

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2022.11.19-22>

Оценка эффективности полногеномного неинвазивного пренатального тестирования для выявления редких хромосомных аномалий на основе опыта ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»

Вашукова Е.С.^{1,2}, Тарасенко О.А.^{1,2}, Козюлина П.Ю.², Моршнева А.В.², Мальцева А.Р.², Глотов А.С.¹

1 – ФГБНУ «Институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им.Д.О. Отта»
199034, г. Санкт-Петербург, Россия, Менделеевская линия, д.3

2 – ООО «НИПТ»
199178, г.Санкт-Петербург, Россия, вн.тер.г. Муниципальный Округ Остров Декабристов, наб. Реки Смоленки, д. 5-7, литера П

Введение. Неинвазивное пренатальное тестирование (НИПТ) с использованием технологии полногеномного секвенирования ДНК, циркулирующей в крови беременной, является одним из самых эффективных методов для определения риска хромосомных аномалий у плода без инвазивных вмешательств. Данный тест помимо частых хромосомных аномалий позволяет выявлять редкие нарушения. Однако целесообразность использования полногеномного НИПТ для детекции редких хромосомных аномалий остается предметом дискуссий.

Цель: оценить эффективность использования полногеномного НИПТ для выявления редких хромосомных аномалий у плода на основе опыта ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта».

Методы. В период с декабря 2019 по май 2022 года с использованием технологии полногеномного секвенирования проанализированы образцы ДНК, выделенные из плазмы крови 4600 женщин с одноплодной беременностью.

Результаты. В 182 (4,0%) случаях обнаружен высокий риск хромосомных аномалий у плода, из них 35 (19,2%) случаев составили редкие аномалии. Чаще встречались трисомии по хромосоме 16 (десять случаев), по хромосоме 19 (три случая), реже – трисомии по хромосомам 8, 9, 20, 10, 22 (по два случая), по хромосомам 2, 3, 4, 5, 11, 12, 14, 15 (по одному случаю), моносомии по хромосомам 21, 18 и 13 (по одному случаю), в одном случае – риск множественной анеуплоидии. Результаты подтверждающей инвазивной диагностики получены у 11 женщин, остальные пациенты отказались от инвазивных процедур. Выявленные аномалии подтверждены в 6 случаях (54,5%).

Ключевые слова: хромосомные аномалии, неинвазивное пренатальное тестирование, технология полногеномного секвенирования.

Для цитирования: Вашукова Е.С., Тарасенко О.А., Козюлина П.Ю., Моршнева А.В., Мальцева А.Р., Глотов А.С. Оценка эффективности полногеномного неинвазивного пренатального тестирования для выявления редких хромосомных аномалий на основе опыта ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». *Медицинская генетика* 2022; 21(11): 19-22.

Автор для корреспонденции: Глотов А.С.; e-mail: anglotov@mail.ru

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Программы прикладных научных исследований, № АААА-А20-120041390028-0. Использованы образцы, депонированные в УНУ «Репродуктивное здоровье человека» (регистрационный номер USU_3076082).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.10.2022

Evaluation of the whole-genome non-invasive prenatal testing effectiveness for detection of rare chromosomal abnormalities based on the The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott experience

Vashukova E.S.^{1,2}, Tarasenko O.A.^{1,2}, Kozyulina P.Yu.², Morshneva A.V.², Maltseva A.R.², Glotov A.S.¹

1 – Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology n.a. D.O. Ott
3, Mendelevskaya line, Saint Petersburg, 199034, Russian Federation

2 – LLC «NIPT»
St. Petersburg, Russian Federation

Background. Non-invasive prenatal testing (NIPT) using whole-genome sequencing of DNA circulating in the pregnant woman blood is one of the most effective method for determining the risk of fetal chromosomal abnormalities without invasive interventions. This test, in addition to frequent abnormalities, allows to identify rare pathologies. However, the feasibility of whole-genome NIPT for detection of rare chromosomal abnormalities remains a subject of debate.

Aim: to evaluate the effectiveness of whole-genome NIPT for the detection of rare fetus chromosomal abnormalities based on the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology experience.

Methods. In the period from December 2019 to May 2022, DNA samples isolated from the blood plasma of 4,600 women with singleton pregnancies were analyzed using whole genome sequencing technology.

