития плода в Республике Бурятия

Мункеева Л.Д., Аюшина В.Б., Еремина Е.Р., Цыренова В.Б., Киселева Н.В., Хрестина С.В., Шорина М.А.

ГАУЗ «Республиканский перинатальный центр», г.Улан-Удэ

Наиболее эффективным методом массовой диагностики хромосомных аномалий у плода считается комбинированный скрининг в первом триместре беременности. В Национальный

проект «Пренатальная (дородовая) диагностика нарушений развития ребёнка» Бурятия вступила с февраля 2013 г.

В 2013–2014 гг. в Бурятии по алгоритму раннего пренатального скрининга обследовано 22134 беременных женщин (80,3% от взятых на учёт в сроке до 14 недель), группа риска по хромосомной патологии, сформированная на основании подсчёта комбинированного риска, составила 446 пациенток. Инвазивная пренатальная диагностика проведена 83% женщин. В период работы по новому алгоритму пренатальной диагностики нарушений развития ребёнка произошло изменение структуры инвазивных вмешательств. В 2013–2014 гг. проведено 69,3% аспирации ворсин хориона, 25,0% плацентоцентеза, 5,7% кордоцентеза. При этом доля кордоцентеза значительно снизилась по сравнению с предыдущими годами, что объясняется тем, что мероприятия по пренатальной диагностике нарушений развития ребёнка направлены на выявление патологии плода в первом триместре беременности.

Частота выявленной хромосомной патологии от числа обследованных по комбинированному скринингу беременных женщин составила 15,6%. Данные по другим регионам, работающим по пренатальной диагностике нарушений развития ребёнка, демонстрируют более высокую чувствительность скрининга (Кашеева Т.К., и др., 2014; Матулевич С.А. и др., 2014). Причина более высокой выявляемости хромосомных аномалий в других регионах, вероятно, связана с использованием большего спектра лабораторных методов для пренатального карiotипирования.

В МГК республики в настоящее время начал использоваться метод молекулярной генетики FISH с ДНК-зондами на специфичные районы хромосом 13,18,21,X,Y, что позволяет провести пренатальное карiotипирование амниоцитов плода в сроке 16–18 недель. Для более высокой выявляемости наследственной патологии в дальнейшей работе медико-генетической консультации планируется введение современных методов молекулярной диагностики.

Оценка возможности детекции анеуплоидий в клетках трофобласта в целях неинвазивной пренатальной диагностики

Мусатова Е.В., Мартынов А.В., Маркова Ж.Г., Миньженкова М.Е., Шилова Н.В.

ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, г.Москва, ул. Москворечье, д.1 liza_tus@mail.ru

Неинвазивная пренатальная диагностика предполагает получение информации о генетическом статусе развивающегося плода, не прибегая к нарушению целостности плодных оболочек. Одним из типов плодных клеток, присутствующих в крови беременных женщин, являются трофобласты. Клетки трофобласта появляются в материнском кровотоке, начиная с 5 недели беременности, и быстро исчезают из организма матери после родов или прерывания беременности. Трофобласты, в отличие от остальных клеток плода, представленных в крови беременной женщины, являются клетками эпителиальной природы и отличаются крупными размерами и характерной морфологией.

В целях оценки возможности выделения трофобластов из периферической крови и их последующего анализа был выполнен модельный эксперимент. Материалами для эксперимента послужили 11 образцов искусственно созданных (артифициальных) смесей, являющихся имитацией состава периферической венозной крови беременных женщин. Артифициальные смеси получали смешиванием образцов периферической венозной крови взрослых индивидуумов с образцами клеток ворсин хориона замерших беременностей с известным карiotипом. Для последующего анализа генетического материала были выбраны трофобласты двух образцов артифициальных смесей,

для приготовления которых использовали клетки хориона с кариотипами 47,XX,+13 и 47,XY,+21.

Для выделения трофобластов использовали метод фильтрации через поликарбонатные фильтры с диаметром пор 8 мкм, позволяющим задерживать на фильтре крупные клетки трофобласта. Детекция трофобластов на фильтре осуществлялась иммуноцитохимическим окрашиванием с моноклональными антителами к цитоплазматическому белку цитокератину 7 (СК7). Изоляция единичных СК7-положительных клеток производилась методом лазерной микродиссекции, после чего следовал этап полногеномной амплификации. Анализ генетического материала единичных СК7-положительных клеток проводился методом метафазной сравнительной геномной гибридизации. В обоих случаях профили гибридизации генетического материала диссецированных клеток соответствовали карิโอ-типу клеток хориона, использованных для приготовления соответствующих артифициальных смесей. Таким образом, изолированные клетки были плодными по происхождению.

Пренатальная диагностика хромосомной патологии

Назарова Л.К., Баянова М.Ф., Саматкызы Д., Жумажанова Д.К., Абильдинова Г.Ж.

АО «Национальный научный центр материнства и детства»
Республика Казахстан, г. Астана, пр. Туран, 32,
nazarova_lyaz@mail.ru

Пренатальная диагностика наследственных и врождённых заболеваний являясь одним из бурно развивающихся направлений современной медицины, стала мощным инструментом, позволяющим существенно снизить перинатальные потери и уменьшить число больных с тяжёлыми нерепарируемыми пороками развития, с социально значимыми генными и хромосомными болезнями.

Профилактика рождения детей с хромосомными болезнями составляет главную задачу современной предиктивной медицины.

В АО «Национальный научный центр материнства и детства» масштабные цитогенетические исследования плодов были начаты в 2007 г. К настоящему времени проведено 6354 инвазивных манипуляций, из них 50% приходится на долю биопсии хориона/плацентоцентеза, проводимых с 10 по 19 неделю и 50% — на долю кордоцентеза, проводимого с 20 по 22 неделю беременности. Следует заметить, что высокая доля кордоцентеза свидетельствует о проблемах генетического скрининга на первом уровне, т.е. в регионах.

