

DOI: <https://doi.org/10.51922/1818-426X.2022.4.25>

А. Н. Чуканов, С. А. Костюк, И. В. Тихоненко,
Т. В. Руденкова, О. С. Полуян

ВОЗМОЖНОСТИ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Многие генетические нарушения поддаются обнаружению в пренатальный период, и возможности их выявления значительно возросли по мере того, как методы молекулярно-генетического тестирования совершенствовались и внедрялись в клиническую практику. Показания к пренатальному генетическому тестированию широко варьируются, и включают аномалии, обнаруженные при ультразвуковом исследовании или скрининге анеуплоидии, наличие генетических заболеваний в семейном анамнезе родителей, преклонный возраст матери и/или отца. Интерпретация генетических вариантов, выявленных в пренатальном периоде, представляет собой уникальную проблему ввиду необходимости принимать важные решения относительно продолжения беременности и перинатального ведения. В этом обзоре проанализированы методы, которые используются для генетического тестирования, включая преимплантационное генетическое тестирование эмбрионов, тестирование бесклеточной ДНК, а также диагностические процедуры, такие как забор ворсин хориона, амниоцентез или чрескожный забор пуповинной крови, с помощью которых получают образцы для проведения широкого спектра генетических тестов. Проведен анализ достоинств и недостатков различных методов генетической диагностики плода, а также стратегии их оптимального использования для оказания перинатальной помощи.

Ключевые слова: генетические нарушения, показания.

A. N. Chukanov, S. A. Kostyuk, I. V. Tihonenko,
T. V. Rudenkova, O. S. Poluyan

POSSIBILITIES OF MOLECULAR GENETIC ANALYSIS FOR PRENATAL DIAGNOSIS

Many genetic disorders are found in the prenatal period. The ability to detect them has increased significantly as molecular genetic testing methods have been improved and introduced into clinical practice. Indications for prenatal genetic testing vary widely, and include abnormalities found on ultrasound or aneuploidy screening, family anamnesis of genetic disorders in the parents, advanced age of the mother and/or father. Interpretation of genetic variants identified in the prenatal period presents a unique challenge due to the need to make important decisions regarding pregnancy continuation and perinatal management. This review analyzes the methods that are used for genetic testing, including preimplantation genetic testing of embryos, cell-free DNA testing, as well as diagnostic procedures such as chorionic villus sampling, amniocentesis or percutaneous umbilical cord blood sampling, which provide samples for a wide range of genetic tests. The analysis of the advantages and disadvantages of various fetus genetic diagnostic methods, as well as strategies for their optimal use during perinatal care, was carried out.

Key words: genetic disorders, testimony.

Недавние достижения в области генетических и геномных технологий позволили идентифицировать множество новых комбинаций

генов, связанных с развитием тех или иных заболеваний, и провести молекулярную диагностику различной патологии у тысяч людей, страдающих

редкими генетическими нарушениями [3, 9, 11, 35, 42, 63]. Секвенирование экзома (ES) и секвенирование генома (GS) расширили горизонты для диагностики генетические заболевания не только у детей и молодых людей [64], но также были эффективны для тестирования новорожденных и младенцев [49, 53, 62], у которых распознавание генетического синдрома только по клиническим проявлениям может быть сложным. Безусловно более сложной задачей является распознавание генетического синдрома у плода, поскольку физическая оценка ограничивается методами визуализации, такими как УЗИ или, в некоторых центрах, МРТ плода. До недавнего времени пренатальный скрининг на генетические нарушения ограничивался данными УЗИ с добавлением сывороточных маркеров, таких как альфа-фетопротеин (АФП) и хорионический гонадотропин человека (ХГЧ). Развитие технологии анализа внеклеточной ДНК (вкДНК) из образца материнской крови привело к повышению диагностической эффективности в обнаружении распространенных синдромов анеуплоидии, таких как синдрома Дауна, синдрома Эдварда и синдрома Патау, при которых лишняя копия хромосомы 21, 18 или 13 соответственно обнаруживается. Использование вкДНК активно внедряется в практику пренатальную диагностику и в настоящее время применяется тестирование на синдромы микроделеции, такие как синдром делеции 22q11, ограниченное тестирование доступно на моногенные нарушения [65].