Results. In 182 (4.0%) cases, a high risk of fetal chromosomal abnormalities was found, of which 35 (19.2%) cases were rare pathologies. More common were trisomy on chromosome 16 (ten cases), on chromosome 19 (in three cases), less often - trisomy on chromosomes 8, 9, 20, 10, 22 (in two cases), on chromosomes 2, 3, 4, 5, 11, 12, 14, 15 (one case each), monosomy on chromosomes 21, 18 and 13 (one case each), one case of multiple aneuploidy. The invasive diagnostic results were obtained for 11 women, other patients refused invasive procedures. The identified rare anomalies were confirmed in 6 cases (54.5%).

Keywords: chromosomal abnormalities, non-invasive prenatal testing, whole genome sequencing technology.

For citation: Vashukova E.S., Tarasenko O.A., Kozyulina P.Yu., Morshneva A.V., Maltseva A.R., Glotov A.S. Evaluation of the whole-genome non-invasive prenatal testing effectiveness for detection of rare chromosomal abnormalities based on the Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O.Ott experience. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2022; 21(11): 19-22. (In Russ.)

Corresponding author: Glotov A.S., e-mail: anglotov@mail.ru

Funding. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under the Program for Applied Scientific Research, no. AAAA-A20-120041390028-0. Samples deposited in the bioresource collection «Human Reproductive Health» (registration number USU_3076082) were used.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Accepted: 20.10.2022

Введение

Неинвазивное пренатальное тестирование (НИПТ) – один из самых технологичных и значимых тестов для оценки репродуктивного здоровья семьи. Сегодня существуют разные варианты проведения НИПТ. Одним из подходов является использование технологии полногеномного высокопроизводительного секвенирования ДНК, циркулирующей в плазме крови беременной. Данный тест позволяет выявлять частые анеуплоидии по хромосомам 21, 18, 13, X и Y, а также анализировать редкие хромосомные аномалии, включая несбалансированные хромосомные перестройки, редкие аутосомные трисомии и моносомии, сверхчисленные маркерные хромосомы, а также микроделеции и микродупликации [1]. Однако целесообразность использования полногеномного НИПТ для выявления редких хромосомных аномалий остается предметом дискуссий в связи с высокой частотой ложноположительных результатов и сложностями клинической интерпретации.

Цель: оценка эффективности использования НИПТ для выявления редких хромосомных аномалий у плода на основе опыта ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта».

Методы

В период с декабря 2019 по май 2022 гг. проанализированы образцы крови 4600 женщин в возрасте от 16 до 49 лет с одноплодной беременностью на сроке не ра-

нее 9 недель гестации. Исследование одобрено Этическим Комитетом ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (№130 от 16 июля 2020г). От всех женщин получено информированное согласие.

Венозную кровь собирали в пробирки с 0,5М расствора ЭДТА или в пробирки, содержащие стабилизатор ядроксодержащих клеток («Streck», США). Если кровь собирали в пробирки 0,5М ЭДТА, плазму выделяли не позднее, чем через 4 часа после взятия крови. В случае взятия биоматериала в пробирки с консервантом плазму выделяли при поступлении крови. Выделение ДНК, подготовку библиотек, секвенирование на приборе Ion Torrent S5 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) и биоинформатическую обработку проводили с помощью запатентованного протокола [2].

Результаты

У 4399 (95,6%) пациенток определен низкий риск хромосомных аномалий у плода, в 182 (4,0%) случаях обнаружен высокий риск, у 19 (0,4%) женщин исследование не выполнено. Среди выявленных нарушений редкие аномалии выявлены в 35 (19,2%) случаях: обнаружен высокий риск трисомии по хромосомам 2, 3, 4, 5, 11, 12, 14, 15 (по одному случаю), по хромосоме 8, 9, 20, 10, 22 (по два случая), по хромосоме 19 (в трех случаях), по хромосоме 16 (десять случаев); моносомии по хромосомам 21, 18 и 13 (по одному случаю), в одном случае – риск множественной анеуплоидии.

При этом 14 (40,0%) «редких находок» выявлено у женщин с высоким риском по результатам комбинированного скрининга первого триместра, 12 (34,3%) – у женщин с промежуточным риском, 9 (25,7%) – при обеспокоенности состоянием плода (таблица).

Результаты подтверждающей инвазивной диагностики получены у 11 женщин с редкими аномалиями, остальные пациенты отказались от инвазивных процедур. Выявленные аномалии подтверждены в 6 случаях (54,5%). У беременной с риском трисомии 2 выявлены пороки развития плода, беременность была прервана и хромосомную патологию подтвердили при кариотипировании. Трисомия 22 подтвердилась при исследовании материала замершей беременности. При подозрении на моносомию 18 кариотипирование установило у плода делецию длинного плеча хромосомы 18. Только 3 из 10 женщин с риском трисомии 16 согласились на инвазивную диагностику, в одном случае она была подтверждена у плода, в другом – в плаценте. У одной из женщин с высоким риском по трисомии хромосомы 8 обнаружена частичная трисомия в плаценте. Моносомия 21 у плода не подтвердилась.