Наиболее частыми показаниями для проведения инвазивных методов были: возраст беременной старше 35 лет, ультразвуковые маркёры и биохимические маркёры хромосомной патологии у плода. По данным нашего исследования 2417 (38%) инвазивных процедур проведено беременным группы риска по сывороточным биохимическим маркёрам. По возрастному фактору направлено на инвазивную пренатальную диагностику 2389 (37,6%) беременных, по ультразвуковым маркёрам — 991 (15,6%), 8,8% пришлось на долю всех остальных показаний. Выявляемость хромосомной патологии, в зависимости от показаний, представлена следующим образом: по биохимическим маркёрам — 3,5%, по ультразвуковым маркёрам 9,6%, по возрастному фактору — 6,8%.

При анализе структуры хромосомных аномалий в 90% случаев были обнаружены числовые аномалии, в 10% случаях диагностирована структурная патология.

Наибольший удельный вес в выявленной хромосомной патологии занимает синдром Дауна — 45,3%, что объясняется высокой частотой данного синдрома в популяции. Синдром Эдвардса встречался в 14,8%, синдром Патау — в 4,3% случаев.

Опыт пренатальной диагностики ВПС в Гомельской области

Николаева Ю.З., Бортновская Н.П., Криволапов О.В., Тарикова О.А.

Учреждение «Гомельский областной диагностический медико-генетический центр с консультацией «Брак и семья»
г. Гомель, ул. Кирова, 57
e-mail: mgc_gomel@mail.ru

По результатам мониторинга врождённых пороков развития в Гомельской области за 2011—2013 гг. зарегистрировано у родившихся от 0 до 27 сут. 398 случаев изолированных ВПС и 30 случаев ВПС в сочетании с экстракардиальными аномалиями (ЭКА). Частота данной патологии составила 8,08—,24 на 1000 рождений. В структуре ВПР в области ВПС уверенно занимают лидирующее место — удельный вес их составляет около 40%.

Проанализирован и обобщён наш опыт пренатальной диагностики ВПС за период 2011—2013 гг. За этот период до родов было установлено 235 случаев ВПС, в том числе 144 случая изолированных пороков сердца и 91 случай в сочетании с ЭКА и хромосомной патологией. Удельный вес пороков сердца, установленных пренатально, составил 35,5%. В первом триместре было установлено 52 случая ВПС (22,1%), во втором триместре — 173 случая (73,6%), в третьем триместре — 10 случаев (4,3%)

Анализ акушерского анамнеза показал, что среди обследованных пациенток 32% были первобеременными, 12% — повторнобеременными, но первородящими, 56% — повторнородящими.

Структура ВПС, установленных пренатально:

- дефекты интракардиальных перегородок — 83;
- гипоплазия левых/правых отделов сердца — 35;
- атрио-вентрикулярная коммуникация — 33;
- коно-трупальные дефекты — 35;
- аномалии дуги аорты — 32;
- фиброзелластоз — 7;
- прочие — 10.

Сочетание ВПС с различными экстракардиальными аномалиями (ЭКА), включая хромосомные аномалии (ХА), были зарегистрированы у 91 плода (39%). При этом чаще всего регистрировались сочетания с ХА — 54 случая, ВПР центральной нервной системы — 10 случаев, пороками развития почек и костно-мышечной системы — по 5 случаев, неиммунная водянка плода — 3 случая.

Спектр ХА включал: синдром Дауна — 23, синдром Эдвардса — 18, синдром Патау — 3, структурный дисбаланс — 4.

Подавляющее большинство случаев ВПС были выявлены в семьях «наследственно неотягощённых» и не имеющих повода для обращения за медико-генетическим консультированием, в связи с чем особую роль приобретает скрининговое ультразвуковое исследование с проведением цитогенетического обследования плода при выявлении патологии сердечно-сосудистой системы.

Пренатальная диагностика в Алтайском крае

Никонова В.А., Никонов А.М., Чекрий О.В., Корзникова Е.А., Плотнокова О.В., Цыпченко О.В.

КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края»,
Алтайская межрегиональная медико-генетическая консультация,
656038, Барнаул, пр. Комсомольский 75a.nikonovam@list.ru

В Алтайском крае пренатальная диагностика осуществляется с 1991 г., а с 2011 г. уже в рамках специальной федеральной программы. Учитывая, что главным требованием программы является строгое соблюдение сроков проведения обследования, соответствующая подготовка специалистов и применение определённого лабораторного оборудования, принято решение

централизовать все этапы пренатальной диагностики. Для этого были созданы филиалы медико-генетической консультации выполняющие функции межрайонных центров пренатальной диагностики. Использование интернета позволило в постоянном режиме осуществлять контроль выполнения технологии пренатальной диагностики на всех её этапах. Осуществляются телеконсультации врачом-генетиком беременных группы риска по наследственной и врождённой патологии.

За период 2012—2014 гг. по программе пренатальной диагностики в первом триместре было обследовано 50856 беременных, что составило 66,6% от взятых за этот период на учёт до 12 недель. Было выявлено 200 случая хромосомной патологии плода — все беременности прерваны. Из 1403 беременностей с диагностированным морфологическим дефектом плода прерваны 384 из-за тяжести патологии.

Показателем для кариотипирования плода являлось: комбинированный риск по хромосомной патологии более 1 на 100, врождённые пороки развития плода, два и более ультразвуковых маркера.

Высокая частота хромосомной патологии встречалась при врождённых пороках развития плода. Если инвазивная пренатальная диагностика проводилась только по возрасту беременной, аномалии хромосом плода обнаруживались только в 3,1% случаях. Систематический анализ этих результатов позволит более эффективно проводить отбор пациенток для проведения кариотипирования плода.

Таким образом, как видно из представленных данных пренатальная диагностика в Алтайском крае выполняется в полном объёме. Развитие сети филиалов медико-генетической консультации повысит доступность пренатальной диагностики в самых отдалённых районах Алтайского края.

Пороки центральной нервной системы у плодов, abortированных по генетическим показаниям в первом триместре беременности

Новикова И.В., Лазаревич А.А.

*ГУ РНПЦ «Мать и дитя» МЗ РБ, Беларусь, Минск, 220053, ул. Орловская 66.
E-mail: i.novikova@mail.ru*

Целью настоящего исследования было изучение патологоанатомического спектра пороков у плодов, abortированных в I триместре после ультразвуковой диагностики пороков развития (ПР) центральной нервной системы (ЦНС).

