

Неинвазивные пренатальные тесты: европейские и американские рекомендации по применению в клинической практике

Баранова Е.Е.¹, Беленикин М.С.², Жученко Л.А.¹, Ижевская В.Л.³

¹ ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д.2/1, e-mail: medgen@rmapo.ru

² ФГБОУ ВПО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д.9

³ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», 115478, Москва, ул. Москворечье, д. 1

В обзоре проведен анализ рекомендаций Американского колледжа медицинской генетики и геномики (ACMG) и Европейского и Американского обществ генетики человека по неинвазивному пренатальному тестированию (НИПТ). Сделана попытка оценить НИПТ на хромосомную патологию плода с технологической точки зрения. Обсуждены перспективы расширения областей применения НИПТ в пренатальной диагностике микроделеционных синдромов и моногенной патологии и сопутствующие этические проблемы.

Ключевые слова: неинвазивный пренатальный тест, внеклеточная ДНК (вкДНК), рекомендации.

Работа выполнена при поддержке Российского гуманитарного научного фонда, проект 15-03-00822

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Non-invasive prenatal tests: european and american recommendations

Baranova E.E.¹, Belenikin M.S.², Zhuchenko L.A.¹, Izhevskaya V.L.³

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education

«Russian Medical Academy of Continuous Professional Education» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny, Russia

³ Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

The article reviews the clinical recommendations of American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and joint ESHG/ASHG position concerning non-invasive prenatal testing (NIPT). An attempt to evaluate the NIPT for the fetal chromosomal pathology from the technological point of view was made. The perspectives for using NIPT in prenatal diagnostics of hereditary diseases and ethical problems associated with NIPT are discussed.

Keywords: non-invasive prenatal test, cell-free DNA (cfDNA), ACMG recommendation.

Введение

В последние годы достигнуты значительные успехи в пренатальной диагностике врожденных пороков развития и хромосомных аномалий плода, чему способствовало внедрение в субъектах Российской Федерации унифицированной системы раннего комбинированного пренатального скрининга беременных, регламентированного Приказом Минздрава России от 12 ноября 2012 г. № 572н [1]. По данным Аудита-2016, чувствительность метода выявления трисомии хромосомы 21 в целом по России в 2015 году составила 83%. Между тем, в систему пренатальной диагностической помощи активно интегрируются современные неинвазивные скрининговые технологии обнаружения частых хромосомных анеуплоидий (ХА) у плода, что позволяет уменьшить численность группы риска и сократить количество инвазивных процедур [2].

В 1997 году была обнаружена свободно-циркулирующая внеклеточная ДНК (вкДНК) плода в крови матери [3], и спустя 10 лет начались работы по практическому

применению этого открытия для детекции хромосомных аномалий плода и созданию методов неинвазивного пренатального тестирования (НИПТ) [4, 5]. До тестирования хромосомной патологии были разработаны и внедрены в клиническую практику протоколы для определения во вкДНК плода, выделенной из крови беременной женщины, маркеров, передающихся от отца, например: Y хромосомы, RhD [6, 7].

Интенсивное развитие молекулярно-генетических методов предоставило инструменты для эффективного детектирования вкДНК плода. Одной из наиболее активно используемых технологий детекции вкДНК плода является высокопроизводительное секвенирование (Next-Generation Sequencing, NGS) [8]. Принцип работы большинства используемых в НИПТ алгоритмов заключается в сравнении количества фрагментов (полиморфизмов) каждой хромосомы каждого отдельного образца со средним значением. Полученные в результате секвенирования фрагменты с использованием специального программного обеспечения «раскладываются» по

хромосомам, подсчитывается количество фрагментов, соответствующих каждой хромосоме, и рассчитывается вероятность наличия у плода ХА по выбранной хромосоме [8].

Доля вкДНК плода возрастает со сроком гестации, но не более чем на 0,5% за неделю (в период 10—12,5 недели средняя скорость возрастания вкДНК плода составляет 0,44% в неделю, в период 12,5—20 недель — 0,08% в неделю, после 20 недели рост составляет до 0,8% в неделю), что является аргументом против массового переноса тестирования на более поздний гестационный срок [9]. НИПТ рекомендуется проводить с 8 эмбриональных или 10—11 акушерских недель беременности [10]. Данный тест применим и у повторно беременных женщин, поскольку вкДНК перестает определяться в крови матери примерно через сутки после родов. Однако в случае прерывания беременности повышенная доля вкДНК плода может сохраняться в течение нескольких дней [11]. Оптимальный срок для тестирования выбран с учетом технологических возможностей метода, клинических аспектов пренатальной диагностики, а также законодательно установленных сроков прерывания беременности по медицинским показаниям с учетом времени, необходимого для выполнения НИПТ и подтверждающей диагностики (например, амниоцентеза). При возможности провести подтверждающую диагностику в более короткие сроки (например, при исследовании амниотической жидкости методами QF-ПЦР или микроматричного анализа), сроки исследования могут быть изменены.