Заключение

Частоты выявленных редких аномалий сопоставимы с результатами подобных исследований [1, 5]. Наиболее частыми оказались трисомии по хромосомам 16

и 19. Клиническая значимость полногеномного НИПТ сохраняет свою дискуссионность. По нашим данным редкая патология подтверждается в 54,5% случаев, однако большинство пациентов с такими находками отказывается от дальнейшей диагностики, затрудняя анализ целесообразности детекции данных аномалий. Причиной ложноположительных результатов может быть ограниченный плацентой мозаицизм – фактор риска развития тяжелых осложнений беременности [3]. Наиболее неблагоприятные варианты – трисомии по хромосомам 2, 3, 7, 13, 15, 16 и 22 [4]. При выявлении этих редких аномалий рекомендованы ультразвуковой мониторинг роста плода и профилактика плацентарной недостаточности [4]. Трисомии по хромосомам 6, 7, 11, 14, 15 и 20 могут быть свидетельством однородительской дисомии у плода [3, 5]. При обнаружении таких трисомий необходимо проведение диагностических исследований с целью исключения однородительской дисомии. Также причинами могут быть частичные трисомии у плода, злокачественные новообразования матери, феномен исчезающего близнеца и другие факторы [1, 3-5]. Например, трисомия 19 крайне редко встречается даже в абортивном материале и относится к летальным, однако в литературе описаны больные с частичной трисомией 19q [6]. В то же время представлены доказательства ассоциации трисомии 19 с онкологическими заболеваниями крови [7]. Поэтому при детекции этой аномалии необходимо исклю-

Характеристика беременных с высоким и низким риском хромосомных аномалий по результатам неинвазивного тестирования (НИПТ)

Characteristics of pregnant women with high and low risk of chromosomal abnormalities according to the results of non-invasive testing (NIPT)

Параметр	Низкий риск по НИПТ	Высокий риск по НИПТ	
		Частые аномалии	Редкие аномалии
Средний возраст, лет	34,0±5,52	35,6±5,75	34,5±5,35
Срок беременности, недель	14,8±3,15	14,5±3,40	14,2±2,57
Количество женщин в зависимости от показаний к проведению НИПТ			
Высокий риск по результатам раннего пренатального скрининга ($\geq 1:100$)	741	80	14
Промежуточный риск по результатам раннего пренатального скрининга (1:101 – 1:1000)	1723	31	12
Риск по УЗИ второго триместра	313	6	0
Обеспокоенность состоянием плода	1622	30	9
Всего	4399	147	35

Примечание: для возраста и срока беременности использованы среднее значение и стандартное отклонение.

чить частичную трисомию 19 у плода и злокачественные заболевания у беременной. Предложенный нами вариант полногеномного НИПТ является надежным методом, позволяющим без инвазивного вмешательства определить хромосомные аномалии плода, в том числе редкие, которые нельзя оставлять без внимания.

Литература

1. Калашникова Е.А., Глотов А.С., Андреева Е.Н., Барков И.Ю., Бобровник Г.Ю., Дубровина Е.В., Жученко Л.А. Современное значение неинвазивного пренатального исследования внеклеточной ДНК плода в крови матери и перспективы его применения в системе массового скрининга беременных в Российской Федерации. Журнал акушерства и женских болезней. 2021;70(1):19–50. doi: <https://doi.org/10.17816/JOWD56573>
2. Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С., Глотов А.С., Баранов В.С., Гладких Н.А. Способ неинвазивного пренатального скрининга анеуплоидий плода. Номер патента: RU 02712175 C1. Дата публикации: 24.01.2020.
3. Mardy A.H., Norton M.E. Diagnostic testing after positive results on cell free DNA screening: CVS or Amnio? Prenat Diagn. 2021;41(10):1249–1254. doi: [10.1002/pd.6021](https://doi.org/10.1002/pd.6021).
4. Grati F.R., Bajaj K., Malvestiti F., Agrati C., Grimi B., Malvestiti B., Pompilii E., Maggi F., Gross S., Simoni G., Ferreira J. C. The type of feto-placental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. Prenat Diagn. 2015;35(10):994–998. doi: [10.1002/pd.4659](https://doi.org/10.1002/pd.4659).
5. Grati F.R., Ferreira J., Benn P., Izzi C., Verdi F., Vercellotti E., Dalpiaz C., D'Ajello P., Filippi E., Volpe N., Malvestiti F., Maggi F., Simoni G., Frusca T., Cirelli G., Bracalente G., Re A.L., Surico D., Ghi T., Prefumo F. Outcomes in pregnancies with a confined placental mosaicism and implications for prenatal screening using cell-free DNA. Genet Med. 2020;22(2):309–316. doi: [10.1038/s41436-019-0630-y](https://doi.org/10.1038/s41436-019-0630-y).
6. Carvalheira G., Oliveira M. M., Takeno S., Lima F. T., Meloni V. A., Melaragno M.I. 19q13.33→qter trisomy in a girl with intellectual impairment and seizures. Meta Gene. 2014 Oct 27;2:799–806. doi: [10.1016/j.mgene.2014.09.004](https://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.09.004).
7. Jung S.I., Cho H.S., Lee C.H., Kim K.D., Ha J.O., Kim M.K., Lee K.H., Hyun M.S. Two cases of trisomy 19 as a sole chromosomal abnormality in myeloid disorders. Korean J Lab Med. 2008 Jun;28(3):174–8. doi: [10.3343/kjlm.2008.28.3.174](https://doi.org/10.3343/kjlm.2008.28.3.174).