Анализ 1346 прерываний по генетическим показаниям в I триместре показал, что в 1/4 случаев (343/1346) показаниями к прерыванию беременности являлись ПР ЦНС. У 256 (19,0%) плодов показаниями к прерыванию были только ПР ЦНС, у 52 — ассоциация ПР ЦНС с ПР других систем, в 32 случаях кроме ПР ЦНС в сочетании с другими ПР было отмечено расширение НТ. Патоморфологическое исследование постабортного материала оказалось возможным в 94,1% случаев (241/256). Дополнительная информация, полученная в 47,3% случаев (114/241), относилась к выявлению других ПР и хромосомной патологии в результате цитогенетического исследования постабортного материала. В целом, у 52,7% плодов (127/241) ПР ЦНС были изолированными дефектами, у 47,3% плодов — компонентами хромосомных болезней (ХБ), генетических синдромов (ассоциации расщелин, АДАМ комплекса, синдромов Меккеля, агнатии-голопрозэнцефалии) и неклассифицированных комплексов множественных ПР. Спектр ПР ЦНС у плодов, abortированных в I триместре, включал, в основном, легко выявляемые в ранние сроки при скрининговом УЗИ пороки, приводящие к грубым нарушениям анатомии: дефекты нервной трубки (анэнцефалию, краниорахисхиз, spina bifida, иониоцефалию), черепно-мозговые грыжи, пороки неразделения переднего мозга (голопрозэнцефалию) и синдром Денди—Уокера. ПР ЦНС в составе ХБ бы-

ли ассоциированы с синдромами Патау (32,5%), триплоидии (29,7%), Эдвардса (18,9%) и различными структурными перестройками хромосом (18,9%). Самыми частыми ПР ЦНС у плодов с ХБ в I триместре оказались голопрозэнцефалия и краниорахисхиз, составившие соответственно 51,4% (19/37) и 18,9% (7/37) всех случаев. Голопрозэнцефалия в 73,7% (14/19) случаев была ассоциирована с синдромом Патау и структурными перестройками хромосом, а синдром Денди—Уокера в 80% (4/5) случаев — с синдромом триплоидии. Наиболее частыми нехромосомными синдромами с вовлечением ЦНС у abortированных плодов I триместра оказались ассоциация расщелин (36 случаев) и АДАМ-комплекс (22 случая). В 4 случаях был установлен синдром Меккеля.

Реализация национального проекта «Пренатальная (дородовая) диагностика нарушений развития ребёнка» в Краснодарском крае

Павленко Н.Е., Морозова И.В., Бобаед И.Я., Матулевич С.А., Омельченко О.Н., Клипа М.В.

ГБУЗ «НИИ — Краевая клиническая больница №1 им. профессора С.В. Очаповского»

*Кубанская межрегиональная медико-генетическая консультация, 350086, г.Краснодар, ул.1 Мая, 167,
e-mail: kubanmgk@mail.ru*

В Краснодарском крае скрининг беременных в I триместре (в дальнейшем скрининг) проводится с января 2012 г. Ультразвуковые исследования проводятся врачами-экспертами межмуниципальных кабинетов пренатальной диагностики (МКПД), анализ биохимических маркеров (РАРР-А, β-ХГч) проводится в КММГК на анализаторах «Автодельфия» и «Дельфия-экспресс» с последующим расчётом индивидуального риска хромосомной аномалии (ХА) у плода. Беременности до, попавшие в группу высокого риска ($\geq 1:100$), вызываются в КММГК, где проводится уточняющая диагностика (УЗИ), пересчитывается риск по ХА, решается вопрос о проведении пренатальной инвазивной диагностики (ПИД).

С целью определения эффективности скрининга нами проведён сравнительный анализ выявляемости ХА за 3 года скрининга (2012—2014 гг.) и предыдущие 3 года (2009—2011 гг.).

За 3 года скрининга в крае обследовано 141 390 беременных — 85% от числа взятых на учёт по беременности до 14 недель (2012 г. — 72,6%, 2013 г. — 87,6%, 2014 г. — 93,9%). Выявлено 517 плодов с ВПР (2012 г. — 160, 2013 г. — 151, 2014 г. — 206). Группу высокого риска по ХА составили 2227 женщин (1,6%). Из явившихся 2011 беременных (90,3%) после пересчёта риска нуждалось в ПИД 1500 (1,1%). Отказались от диагностики 512 пациенток (34,1%). Проведено 988 (65,9%) ПИД (2012 г. — 193, 2013 г. — 338, 2014 г. — 457). В 366 случаях выявлены ХА (эффективность — 37%): 190 — синдром Дауна (СД); 49 — синдром Эдвардса; 37 — синдром Патау; 37 — синдром Тернера; 5 — синдром Клайнфельтера; 21 — полиплоидии; 27 — другая ХА.

За предыдущие до скрининга три года выявлено ХА — 168, СД — 66, ВПР — 181. Таким образом, выявляемость ВПР повысилась в 2,8 раз, ХА — в 2,2 раза, в том числе СД — в 2,9 раз. Выявление СД в I-м триместре увеличилось с 28,8% (19 случаев за 3 года) до 70,5% (134 случая). Отмечается смещение сроков проведения ПИД: до скрининга до 22 нед. беременности проводилось лишь 41% ПИД, во время скрининга — 88%. За счёт своевременной элиминации патологических плодов популяционная частота СД в крае снизилась в 1,4 раза (2009—2011 гг. частота СД 1:866; в 2012—2014 гг. — 1:1240).

Опыт 3 лет работы доказал эффективность комбинированного скрининга I триместра. Чувствительность скрининга на ХА за три года работы составила 84,2%, специфичность — 98,7%.

Использование данных «Мониторинга ВПР» в оценке результативности пренатальной диагностики в Архангельской области

Петрова Е.Г., Турабова А.Л.

ГБУЗ АО «АОДКБ», г. Архангельск, пр. Обводный канал 7, egmgk@ya.ru

Анализ данных «Мониторинга врождённых пороков развития» позволяет решать различные практические задачи, в том числе такие, как оценка эффективности мероприятий пренатальной диагностики в регионе, влияние различных факторов на структуру наследственной и врождённой патологии.