Основным источником вкДНК плода в кровотоке матери являются апоптотические клетки трофобласта, поэтому при проведении НИПТ корректнее говорить об анализе вкДНК плацентарной природы. В кровотоке матери доля вкДНК плода составляет около 10%, однако ее количество зависит от индивидуальных особенностей женщины, а также используемого метода выделения вкДНК. Порогом для успешного проведения НИПТ считается 4% [12]. При низкой доле вкДНК можно ошибочно определить трисомию как норму, поэтому одной из важных технологических задач при проведении НИПТ является оценка доли вкДНК плода в крови ма-

тери. Доля вкДНК плода зависит от многих факторов. Она понижена при онкологических заболеваниях у женщины (из-за высокой доли материнской вкДНК по причине некроза опухолевых клеток), при высоком индексе массы тела женщины [12], ассоциирована с неблагоприятными исходами беременности и ХА плода [13, 14]. Слишком большая фракция вкДНК плода может свидетельствовать о различных гестационных осложнениях (например, об эклампсии, начавшемся выкидыше) [15]. Однако установление точных пороговых значений границ нормы или патологии значений доли вкДНК, при которой можно было бы прогнозировать осложнения беременности, пока не представляется возможным.

Оценка прогностической ценности НИПТ при скрининге ХА

Из всех скрининговых методов выявления ХА у плода методы НИПТ имеют наибольшую чувствительность и специфичность. Чувствительность большинства методов заявляется разработчиками близкой (или даже равной) 100%, а специфичность — более 99% для некоторых ХА, хотя эти значения варьируют в разных публикациях [17, 18]. Диагностические характеристики скрининга ХА путем НИПТ приведены в таблице.

Однако, несмотря на очень высокие значения, 100% чувствительность и специфичность при использовании НИПТ принципиально недостижимы вследствие ряда биологических причин (например, мозаицизма в плаценте, у плода или у самой беременной женщины) [20].

Важное значение при оценке клинической значимости НИПТ имеет такой параметр, как прогностическая ценность положительного результата, ПЦПР (PPV, positive predictive value). ПЦПР, как вероятность того, что имеется искомое заболевание или состояние (в данном случае наличие анеуплоидии), представляет собой долю истинно положительных результатов среди всех положительных значений теста. Теоретически можно было бы ожидать, что ПЦПР будет ниже в группе беременных с низким риском, рассчитанным по возрасту матери, по сравнению с группой высокого риска. В ряде работ показано, что ПЦПР НИПТ невысок в группах беремен-

Таблица

Диагностические характеристики ДНК-скрининга анеуплоидий плода по крови матери для различных хромосом (приведены с 95% доверительным интервалом, рассчитанным по обобщенным данным) [цит. по 19]

Анализируемая хромосома	Проведено исследований	Чувствительность, %	Специфичность, %	PPV ¹ , %	NPV ² , %
21	77 526	99,17 (98,48-99,6)	99,94 (99,92-99,95)	96,07 (94,84-97,08)	99,99 (99,98-99,99)
18	77 526	97,80 (95,7-99,04)	99,94 (99,92-99,96)	88,97 (85,48-91,87)	99,99 (99,98-100)
13	77 526	95,92 (89,88-98,88)	99,94 (99,92-99,95)	65,73 (57,34-73,46)	99,99 (99,99-100)
X/Y	22 390	95,18 (88,12-98,67)	99,88 (99,83-99,92)	75,24 (65,86-83,14)	99,98 (99,95-100)

Примечание. ¹ PPV (прогностическая ценность положительного результата) — процент лиц с положительными результатами теста, у которых имеется искомое заболевание. ² NPV (прогностическая ценность отрицательного результата) — процент лиц с отрицательными результатами теста, у которых нет искомого заболевания.

ных с низким риском [21–23]. Между тем, в последнее время в нескольких крупных исследованиях была показана высокая ПЦПР как в группе с высоким, так и в группе с низким риском. При анализе результатов тестирования 17 885 пациенток (среди которых было 356 с высоким риском), ПЦПР в группах с высоким (женщины >35 лет) и низким (женщины <35 лет) риском составила около 83% для всех анализирувавшихся в исследовании ХА и 91% для трисомии 21 [24], причем ПЦПР для группы женщин старше 35 лет был аналогичен ПЦПР для группы женщин младше 35 лет. В другом исследовании, проведенном в Китае, на 146958 образцов, включавших 1578 случаев анеуплоидий, ПЦПР для трисомии 21 составила 92% (720 истинно положительных случаев из 781 положительных результатов НИПТ), 77% для трисомии 18 (167 из 218), и только 33% для трисомии 13 (22 из 67) [25]. Таким образом, ПЦПР при НИПТ для хромосом 21 и 18 имеет достаточно высокие значения в группах беременных как с высоким, так и с низким риском, определяемым по возрасту матери, что делает принцип формирования показаний для НИПТ на основании рассчитанного «возрастного» риска ХА нерациональным.