References

1. Kalashnikova E.A., Glotov A.S., Andreyeva E.N., Barkov I.Yu., Bobrovnik G.Yu., Dubrovina E.V., Zhuchenko L. A. Sovremennoye znachenie neinvazivnogo prenatal'nogo issledovaniya vnekletochnoy DNK ploda v krvi materi i perspektivy yego primeneniya v sisteme massovogo skringinga beremennykh v Rossiyskoy Federatsii [Current relevance of non-invasive prenatal study of cell-free fetal DNA in the mother's blood and prospects for its application in mass screening of pregnant women in the Russian Federation]. Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney [Journal of Obstetrics and Women's Diseases]. 2021;70(1):19–50. doi: <https://doi.org/10.17816/JOWD56573> (In Russ).
2. Kozylina P.Y., Vashukova E.S., Glotov A.S., Baranov V.S., Gladkikh N.A. Sposob neinvazivnogo prenatal'nogo skringinga aneuploidiy ploda. Nomer patenta: RU 02712175 C1. Data publikatsii: 24.01.2020 [Method for non-invasive prenatal screening of fetal aneuploidy. Patent number: RU 02712175 C1. Publication date: 24.01.2020]. (In Russ.)
3. Mardy A.H., Norton M.E. Diagnostic testing after positive results on cell free DNA screening: CVS or Amnio? Prenat Diagn. 2021;41(10):1249–1254. doi: [10.1002/pd.6021](https://doi.org/10.1002/pd.6021).
4. Grati F.R., Bajaj K., Malvestiti F., Agrati C., Grimi B., Malvestiti B., Pompilii E., Maggi F., Gross S., Simoni G., Ferreira J. C. The type of feto-placental aneuploidy detected by cfDNA testing may influence the choice of confirmatory diagnostic procedure. Prenat Diagn. 2015;35(10):994–998. doi: [10.1002/pd.4659](https://doi.org/10.1002/pd.4659).
5. Grati F.R., Ferreira J., Benn P., Izzi C., Verdi F., Vercellotti E., Dalpiaz C., D'Ajello P., Filippi E., Volpe N., Malvestiti F., Maggi F., Simoni G., Frusca T., Cirelli G., Bracalente G., Re A.L., Surico D., Ghi T., Prefumo F. Outcomes in pregnancies with a confined placental mosaicism and implications for prenatal screening using cell-free DNA. Genet Med. 2020;22(2):309–316. doi: [10.1038/s41436-019-0630-y](https://doi.org/10.1038/s41436-019-0630-y).
6. Carvalheira G., Oliveira M.M., Takeno S., Lima F.T., Meloni V. A., Melaragno M.I. 19q13.33→qter trisomy in a girl with intellectual impairment and seizures. Meta Gene. 2014 Oct 27;2:799–806. doi: [10.1016/j.mgene.2014.09.004](https://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.09.004).
7. Jung S.I., Cho H.S., Lee C.H., Kim K.D., Ha J.O., Kim M.K., Lee K.H., Hyun M.S. Two cases of trisomy 19 as a sole chromosomal abnormality in myeloid disorders. Korean J Lab Med. 2008 Jun;28(3):174–8. doi: [10.3343/kjlm.2008.28.3.174](https://doi.org/10.3343/kjlm.2008.28.3.174).