В Архангельской области сформирована база данных с 1995 г. Сравнение данных 2011–2014 гг. показало, что переход на критерии живорождения ВОЗ с 2012 г. привел к уменьшению своевременно выявленных пороков с 36,7% в 2011 до 22,3% в 2012 г. В 2013 г. наметилась тенденция к увеличению доли своевременно диагностированных пороков, в 2014 г. уже составила 35,4%. При этом в связи с проведением скрининга первого триместра подготовленными специалистами межрайонных кабинетов пренатальной диагностики значимо возросла доля ранней диагностики грубых ВПР (до 14 недель) с 26,2% в 2011 до 56,0% в 2014 г.

Существенные изменения произошли в возрастной структуре матерей, что нашло свое отражение в изменении частот пороков, на которые оказывает влияние данный фактор (таблица). Так, за период с 1995 по 2013 гг. группа риска юных матерей до 19 лет уменьшилась с 17,2% до 4,9%, в то же время группа женщин старше 35 лет увеличилась с 5,0% до 11,6%.

Изменение частот (на 10 000 новорождённых) анэнцефалии и синдрома Дауна в сравнении с данными EVROCAT (1995–1999 и 2009–2013 гг.)

	EVROCAT		Архангельская область	
	1995–1999	2009–2012	1995–1999	2009–2013
Синдром Дауна	18,44	23,19	7,0	14,8*
Анэнцефалия	3,84	3,76	10,5	4,6*

Примечание. * $p < 0,01$

Таким образом, анализ базы данных «Мониторинга ВПР» позволяет оценивать эффективность работы специалистов территории, своевременно принимать организационные решения.

Диагностическая значимость маркёров хромосомной патологии

Плотникова О.В., Шипилов А.А., Гергерд И.Г., Гончарова О.Д.

КГБУЗ «Диагностический центр Алтайского края» г. Барнаул
Алтайская межрегиональная медико-генетическая консультация
kettari63@yandex.ru

С целью повышения эффективности инвазивной пренатальной диагностики хромосомных нарушений у плодов проведён анализ значимости диагностических признаков.

За период 2012–2014 гг. проведено 1816 пренатальных цитогенетических исследований, выявлено 204 хромосомных нарушений у плодов. Выявляемость хромосомных нарушений при проведении инвазивной пренатальной диагностики за отчётный период составила 11,3%.

В таблице представлены маркёры наиболее часто встречаемых хромосомных нарушений у плодов в 1 и 2 триместре и рассчитана их диагностическая значимость.

Организация службы ПГД-консультирования

Померанцева Е.А., Ковалева Я.В., Исаев А.А.

ООО «ЦГРМ ИСКЧ», 119991, Москва, ул. Губкина, д. 3, корп. 1;
pomerantseva@hsci.ru

ПГД — преимплантационная генетическая диагностика — анализ эмбрионов до переноса их в матку с целью диагностики наследственных заболеваний. В 2012 г. в ЦГРМ ИСКЧ была открыта первая в России служба ПГД-консультирования. Ее задачами являются:

1) информирование пациентов и специалистов о возможностях, рисках, ограничениях и показаниях к проведению ПГД;

2) организация и контроль качества проведения ПГД на всех этапах, обеспечение взаимодействия разных специалистов, задействованных в работе с пациентом;

3) обучение специалистов (генетиков, репродуктологов, эмбриологов) специфике работы с пациентами, нуждающимися в проведении ПГД;

4) изучение параметров, влияющих на достоверность и информативность ПГД.

ПГД-служба работает с запросами как пациентов, так и специалистов, сталкивающихся с преимплантационной генетической диагностикой в ходе своей профессиональной деятельности. Наиболее частые запросы таковы.

Диагностическая значимость маркёров хромосомной патологии (Плотникова О.В., Шипилов А.А., Гергерд И.Г., Гончарова О.Д.)

	Характер хромосомной патологии (абс. кол-во признаков/% от общ. кол-ва)								
	+21	+18	+13	45,X	47+mar	tr	Трипло/тетраплоидия	триплоX	
УЗ маркёры 1 триместра*	61/84	21/81	10/91	16/94	3/50	4/57	3/75	2/100	
Astraia 1:100 и выше.	62/85	19/73	8/73	15/88	5/83	5/71	1/25	1/50	
Возраст 39 лет и более	37/51	11/42	3/27	1/6	3/50	2/29	2/50	1/50	
ВПР/МВПР	15/21	14/54	8/73	10/59	2/33	2/29	1/25	—	
Носительство tr.	—	—	—	—	—	2/29	—	—	
Всего в 1 триместре	73/100	26/100	11/100	17/100	6/100	7/100	4/100	2/100	
УЗ маркёры 2 триместра**	17/81	6/100	2/100	3/75	1/50	2/33	—	1/33	
Prisca 1:250 и выше	10/42	3/50	1/50	1/25	—	2/33	—	1/33	
Возраст 39 и более лет	11/46	1/17	—	—	2/100	3/50	—	3/100	
ВПР/МВПР	8/33	4/67	2/100	2/50	—	3/50	—	—	
Носительство tr.	—	—	—	—	—	2/33	—	—	
Всего во 2 триместре	24/100	6/100	2/100	4/100	2/100	6/100	—	3/100	

Примечание * ТВП ≥ 3 мм, гипоплазия НК ≤ 2 мм, реверсный кровоток в венозном протоке; ** вентрикуломегалия, кисты ХС, гиперэхогенный кишечник, пиелозктазия почек, единственная артерия пуповины, СЗРП, клубничкообразная форма головки, укорочение бедренной кости, гипоплазия НК

От пациентов: возможность проведения ПГД определённого заболевания; увеличение эффективности программы ЭКО; объяснение неудач в прошлых попытках ЭКО; варианты проведения генетической диагностики эмбрионов; определение целесообразности использования донорских гамет.

От специалистов: возможность проведения ПГД определённого заболевания; обучение в лаборатории; обучение ПГД-консультированию; необходимое оборудование для работы с ПГД; организация транспортировки биообразцов; выбор метода ПГД для внедрения в своей практике.