Благодаря высокой чувствительности и специфичности НИПТ является одним из лучших методов скрининга на трисомии 21 и 18 у плода и позволяет существенно повысить эффективность их выявления, одновременно уменьшая число инвазивных вмешательств по сравнению с общепринятым скринингом. Методы НИПТ могут быть эффективны как в группе беременных женщин высокого, так и в группе низкого риска. Однако для того, чтобы внедрение НИПТ в массовые программы раннего пренатального скрининга явилось экономически приемлемым, в последние годы ведутся разработки различных вариантов когортного пренатального скрининга, сочетающих традиционный скрининг первого триместра и НИПТ в группе среднего риска по Т21, сформированной по результатам тестирования на предыдущем этапе [26, 27].

Важное клиническое значение имеет выбор дополнительных хромосом или участков хромосом для включения в панель НИПТ. Технологически НИПТ позволяет выявлять любую анеуплоидию, однако этот выбор должен быть обусловлен рядом критериев: частотой встречаемости, трудностями выявления при общепринятом (рутинном) скрининге, в том числе при ультразвуковом исследовании плода, патогенностью данной ХА и, в немаловажной степени, экономической целесообразностью. В связи с этим обсуждается целесообразность использования НИПТ для выявления анеуплоидий половых хромосом в основном из-за «мягкого» фенотипа при таких нарушениях [28]. Кроме того, есть риск получения ложноположительных результатов при выявлении синдрома 45X вследствие возможного мозаицизма по хромосоме X у беременной женщины [29]. Из-за этих обстоятельств обсуждаются этические проб-

лемы, связанные с прерыванием беременности плодом с анеуплоидией по половым хромосомам и «выбором пола», как единственным мотивом для проведения тестирования [30].

Перспективы использования НИПТ для выявления микроделеций/микродупликаций

Выявление ультразвуковых маркеров патологии плода является предиктором неблагоприятного исхода беременности и при нормальном кариотипе плода [31]. Расчеты показывают, что от 20 до 30% врожденных пороков развития связаны микродупликациями и микроделециями, то есть вариациями числа копий (copy number variation, CNV) участков хромосом, которые не выявляются при рутинном цитогенетическом исследовании ввиду небольшого размера (от 1 т.п.н.) [32]. В настоящее время хромосомные аномалии такого размера выявляются методом сравнительной геномной гибридизации на чипах (aCGH), позволяющим существенно повысить разрешение кариотипирования [33]. aCGH проводят на материале, получаемом при инвазивной диагностике (биопсия ворсин хориона, амниоцентез, кордоцентез). Делаются попытки выявления клинически значимых CNV при проведении НИПТ [34]. Например, в исследовании, опубликованном Jensen и соавт. [35] продемонстрировано обнаружение делеции участка 22q11.2 размером 3 млн п.н., которая вызывает синдром Ди Джоржи (DiGeorge, MIM:188400) методом высокопроизводительного секвенирования вкДНК плода.

Теоретически при НИПТ могут выявляться CNV любого размера, но для его использования с этой целью в клинической практике требуется решение большого числа технических задач, например, обеспечение достаточного качества прочтения анализируемых участков для получения достоверных результатов [36, 37]. Немаловажную роль играет и экономическая целесообразность пренатального выявления патогенных CNV методами НИПТ. В настоящий момент НИПТ не позволяет рутинно проводить полногеномные исследования вкДНК плода. Основным недостатком НИПТ для обнаружения CNV на сегодня является значительное количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов, поэтому при необходимости полногеномного анализа CNV плода рекомендуется молекулярное кариотипирование биоматериала, полученного путём амниоцентеза или биопсии ворсин хориона [16].

Поскольку доля материнской вкДНК существенно превышает долю вкДНК плода, исследование вкДНК, помимо поиска анеуплоидии плода, также может быть применено для выявления родительских (материнских) CNV, некоторые из которых могут являться клинически значимыми [38]. Однако в этом случае возникает этическая проблема, связанная с информированием пациентки о выявленных у нее клинически значимых CNV, исследование которых она не запрашивала.

Перспективы использования НИПТ для пренатальной диагностики моногенной патологии

В качестве перспективного направления следует упомянуть использование НИПТ для пренатальной диагностики моногенной патологии. Однако, до внедрения этих тестов в клиническую практику необходимо преодолеть целый ряд технологических проблем. Так как вкДНК плода составляет небольшую долю от всей циркулирующей в плазме беременной женщины вкДНК, затруднено точное выявление материнских аллелей унаследованных плодом [39]. По этой причине основной акцент делается на обнаружение у плода отцовских аллелей, и при обнаружении у плода унаследованных от отца мутантных аллелей возможна неинвазивная пренатальная диагностика аутосомно-доминантных заболеваний [40–44], тогда как отсутствие таких аллелей у плода может быть использовано для исключения у плода аутосомно-рецессивных заболеваний [45, 46]. Эти стратегии были успешно применены для пренатальной диагностики таких заболеваний, как ахондроплазия, миотоническая дистрофия, болезнь Гентингтона и бета-талассемия [40–46]. Тем не менее, остаются сложности в ситуациях, когда плод мог унаследовать аутосомно-доминантное заболевание от матери, или когда мать и отец являлись носителями одинаковой мутации, приводящей к аутосомно-рецессивному заболеванию [46]. В настоящее время разрабатываются методы, позволяющие анализировать наличие у плода разных сочетаний точковых мутаций при аутосомно-рецессивных заболеваниях и гомозиготность плода [47].

Таким образом, в дальнейшем НИПТ может стать распространенным инструментом пренатальной диагностики, в том числе для эффективного пренатального тестирования на ХА в группе среднего риска, сформированной по результатам рутинного пренатального скрининга, а при достижении необходимых чувствительности и специфичности, оно позволит диагностировать неинвазивно не только хромосомные и микрохромосомные аномалии плода, но и ряд моногенных заболеваний.

Этические проблемы при клиническом использовании НИПТ

В связи с все более частым применением НИПТ в клинической практике и его все большей доступностью возникает ряд проблем, которые обсуждаются профессиональным сообществом. Так, высокая эффективность использования НИПТ в группах низкого риска по ХА у плода, его безопасность и доступность может повлечь за собой отношение к подобному тестированию, как к «рутине», что в свою очередь может привести к недооценке значимости медико-генетического консультирования при назначении тестирования и, особенно, после получения его результатов. После проведенных дискуссий эксперты, представляющие Европейское и Аме-

риканское общества генетики человека (ESHG и ASHG) подчеркивают необходимость назначения НИПТ только специалистом при условии обязательного консультирования до тестирования и после получения результата [48]. При этом следует учитывать, что чем шире предлагается тест и чем больше разнообразных вариантов результатов тестирования можно получить, тем сложнее принять решение потенциальным родителям и тем профессиональнее должно быть медико-генетическое консультирование. Поскольку ПЦПР для части тестируемых заболеваний может быть довольно низкой, подтверждение результатов НИПТ путём инвазивной диагностики может сопровождаться неоправданным риском прерывания беременности. В этой связи особое значение приобретают вопросы полноты, точности и непредвзятости информации, которую пациенты получают от врача. Ситуацию усугубляет коммерциализация НИПТ: многие тесты разработаны и применяются в коммерческих структурах и могут предоставляться потребителю без претестового консультирования. В этой связи возникает вопрос, насколько можно быть уверенным, что женщины принимают добровольное и информированное решение о тестировании? Некоторые исследования показывают, что в странах, в которых пренатальный скрининг обязателен, женщины реже принимают обдуманное решение [49]. Часто на женщин оказывают давление органы здравоохранения, врачи, частные медицинские компании, страховые компании, средства массовой информации, общественное мнение. Свободу репродуктивного выбора ограничивает отсутствие достаточной социальной поддержки семей с больными детьми и доступных медицинских услуг для ребенка-инвалида. Социальное давление на семью ставит ее перед необходимостью «добровольного» принятия эвгенического решения. Коммерциализация тестирования ставит под вопрос соблюдение принципов справедливости и доступности. При этом новые генетические технологии создают впечатление, что селективный аборт становится чем-то «нормальным и банальным», что может изменить отношение к детям и инвалидам.

Развитие НИПТ поднимает ряд других важных моральных и этических проблем, приведем некоторые из них. Не приведет ли возрастающая доступность НИПТ к тому, что почти при каждой беременности, в тех случаях, когда вопросы финансирования не имеют значения, будут применяться расширенные варианты НИПТ и определяться хромосомные перестройки с неясной клинической значимостью? Следует ли в этой связи ограничить спектр тестируемой патологии только тяжелыми заболеваниями, которые являются основанием для прерывания беременности, или, наоборот, заболеваниями, лечение которых возможно еще во внутриутробном периоде или сразу после рождения? Каким должно быть информированное согласие женщины и ее партнера? Сообщать или не сообщать им о найденных изменениях с неопределенной клинической значимо-

стью? Не будет ли нарушено право ребенка знать или не знать генетическую информацию о себе, и не повлечет ли такое обследование его дискриминацию и стигматизацию? Обсуждаются также вопросы, требующие дальнейших дискуссий, в том числе вопросы справедливости распределения общественных ресурсов, директивности или недирективности и обеспечения свободного информированного репродуктивного выбора для супружеских пар [48, 50, 51].

Специфической этической проблемой, связанной с НИПТ, является определение пола плода по желанию родителей при отсутствии медицинских показаний, следствием которого может быть прерывание беременности плодом «нежелательного» пола. Многими экспертами уже высказываются опасения, что благодаря использованию неинвазивных методов возможно увеличение использования пренатальной диагностики для селекции по полу.

Рекомендации

American College of Medical Genetics and Genomics

Суммируя результаты научных и клинических исследований, Американский колледж медицинской генетики и геномики (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) разработал обновленное руководство по использованию НИПТ [16]. Основные положения этого руководства посвящены необходимости медико-генетического консультирования пациентов и информировании их о возможностях и ограничениях теста. ACMG рекомендует информировать пациентов до проведения тестирования:

- о различных доступных скрининговых тестах для выявления ХА у плода для принятия ими обдуманного решения по выбору метода пренатального исследования, и предоставить им право выбора скрининговой процедуры. Необходимо также информировать пациентов о возможности проведения диагностического тестирования (амниоцентез или биопсия ворсин хориона) для выявления ХА и клинически значимых CNV при положительных результатах скрининга.