Факторы успешности и достоверности, которые могут быть использованы как параметры оценки качества проведения ПГД: выбор современных клинически валидированных методов диагностики; наличие продуманной системы контролей используемых материалов для предотвращения контаминации биообразца; контроль качества работы лабораторных специалистов; форма выдачи результатов, содержащая несколько уровней детализации информации; консультирование пациента как перед ПГД, так и по полученным результатам; отлаженность взаимодействия специалистов (репродуктологов, генетиков, эмбриологов) и вспомогательных служб (логистика); понимание всеми участниками процесса возможностей и ограничений метода и принятие решений по сложным диагностическим случаям на основании приоритета интересов пациента.

Мониторинг беременных и ранний пренатальный скрининг в Амурской области

Самохвалов В.А., Судаков А.Г., Шальнев В.В.

*ГАУЗ Амурская областная клиническая больница. Центр охраны здоровья семьи и репродукции. Медико-генетическая консультация 675028, Благовещенск, ул. Воронкова 26
E-mail: samgenam@rambler.ru*

Разработана и внедрена система электронного мониторинга беременных для проведения раннего пренатального скрининга (РПС) первого триместра беременности. Внедрение сочетанного мониторинга беременных и РПС проведено на территории 360 тыс. км², где проживает 217,6 тыс. женщин фертильного возраста. Территория характеризуется низкой плотностью населения (2,2 на 1 км²) и низкой транспортной доступностью. Программа мониторинга беременных установлена во всех муниципальных лечебных учреждениях (МЛУ) и медико-генетической консультации (МГК) административного центра. При постановке на учёт в электронную карту беременной заносятся необходимые данные о сроках и течении беременности. В автоматическом режиме беременные распределяются по группам риска и определяются сроки поведения пренатального скрининга. В МГК врач-генетик в режиме on-line определяет дату и планирует проведение (РПС) для конкретной беременной независимо от места её проживания. Экспертное УЗИ, забор крови и транспортировка в лабораторию МГК для исследования биохимических маркеров проводится только в МЛУ, где наблюдается не менее 1000 беременных в течение года. Остальные беременные обследуются в МГК. В МГК проводится экспертное УЗИ и забор крови у 77% беременных региона, вставших на учёт до 14 недель. Все беременные, прошедшие обследование непосредственно в МГК, получают заключение о результатах пренатального скрининга в день обследования. В течение 2013 г. с применением электронного мониторинга беременных РПС выполнен у 8499 беременных. Группа высокого риска рождения ребёнка с хромосомными заболеваниями составила 148 беременных (1,7%). По результатам РПС проведено 83 забора плодного материала. Выявлено 22 случая хромосомной патологии плодов или 14,7% в группе беременных высокого риска. Организация РПС с использованием мониторинга беременных региона в МГК позволила обследовать 92% беременных, вставших на учёт до 14 недель беременности. Исходя из того, что количество родов в течение трёх лет (2011—2013 гг.) сравнимо, процент пре-

натальной диагностики хромосомных заболеваний плода в 2013 г. увеличился соответственно на 35% по сравнению с 2012 г. и на 74% по сравнению с 2011 г.

Анализ результатов пренатального скрининга в Республике Казахстан (2007—2014 гг.)

*Святова Г.С., Салимбаева Д.Н.,
Березина Г.М., Хорошилова И.Г.*

*Республиканская медико-генетическая консультация,
Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии МЗСР РК
050020, г.Алматы, проспект Достык, 125, Казахстан
respmgk@mail.ru*

Национальным приоритетным направлением деятельности медико-генетической службы (МГС) Республики Казахстан (РК) является профилактика и ранняя дородовая диагностика врождённых и наследственных заболеваний для снижения детской заболеваемости, смертности и инвалидности, сохранения и оздоровления генофонда РК.

В настоящее время в РК функционирует 19 учреждений медико-генетического профиля, в которых работают 260 специалистов, из них 131 с высшим образованием. Пренатальный скрининг (ПС) в РК внедрен с 1 июля 2007 г., проводится централизованно с использованием единого оборудования и реактивов Perkin Elmer со строгим ежеквартальным мониторингом его эффективности. Охват ПС вырос от 10,5% в 2007 г. до 65% в 2014 г. В целом, с 2007 г. ПС прошли 1 млн 351 тыс. беременных, проведено 22 тысячи инвазивных пренатальных процедур, диагностировано внутриутробно и предупреждено рождение 1200 детей с синдромом Дауна и другой хромосомной патологией, 9400 детей с летальными ВПР.

По данным Национального Генетического Регистра РК с внедрением ПС частота рождения детей с ВПР достоверно снизилась от 12,2 в 2007 г. до 8,8 на 1000 рождений в 2014 г. Удельный вес ВПР в структуре причин перинатальной смертности снизился от 14,4% в 2007 г. до 6,7% в 2014 г. Ежегодно по генетическим причинам прерывается 1200—1500 беременностей, из них летальные ВПР составляют 60%, дефекты нервной трубки — 30% и хромосомные болезни — 10%. Внедрение Государственной программы генетического скрининга в РК позволило достоверно снизить частоту рождения детей с дефектами нервной трубки от 0,54 на 1000 новорождённых в 2007 г. до 0,34 на 1000 рождений в 2014 г.; частоту рождения детей с синдромом Дауна от 0,98 в 2007 г. до 0,72 на 1000 рождений в 2014 г.

Для повышения охвата и эффективности ПС внедрен ПС на сухих пятнах крови (беременные из отдалённых сельских районов); амниоцентез с последующим FISH-методом. В 2014 г. 14 (74%) областных медико-генетических консультаций прошли международный контроль качества анализов ПС — RIQAS (UK). Ежегодно проводится обучение с последующей сертификацией всех специалистов биохимического пренатального скрининга РК.