- о наибольшей чувствительности НИПТ на синдромы Дауна, Патау и Эдвардса по сравнению с другими видами пренатального скрининга. При положительном результате скрининга с использованием НИПТ необходимо предлагать беременным женщинам инвазивное диагностическое тестирование. Однако ACMG не рекомендует в настоящее время использовать НИПТ для скрининга анеуплоидий других аутосом (кроме 13, 18 и 21);

- о возможности скрининга анеуплоидий по половым хромосомам, однако при отсутствии клинических показаний для такого рода исследований рекомендуется избегать его проведения из-за опасений, что единственной целью такого тестирования является идентификация биологического пола плода. Необходимо информировать пациентов о значительной доле ложноположитель-

ных результатов тестирования анеуплоидий по половым хромосомам. При положительном результате скрининга на анеуплоидии половых хромосом следует направлять пациентку на диагностическое инвазивное тестирование;

- о существовании расширенных вариантов НИПТ, дополнительно позволяющих проводить скрининг клинически значимых CNV. В процессе претестового консультирования рекомендуется обсуждать с пациентами необходимую им степень полноты генетической информации о плоде и информировать их о более высокой вероятности ложноположительных и ложноотрицательных результатов при тестировании CNV по сравнению с НИПТ для скрининга анеуплоидий хромосом 13, 18, и 21. При обнаружении патогенных CNV при НИПТ необходимо предлагать пациентам инвазивное диагностическое тестирование. Вместе с тем, ACMG не рекомендует использование НИПТ для полногеномного анализа CNV. При необходимости такого анализа рекомендуется исследовать ворсины хориона или проводить амниоцентез с последующим молекулярным кариотипированием.

Особое внимание в документе уделено факторам, которые могут повлиять на точность анализа. Поскольку доля фетальной вкДНК является ключевой для успешного проведения НИПТ, то при ее низкой доле (менее 4%) рекомендуется предлагать пациентке инвазивное диагностическое тестирование. Повторный забор материала в этом случае мало информативен. У женщин с высокой массой тела вероятность получения низкой доли фетальной вкДНК существенно возрастает, и таким женщинам стоит рекомендовать другой метод пренатального скрининга. При многоплодной беременности и/или использования донорских ооцитов необходимо предвзятое обсуждение адекватности применения используемого варианта НИПТ в каждом конкретном случае направляющим женщину на исследование врачом с представителями лаборатории, в которой будет проведено тестирование.

ACMG рекомендует сообщать пациентам о возможности обнаружения геномного дисбаланса с неопределенной клинической значимостью. При его выявлении рекомендуется направлять пациентку к врачу-генетику для дальнейших консультаций. При наличии в анамнезе пациентки трансплантации костного мозга или органов от донора мужского пола или донора с неизвестным полом рекомендуется предлагать отличный от НИПТ метод пренатального скрининга. Рекомендуется также информировать пациентку о том, что, если менее чем за 4 недели до НИПТ ей проводилось переливание крови, возможно недостоверное определение пола плода.

В рекомендациях подчеркивается, что лаборатории должны предоставлять информацию пациентке и направившему ее на обследование врачу в объеме, достаточном для интерпретации результатов и принятия решений. В отчете лаборатории необходимо указывать долю феталь-

ной вкДНК, доступной для анализа. Если расчет доли вкДНК при проведении НИПТ провести не удалось, необходимо четко указать возможные причины этого. Невозможность провести НИПТ может быть обусловлена также наличием протяженных областей гомозиготности (из-за однородительской дисомии или кровнородственного брака). В таких случаях после консультации специалиста пациентка может быть направлена на молекулярное кариотипирование или другое исследование.

При положительных результатах скрининга на ХА в лабораторном заключении рекомендуется указывать ПЦПР теста. Если точный расчет ПЦПР невозможен, рекомендуется сделать оценку на основании популяционных данных о распространенности конкретной ХА.

При скрининге на анеуплоидии половых хромосом или CNV особенно важно включать в отчет лаборатории показатели, позволяющие делать выводы о прогностической ценности положительных и отрицательных результатов. Эти значения должны помочь пациентам и консультирующим их генетикам делать выводы, принимать решения и обеспечивать правильную интерпретацию полученных результатов. При отсутствии оценок прогностической ценности положительных и отрицательных результатов проведение скрининга на анеуплоидии половых хромосом и CNV методом НИПТ не рекомендуется.