Оценка результатов цитогенетического анализа инвазивной пренатальной диагностики после внедрения комбинированного скрининга I триместра в Санкт-Петербурге

*Смирнова М.В., Сеница Е.В.,
Лежнина Ю.Г., Прозорова М.В.*

*СПб ГКУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)»,
194044, Санкт-Петербург, Тобольская ул. 5
e-mail: marina_r72@list.ru*

Согласно Распоряжению Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга №231-р от 23.06.2014 «О мерах по снижению наследственных и врождённых заболеваний у детей в Санкт-Петербурге» в рамках приоритетного нацио-

нального проекта «Здоровье» одним из ведущих показаний для проведения инвазивной пренатальной диагностики при беременности является результат комбинированного скрининга (КС) I триместра. КС I триместра включает в себя, как ультразвуковое исследование, так и определение уровней ассоциированного с беременностью белка А (РАРР-А) и свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина.

Цитогенетическая лаборатория Медико-генетического центра г. Санкт-Петербурга проводит цитогенетические исследования плодного материала при инвазивной пренатальной диагностике (ИПД) с 2005 г. С 2005 по 2013 гг. одним из основных показаний для проведения диагностики являлся биохимический скрининг II триместра беременности, использующий показатели АФП и ХГЧ при биохимическом исследовании крови беременной.

За период 2005—2013 гг. нами было проведено 5495 диагностик и выявлено 558 патологий, что составило 10,15%. В том числе была обнаружена 271 трисомия хромосомы 21 (синдром Дауна), что составило 4,9%. После внедрения КС I триместра, как основного показателя для ИПД, с 2014 г. при общем количестве диагностик 617 было выявлено 137 патологий (22,20%), из них 77 трисомий хромосомы 21 (12,5%).

Таким образом, можно говорить о значительном увеличении эффективности цитогенетической пренатальной диагностики, в том числе выявления трисомий хромосомы 21 при введении массового КС I триместра.

Кроме того, мы ожидали смещения сроков проведения процедуры ИПД после КС I триместра к более ранним. Но процент проведённых в 2014 г. ИПД в сроки от 14 до 20 нед. составил 66%, а после 20 нед. беременности — 10%, как и в период 2005—2013 гг., что говорит о необходимости более полного информирования беременных на первом этапе консультирования.

Пренатальный скрининг в Республике Башкортостан

Талипова З.К., Байбурина Л.Г., Сангизова В.В., Марданова А.К.

Медико-генетическая консультация ГБУЗ Республиканский перинатальный центр, г. Уфа, ул. Чернышевского, 41; e-mail: mgkufa@rambler.ru.

В 2011 г. в рамках национального проекта по пренатальной диагностике в Республике Башкортостан (РБ) внедрена новая стратегия скрининга. Для его проведения сформировано 10 межрайонных кабинетов пренатальной диагностики (МКПД), в которых проводится УЗИ беременных на аппаратах высокого класса и взятие образцов крови на исследование сывороточных маркеров хромосомных аномалий I триместра. После внедрения новой сис-

темы скрининга, число беременных женщин, проходящих пренатальную (дородовую) диагностику в I триместре беременности, составляет ежегодно более 40 000 чел., причём в группу высокого риска (более 1/100) попадает 1,3—1,7% от общего числа обследованных или около 500 женщин (до внедрения программы в эту группу входило 10—15% женщин).

При низком риске хромосомных патологий (менее 0,1%) по результатам комбинированного скрининга в 11—14 недель (РАРР-А + β-ХГЧ, ультразвукового исследования толщины воротничкового пространства) нет необходимости обследования беременных во втором триместре, т.к. чувствительность и специфичность современных тестов для выявления хромосомных аномалий приближаются к 99%. С учётом распространённости хромосомных аномалий, даже если принять её равной 2—5%, отрицательная прогностическая значимость результатов тестов будет составлять 99,9%, положительная — 66,9—83,9%.

Нами за последние 3 года было обследовано 116 611 беременных. В аудите участвовали 12 660 женщин (10,9%) в возрасте 35 лет и старше. Значение риска 1 на 100 или больше было в 1624 случаях (1,4%). За обследуемый период было выявлено трисомии 21 — 155 случаев (62%), трисомии 18 — 54 случая (22%). Трисомии 13 — 9 случаев (4%); общее число выявленных хромосомных аномалий — 289 случаев. Среди обследуемых женщин в сроке 11 недель скрининг прошли 16 322 женщины (13,9%), 12 недель — 54 605 женщин (46,8%), 13 недель — 34 145 беременных (29,2%).

Анализ результатов раннего пренатального скрининга показал эффективность новой системы пренатальной диагностики. Как видно из представленных данных новая система пренатальной диагностики по ряду общих показателей, показала значимый эффект выявляемости — 58%. Уменьшилось число инвазивных вмешательств, а выявление хромосомных патологий стало проводиться в более ранние сроки.

Информативность маркёров хромосомных аномалий плода

Фесик О.А., Шальнев В.В., Макарова Н.В., Новолодская О.А., Витер М.С., Старостенкова Н.И., Макарьев А.И., Немцова Л.Н., Чунихина Л.П., Поздеева Т.Ю., Самохвалов В.А.

Областной перинатальный центр ГАУЗ АО АОКБ 675000, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Воронкова 26 E-mail: vladimir_shalnev@mail.ru

На основании результатов комбинированного пренатального скрининга проведён расчёт отношения правдоподобия основных

Показатели информативности маркёров хромосомных аномалий плода (Фесик О.А. и др.)

	Маркёры	Чувствительность	Специфичность	Отношение правдоподобия
УЗИ	Наличие ультразвуковых маркёров	85,4	95,7	19,8
	Только ультразвуковые маркёры	6,3	97,6	2,6
	Увеличение ТВП	70,8	97,2	24,9
	Только увеличение ТВП	6,3	98,4	3,9
	Отсутствие или гипоплазия носовых костей	31,3	99,8	140,9
	Реверсный кровоток в венозном протоке	29,2	99,6	70,9
	Трикуспидальная регургитация	22,9	99,3	30,8
Биохимия (БХ)	Наличие БХ маркёров	89,6	96,3	24,4
	Повышение β-ХГЧ	54,2	80,8	2,8
	Снижение РАРР	52,1	90,3	5,3
Возраст	Возраст (35 лет и более)	43,8	90,4	4,6
Сочетание маркёров	БХ + Возраст	8,3	97,4	3,2
	УЗИ + Возраст	4,2	99,6	9,8
	УЗИ + БХ	43,8	98,9	40,9
	УЗИ + БХ + Возраст	31,3	99,9	239,5

маркёров хромосомных аномалий (ХА) для прогнозирования данной патологии. В основную группу вошли 48 случаев с выявленной хромосомной патологией у плода/новорождённого: трисомия 21 — 34, трисомия 13 — 4, трисомия 18 — 5, синдром Шершевского—Тернера — 3, триплоидия — 1, сбалансированная транслокация — 1 случай. Контрольную группу составили 15325 беременных без признаков у новорождённого ХА.