Совместные рекомендации Европейского и Американского обществ генетики человека при применении НИПТ для пренатального скрининга

Близкие к рекомендациям ACMG по многим вопросам положения отражены в статье [48], в которой изложена совместная позиция Европейского и Американского обществ генетики человека по применению НИПТ для пренатального скрининга и даются рекомендации по консультированию пациентов. Авторы отмечают, что НИПТ имеет самую высокую точность при тестировании на «стандартно» выбираемые для скрининга анеуплоидии, однако положительный результат НИПТ не следует рассматривать как окончательный диагноз. Если предполагается прерывать беременность, то результаты НИПТ стоит перепроверять инвазивным пренатальным тестированием. Большое внимание авторы уделяет различным сценариям использования НИПТ в программах пренатального скрининга, этическим проблемам, которые в связи с этим могут возникать, и рекомендациям, которые позволяют их минимизировать. Авторы подчеркивают, что использование НИПТ не должно приводить к снижению стандартов медико-генетического консультирования, причем особое внимание следует уделять женщинам из групп, которые менее грамотны в отношении здоровья.

Эксперты пришли к заключению, что при использовании НИПТ исключительно для скрининга трисомий хромосом 21, 18 и 13 необходимо избегать получения дополнительной информации о делециях или дупликациях при

отсутствии запроса со стороны пациента. Однако пациенты должны быть осведомлены о возможности получения такой информации. Расширение НИПТ для скрининга аномалий половых хромосом, а также микроделций не только увеличивает проблемы, связанные с информированием и консультированием пациентов, но также работает против основного аргумента в пользу НИПТ по сравнению с традиционными подходами к пренатальному скринингу, увеличивая количество инвазивных процедур, и в настоящее время не рекомендуется.

В странах, где пренатальный скрининг аномалий плода предлагается в качестве программы общественного здравоохранения, органы здравоохранения должны играть активную роль в обеспечении ответственного введения НИПТ в качестве второго или первого уровня скрининга на синдром Дауна и другие наиболее часто выбираемые для скрининга анеуплоидии. Это влечет за собой предоставление беременным необходимой информации, обучение персонала, систематическую оценку качества и эффективности всех аспектов программы скрининга, а также обеспечение равной доступности тестирования для всех беременных женщин. При этом различные сценарии скрининга с использованием НИПТ для наиболее часто выбираемых для скрининга аутосомных анеуплоидий должны оцениваться не только с точки зрения доступности тех или иных технологий и экономических параметров, но и учитывать цели и ценности, приемлемые для общества.

Кроме того, следует учитывать, что потребности самих беременных женщин и медицинских специалистов в отношении пренатального тестирования могут не совпадать. Для того, чтобы оценить предпочтения беременных женщин и медицинских специалистов относительно параметров пренатального скрининга для выявления трисомии 21 был проведен опрос в девяти странах — Канаде, Дании, Исландии, Израиле, Италии, Нидерландах, Португалии, Сингапуре и Великобритании. В исследование вошло 2666 беременных женщин и 1245 специалистов здравоохранения [52]. При этом оценивались такие параметры, как: точность, время выполнения теста, риск потери беременности и тип получаемой информации. Различия в предпочтениях между мнениями беременных женщин и специалистов здравоохранения были обнаружены как внутри одной страны, так и между странами. Авторы исследования сделали вывод, что для каждой страны необходимы свои руководства по пренатальному скринингу, разработанные с учетом социального контекста. В ходе исследования также было отмечено, что женщины в целом уделяли больше внимания безопасности тестирования и получению как можно более полной информации о плоде, тогда как специалисты склонялись в пользу точности и ранних сроков тестирования. Для успешного взаимодействия врачей и пациентов, при использовании НИПТ в программах пренатального скрининга необходимо повышение информированности пациентов.

Заключение

С учетом того, что технологии НИПТ постоянно улучшаются, возникает острая потребность в профессиональных дискуссиях о масштабах неинвазивного пренатального скрининга аномалий плода. Существуют этические причины ограничить пренатальный скрининг серьезными врожденными заболеваниями или заболеваниями, проявляющимися в детском возрасте. Потенциальная возможность использования пренатального скрининга для фетальной терапии, а не только для автономного репродуктивного выбора семьи, ставит вопрос о связи между репродуктивной автономией родителей и родительской ответственностью и требует углубленного этического анализа.

В заключение отметим, что в настоящее время НИПТ широко применяется для пренатального скрининга на анеуплоидии хромосом 21, 18 и 13 с последующей инвазивной подтверждающей диагностикой в большинстве стран. Обсуждается вопрос внедрения НИПТ в качестве рутинного скрининга беременных женщин [53]. После профессиональных дискуссий, были предложены рекомендации для его применения экспертами Европейского и Американского обществ генетики человека и ACMG, призванные улучшить качество и повысить эффективность применения НИПТ и минимизировать некоторые этические проблемы, связанные с его применением.

В нашей стране НИПТ активно предлагается преимущественно в сфере коммерческого здравоохранения, однако до сих пор недостаточно регламентировано. Действующее законодательство, регламентирующее медицинскую деятельность, затрудняет его использование в клинической практике. На сегодня имеется единственный документ — отечественные клинические рекомендации по неинвазивному тестированию анеуплоидий 21, 18, 13, в которых, к сожалению, нет рекомендаций по медико-генетическому консультированию беременных женщин при использовании данного метода [54]. Не регламентировано использование НИПТ для определения пола плода, что при имеющихся законодательных пробелах по этому вопросу может вести к злоупотреблению тестом для отбора плодов определенного пола без медицинских показаний.

Несмотря на возрастание технологических возможностей, расширение возможностей НИПТ и клинический интерес к тесту, стоит отметить отсутствие отечественных работ по оценке этических аспектов применения НИПТ и отношению к данному тесту акушеров-гинекологов, генетиков и беременных женщин. Накопленный в других странах опыт по регламентации НИПТ для наиболее эффективного его применения в программах пренатального скрининга может быть полезен для подготовки отечественных документов.

Список литературы

1. Жученко ЛА, Андреева ЕН, Калашникова ЕА. Основные итоги и современное состояние программы комбинированного пренатального скрининга I триместра беременности в Российской Федерации. Журнал акушерства и женских болезней. 2013. LXII(3):20-25.
2. Курцер МА, Гнетская ВА. Диагностика хромосомных анеуплоидий с помощью неинвазивного пренатального теста. Акушерство и гинекология. 2015. 8:65-69.
3. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. Lancet. 1997. 350(9076):485-7.
4. Benachi A and Costa JM. Non-invasive prenatal diagnosis of fetal aneuploidies. Lancet. 2007. 369(9560):440-2.
5. Dhallan R, Guo X, Emche S et al. A non-invasive test for prenatal diagnosis based on fetal DNA present in maternal blood: a preliminary study. Lancet. 2007. 369(9560):474-81.
6. Lo YM. and Chiu RW. Prenatal diagnosis: progress through plasma nucleic acids. Nat Rev Genet. 2007. 8(1):71-7.
7. Finning KM, Martin PG, Soothill PW, Avent ND. Prediction of fetal D status from maternal plasma: introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. Transfusion. 2002. 42(8):1079-85.
8. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, et al. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. Proc Natl Acad Sci USA. 2008. 105(42):16266-71.
9. Kinnings SL, Geis JA, Almasri E, et al. Factors affecting levels of circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma and their implications for noninvasive prenatal testing. Prenat Diagn. 2015. 35(8):816-22.
10. Gregg AR, Gross SJ, Best RG, et al. ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy. Genet Med. 2013. 15(5):395-8.
11. Wataganara T, Chen AY, LeShane ES, et al. Cell-free fetal DNA levels in maternal plasma after elective first-trimester termination of pregnancy. Fertil Steril. 2004. 81(3):638-44.
12. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, et al. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. Ultrasound Obstet Gynecol. 2012. 41(1):26-32.
13. Krishna I, Badell M, Loucks TL, et al. Adverse perinatal outcomes are more frequent in pregnancies with a low fetal fraction result on noninvasive prenatal testing. Prenat Diagn. 2016. 36(3):210-5.
14. Thurik FF, Lamain-de Ruiter M, Javadi A, et al. Absolute first trimester cell-free DNA levels and their associations with adverse pregnancy outcomes. Prenat Diagn. 2016. 36(12):1104-11.
15. Lim JH, Kim MH, Han YJ, et al. Cell-free fetal DNA and cell-free total DNA levels in spontaneous abortion with fetal chromosomal aneuploidy. PLoS One. 2013. 8(2):e56787.
16. Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. Genet Med. 2016. 18(10):1056-65.
17. Smith M, Lewis KM, Holmes A, Visootsak J. A Case of False Negative NIPT for Down Syndrome-Lessons Learned. Case Rep Genet. 2014. 2014:823504.
18. Ashoor G, Syngelaki A, Wang E, et al. Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell-free DNA analysis method. Ultrasound Obstet Gynecol. 2013. 41(1):21-5.
19. Наследственные болезни: национальное руководство : краткое издание / под ред. Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева. — М: ГЭОТАР-Медиа, 2017. — 464 с