У плодов с ХА примерно с одинаковой частотой были выявлены как ультразвуковые, так и биохимические маркёры, что увеличивает базовый риск наличия данной патологии в среднем в 20—25 раз. При этом, как правило, выявляются комбинации маркёров. В изолированном виде при патологии наблюдалось только расширение ТВП (3 случая из 48), что повышает риск наличия ХА в 3,9 раза. Биохимические маркёры у плодов с ХА и возраст беременных 35 лет и более встречались всегда либо в сочетании между собой, либо с ультразвуковыми маркёрами в различных вариантах. В трёх случаях маркёры не были выявлены: трисомия 21, трисомия 13, синдром Шершевского—Тернера. Риск наличия у плода хромосомных аномалий более всего возрастает при сочетании возраста, ультразвуковых и биохимических маркёров.

Пренатальная диагностика анеуплоидий методом QF-PCR

Чухрова А.Л., Бескоровая Т.С., Поляков А.В.

ФГБУ «МГНЦ» РАМН, г. Москва
achukhrova@yandex.ru

Метод количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (QF-PCR) — один из современных подходов, используемых для диагностики (в том числе и пренатальной) наиболее частых анеуплоидий: трисомий по хромосомам 21, 13, 18, нарушение числа половых хромосом, а также полиплоидий.

Созданная нами система диагностики включает 25 маркёров (по 5 маркёров на хромосомы 13, 18, 21, X; маркёры AMEL, 4SH, ZFXU, SRY — для определения пола, маркёр TAFL — для определения числа хромосом X в геноме), которые одновременно амплифицируются в одной пробирке, а затем полученные ПЦР-продукты анализируются на автоматическом секвенаторе с использованием программного обеспечения GeneMapper v3.7.

С помощью данной системы мы проанализировали 256 образцов плодного материала (ворсин хориона или амниотической жидкости). Результаты анализа представлены в таблице.

Беременных из группы риска развития частых анеуплоидий мы разделили на две подгруппы: первая была сформирована на основе данных УЗИ и биохимических показателей, а вторая — на основе только биохимических показателей. В первой подгруппе анеуплоидии выявлены в 37,8% случаев, тогда как во второй подгруппе — только в 3,2% случаев, что сравнимо с частотой обнаружения анеуплоидий у беременных, не входящих в группу риска (2,4%). Таким образом, очевидно, что для формирования группы риска развития анеуплоидий необходимо основываться на данных УЗИ, а изолированное изменение биохимических показателей является в данном случае не информативным.

Результаты пренатальной диагностики анеуплоидий (Чухрова А.Л., Бескоровая Т.С., Поляков А.В.)

Группы	Всего	Синдром Патау	Синдром Эдвардса	Синдром Дауна	XY	Выявленная патология
Беременные из группы риска (УЗИ и биохимические показатели)	66	2 (3,0%)	7 (10,6%)	16 (24,2%)	0	25 (37,8%)
Беременные из группы риска (только биохимические показатели)	62	0	0	2 (3,2%)	0	2 (3,2%)
Беременные не из группы риска	124	0	0	2 (1,6%)	1 (0,8%)	3 (2,4%)
Замершая беременность	4	0	0	0	2 (50%)	2 (50%)
Всего	256	2 (0,8%)	7 (2,7%)	20 (7,8%)	3 (1,2%)	32 (12,5%)

Номограмма соотношения копчико-теменного размера и бипариетального размера головки плода для раннего пренатального скрининга

Шальнев В.В., Фесик О.А., Макарова Н.В.,
Новолодская О.А., Витер М.С.,
Старостенкова Н.И., Макаров А.И.

Областной перинатальный центр ГАУЗ АО АОКБ,
675000, Амурская область, г. Благовещенск, ул. Воронкова 26
E-mail: vladimir_shalnev@mail.ru

Ультразвуковое исследование в период раннего пренатального скрининга проводится с измерением бипариетального размера (БПР) головки для сопоставления его с копчико-теменным размером (КТР) плода и ранней диагностики аномалий развития ЦНС.

Номограмма соотношения КТР и БПР головки плода

КТР	БПР 5%	БПР 50%	БПР 95%	КТР	БПР 5%	БПР 50%	БПР 95%
45	14,2	15,7	17,2	65	19,0	21,3	23,5
46	14,4	16,0	17,6	66	19,3	21,5	23,8
47	14,6	16,3	17,9	67	19,5	21,8	24,1
48	14,8	16,6	18,3	68	19,8	22,1	24,4
49	15,1	16,8	18,6	69	20,1	22,4	24,7
50	15,3	17,1	18,9	70	20,4	22,6	24,9
51	15,5	17,4	19,3	71	20,6	22,9	25,2
52	15,8	17,7	19,6	72	20,9	23,2	25,4
53	16,0	18,0	19,9	73	21,2	23,5	25,7
54	16,2	18,2	20,2	74	21,5	23,7	26,0
55	16,5	18,5	20,6	75	21,8	24,0	26,2
56	16,7	18,8	20,9	76	22,1	24,3	26,5
57	17,0	19,1	21,2	77	22,4	24,6	26,7
58	17,2	19,3	21,5	78	22,7	24,8	27,0
59	17,5	19,6	21,8	79	23,0	25,1	27,2
60	17,7	19,9	22,1	80	23,3	25,4	27,4
61	18,0	20,2	22,4	81	23,6	25,6	27,7
62	18,2	20,4	22,7	82	23,9	25,9	27,9
63	18,5	20,7	23,0	83	24,2	26,2	28,1
64	18,7	21,0	23,3	84	24,5	26,4	28,4

Для разработки номограмм соотношения КТР и БПР головки плода были проведены измерения данных параметров фетометрии в 574 случаях в сроки раннего пренатального скрининга у пациенток с нормальным исходом беременности. Для каждого значения КТР от 45 до 84 мм рассчитаны медиана и 5—95 процентиля значений БПР головки плода.