20. Pan Q, Sun B, Huang X, et al. A prenatal case with discrepant findings between non-invasive prenatal testing and fetal genetic testings. *Mol Cytogenet.* 2014. 7:48.
21. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med.* 370(9):799-808.
22. Mennuti MT, Cherry AM, Morrisette JJ, Dugoff L. Is it time to sound an alarm about false-positive cell-free DNA testing for fetal aneuploidy? *Am J Obstet Gynecol.* 2013. 209(5):415-9.
23. Wang JC, Sahoo T, Schonberg S, et al. Discordant noninvasive prenatal testing and cytogenetic results: a study of 109 consecutive cases. *Genet Med.* 2015. 17(3):234-6.
24. Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, et al. Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J Obstet Gynecol.* 2014. 211(5):527.e1-527.e17.
25. Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Noninvasive Prenatal Testing for Trisomy 21, 18 and 13 — Clinical Experience from 146,958 Pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 May;45(5):530-8.
26. Colosi E, D'Ambrosio V, and Periti E. First trimester contingent screening for trisomies 21,18,13: is this model cost efficient and feasible in public health system? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Jan 4:1-6.
27. Gil MM, Revello R, Poon LC, et al. Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Jan; 47(1):45-52.
28. Sonck JD. and Cuckle HS. What will be the role of first-trimester ultrasound if cell-free DNA screening for aneuploidy becomes routine? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014. 44(6):621-30.
29. Wang L, Meng Q, Tang X, et al. Maternal mosaicism of sex chromosome causes discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2015. 54(5):527-31.
30. Vanstone M, King C, de Vrijer B, Nisker J. Non-invasive prenatal testing: ethics and policy considerations. *J Obstet Gynaecol Can.* 2014. 36(6):515-26.
31. Медведев МВ, Алтынник НА. Основы ультразвукового скрининга в 11-14 недель беременности: практическое пособие для врачей. 2009. 2-е изд., доп. — М.: Реал Тайм: 96 с.
32. Cheung SW, Shaw CA, Yu W, et al. Development and validation of a CGH microarray for clinical cytogenetic diagnosis. *Genet Med.* 2005. 7(6):422-32.
33. Munne S. Preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy and translocations using array comparative genomic hybridization. *Curr Genomics.* 2012. 13(6):463-70.
34. Liu H, Gao Y, Hu Z, et al. Performance Evaluation of NIPT in Detection of Chromosomal Copy Number Variants Using Low-Coverage Whole-Genome Sequencing of Plasma DNA. *PLoS One.* 2016. 11(7):e0159233.
35. Jensen TJ, Dzaku Z, Decu C, et al. Detection of microdeletion 22q11.2 in a fetus by next-generation sequencing of maternal plasma. *Clin Chem.* 2012. 58(7):1148-51.
36. Srinivasan A, Bianchi DW, Huang H, et al. Noninvasive detection of fetal subchromosome abnormalities via deep sequencing of maternal plasma. *Am J Hum Genet.* 2013 Feb 7;92(2):167-76.
37. Yu SC, Jiang P, Choy KW, et al., Noninvasive prenatal molecular karyotyping from maternal plasma. *PLoS One.* 2013 Apr 17;8(4):e60968.
38. Brison N, Van Den Bogaert K, Dehaspe L, et al. Accuracy and clinical value of maternal incidental findings during noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidies. *Genet Med.* 2017 Mar;19(3):306-313.
39. Lun FM, Chiu RW, Chan KC, et al. Microfluidics digital PCR reveals a higher than expected fraction of fetal DNA in maternal plasma. *Clin Chem.* 2008. 54(10):1664-72.
40. Amicucci P, Gennarelli M, Novelli G, Dallapiccola B. Prenatal diagnosis of myotonic dystrophy using fetal DNA obtained from maternal plasma. *Clin Chem.* 2000. 46(2):301-2.
41. Saito H, Sekizawa A, Morimoto T. et al. Prenatal DNA diagnosis of a single-gene disorder from maternal plasma. *Lancet.* 2000. 356(9236):1170.
42. Gonzalez-Gonzalez MC, Trujillo MJ, Rodriguez de Alba M, et al. Huntington disease-affected fetus diagnosed from maternal plasma using QF-PCR. *Prenat Diagn.* 2003. 23(3):232-4.
43. van den Oever JM, Bijlsma EK, Feenstra I, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of Huntington disease: detection of the paternally inherited expanded CAG repeat in maternal plasma. *Prenat Diagn.* 2015. 35(10):945-9.
44. Bustamante-Aragones A, Trujillo-Tiebas MJ, Gallego-Merlo J, et al., Prenatal diagnosis of Huntington disease in maternal plasma: direct and indirect study. *Eur J Neurol.* 2008. 15(12):1338-44.
45. Chiu RW, Lau TK, Leung TN, et al. Prenatal exclusion of beta thalassaemia major by examination of maternal plasma. *Lancet.* 2002. 360(9338):998-1000.
46. Ding C., Chiu RW, Lau TK, et al. MS analysis of single-nucleotide differences in circulating nucleic acids: Application to noninvasive prenatal diagnosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004. 101(29):10762-7.
47. Chang MY, Kim AR, Kim MY, et al. Development of novel noninvasive prenatal testing protocol for whole autosomal recessive disease using picodroplet digital. *Sci Rep.* 2016 Dec 7;6:37153.
48. Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2015. 23(11):1438-50.
49. Van den Berg M, Timmermans DRM, ten Kate LP et al. Are pregnant women making informed choices about prenatal screening? *Genet. Med.* 2005. V. 7. P.332-337
50. Stapleton G. Qualifying choice: ethical reflection on the scope of prenatal screening. *Med Health Care Philos.* 2016 Sep 8.
51. De Jong A, Maya I, and van Lith JM. Prenatal screening: current practice, new developments, ethical challenges. *Bioethics.* 2015. 29(1):1-8.
52. Hill M, Johnson JA, Langlois S, et al. Preferences for prenatal tests for Down syndrome: an international comparison of the views of pregnant women and health professionals. *Eur J Hum Genet.* 2016. 24(7):968-75.
53. Neyt M, Hulstaert F, and Gyselaers W. Introducing the non-invasive prenatal test for trisomy 21 in Belgium: a cost-consequences analysis. *BMJ Open.* 2014. 4(11):e005922.
54. Сухих ГТ, Трофимов ДЮ, Барков ИЮ и др. Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования (Клинические рекомендации). *Акушерство и гинекология,* 2016. №6.