При БПР головки плода меньше 5-го процентиля для его КТР особое внимание необходимо уделять позвоночнику и целостности кожи над ним, а в период 2-го ультразвукового скрининга повторить тщательную оценку анатомии позвоночника и структур головного мозга для исключения у плода пороков развития ЦНС.

Субмикроскопические делеции и дупликации при интерпретации результатов методом КФ-ПЦР

Шокарев Р. А., Кривенцова Н. В., Кригер С.Ю.

ФГБУ Ростовский НИИ акушерства и педиатрии Минздрава России

Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43, r715@yandex.ru

Метод количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР) для выявления нарушений числа 21, 13, 18 и половых хромосом применяется для инвазивной пренатальной диагностики (ИПД) как за рубежом, так и в нашей стране. Он основан на обнаружении тройной дозы хромосом-специфических коротких tandemных повторов (STR), которая характерна для трисомий. Для оценки результатов необходимо учитывать возможность мутаций в STR-локусах (субмикроскопические дупликации, делеции и точковые мутации).

С 2010 по 2014 гг. методом КФ-ПЦР было выполнено 1760 ИПД. Количество и частоты субмикроскопических дупликаций представлены в таблице.

Маркёры	Количество	Частота
D13S634	4	0,23%
D13S628	1	0,06%
D21S1411	1	0,06%
D18S978	1	0,06%
D18S535	3	0,17%
Всего	10	0,57%

Дупликацию или делецию целой повторяющейся единицы в локусе возможно детектировать. Большое значение для правильной интерпретации результатов ИПД имеют случаи полного выпадения аллеля. Нами был протестирован образец ДНК ребёнка с установленным диагнозом: синдром Дауна (трисомия по 21 хромосоме) цитогенетическим методом. Для молекулярно-генетического анализа использовались четыре высоко-полиморфных маркера на хромосому 21. Два из них (*D21S1435* и *D21S11*) оказались неинформативными гомозиготами, по локусу *IFNAR* наблюдались диаллельные пики с отношением высот 1:1,9, а по локусу *D21S1411* диаллельные пики размером 302 и 322 п.н. с коэффициентом отношения высот 1:1. При тестировании ДНК родителей определили материнское происхождение лишней хромосомы 21 и наличие у матери двух аллелей размером 302 и 322 п.н. по локусу *D21S1411*, которые и были переданы ребёнку. У отца в электрофореграмме по этому локусу наблюдался один пик размером 314 п.н., который не присутствовал на электрофореграмме ребёнка. «Выпадение» этого аллеля может быть связано с мутацией в праймер-связывающей последовательности, вследствие чего стал невозможен отжиг праймеров, что и привело к отсутствию амплификации. Таким образом, при интерпретации результатов ИПД методом КФ-ПЦР на частые триплоидии необходимо использовать не менее двух информативных маркеров и в сомнительных случаях использовать дополнительные маркеры.

Диагностика хромосомной патологии у плода в рамках пренатального скрининга 1 триместра беременности в Томской области

Яковлева Ю.С.^{1,2}, Вовк С.Л.¹, Торхова Н.Б.¹, Диденко Л.И.¹, Луканина О.Б.¹, Назаренко Л.П.^{1,2}, Рудко А.А.¹, Пузырев К.В.¹

¹ ФГБНУ «НИИ медицинской генетики

² БГОУ ВПО СибГМУ Минздрава России
634050, г.Томск, Набережная р.Ушайки, д.10
jul25@mail.ru

Согласно Постановлению Правительства Российской Федерации от 31 декабря 2009 г. №1159 с 2010 г. Томская область участвует в проекте по ранней комплексной пренатальной диагностике нарушений развития ребёнка. Все беременные в сроке 11–14 недель направляются женскими консультациями города и области на ультразвуковое исследование в клинику ФГБНУ «НИИ медицинской генетики», Областной Перинатальный Центр или в межрайонные медицинские центры. Одновременно производится забор крови для проведения исследования на сывороточные маркеры (РАРР-А и β-ХГЧ), которое для жительниц области выполняется централизованно в клинике института на автоматических анализаторах Brahms Kryptor и Delfia Express. Расчёт риска хромосомной патологии проводится с помощью программ Astraia и LifeCycle с учётом возраста беременной, ультразвуковых и сывороточных маркёров.

За период с ноября 2010 г. по декабрь 2014 г. в Томске и Томской по данной программе была обследована 45 191 беременная женщина. В группу риска с границами риска 1/100 для программы Astraia и 1/250 для программы LifeCycle, вошли 1186 женщин, что составило 2,6% от числа прошедших скрининг. Хромосомная патология была выявлена в 210 случаях (17,7% от женщин группы высокого риска). Спектр хромосомных нарушений представлен различными числовыми и структурными нарушениями: с.Дауна диагностирован у 112 плодов (53,3%), с.Патау — в 11 случаях (5,2%), с.Эдвардса — 27 случаев (12,9%). Нарушения в системе половых хромосом (с.Клайнфельтера, с.Шерешевского—Тернера) отмечены у 26 плодов (12,4%), в остальных случаях отмечены транслокации и полиплоидия у плода. При анализе групп беременных женщин, прошедших инвазивную пренатальную диагностику, выяснилось, что наибольшее число хромосомной патологии у плода диагностировано в группе риска по сочетанным маркерам (УЗ-маркеры, РАРР-А, β-ХГЧ). Однако в ряде случаев хромосомная патология (к примеру, с.Шерешевского—Тернера) выявлялась только по наличию УЗ-маркёров. В целом, следует отметить, что введение комплексного скрининга 1 триместра привело к увеличению выявляемости хромосомной патологии плода более чем на 30%.