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА, Chromosomal microarray analysis (CMA)), с помощью которого можно обнаружить субмикроскопические изменения количества копий, в настоящее время рекомендуется в качестве теста первого уровня при оценке плода с одной или несколькими врожденными аномалиями [16, 38, 47, 61]. Практические подходы при оценке после мертворождения претерпели изменения; несмотря на то, что основная этиология мертворождения может быть или не быть генетической, CMA и ES/GS используются с высокой диагностической эффективностью [16, 38, 47, 51].

Выявление генетического нарушения у плода может привести к жизненно важным вмешательствам, начатым либо внутриутробно, либо в раннем постнатальном периоде [23, 27, 28]. Важно определить какие плоды не подвержены риску семейного генетического расстройства, чтобы потенциально избавить здорового новорожденного

от любого инвазивного и дорогостоящего ненужного диагностического вмешательства и лечения. Например, это может быть в случае новорожденного мужского пола, рожденного в семье с дефицитом орнитинтранскарбамилазы в цикле мочевины, которое является генетическим расстройством, требующим эмпирического ограничения белка и центральной линии парентерального питания для предотвращения метаболического кризиса в периоде новорожденности до подтверждения или опровержения диагноза.

В данном обзоре мы обсуждаем различные стратегии, доступные для генетической диагностики плода, начиная с тестирования до зачатия и пренатального скрининга генетических нарушений, за которыми следуют варианты диагностического тестирования.

Традиционный скрининг сыворотки использовался в течение десятилетий для выявления беременностей с риском анеуплоидии в дополнение к другим состояниям. Это может быть проведено в течение любого триместра беременности, когда сравнение уровней различных анализов в материнской сыворотке со средними значениями в популяции позволяет выявить беременность с высоким риском нарушений. Ультрасонография во втором триместре также может установить признаки, указывающие на анеуплоидию, в том числе «мягкие маркеры», такие как кисты сосудистого сплетения, эхогенный внутрисердечный фокус или эхогенный кишечник, в дополнение к основным врожденным аномалиям, которые более характерны для возможного генетического заболевания [44]. В первом триместре для расчета риска анеуплоидии наряду с материнскими факторами используются уровни хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) и ассоциированного с беременностью протеина плазмы А (РАРР-А), а также измерение воротникового пространства плода. Скрининг, проводимый во втором триместре, включает в себя определение ХГЧ, АФП, ингибина А и неконъюгированного эстриола в материнской сыворотке. Характер отклонений, наблюдаемых в концентрациях этих анализов может указывать на более высокий риск определенного синдрома анеуплоидии – например, беременные с синдромом Дауна имеют более низкие уровни АФП и неконъюгированного эстриола и более высокие уровни ХГЧ и ингибина-А, в то время как беременные с трисомией 18 имеют пониженные значения для всех анализов. В до-

полнение к оценке риска анеуплоидии повышенные уровни АФП могут указывать на наличие открытого дефекта нервной трубки, а низкие уровни эстриола могут свидетельствовать о синдроме Смита-Лемли-Опица у плода, дефекте метаболизма холестерина. Преимущества скрининга материнской сыворотки включают низкую стоимость и возможность выявления беременностей с высоким риском патологии на ранних сроках беременности. Основным недостатком является относительно низкая диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность по сравнению с анализом вкДНК [23, 28, 38, 47].

Тестирование вкДНК, ранее называвшееся неинвазивным пренатальным тестированием (NIPT) или скринингом (NIPS), вошло в клиническую практику в 2011 году. В настоящее время оно широко используется в качестве скринингового теста на синдромы анеуплоидии, такие как синдром Дауна, синдром Эдварда и синдром Патау, чаще всего вызванных трисомиями хромосом 21, 18 и 13 из-за нерасхождения во время гаметогенеза [14, 22, 24], хотя они также могут возникать по другим механизмам, таким как хромосомная транслокация или митотические ошибки, приводящие к мозаицизму у плода [30, 50]. Также могут быть обнаружены аномалии пола и половых хромосом плода, такие как синдром Тернера (моносомия X) и синдром Клайнфельтера (47, XXY). Этот тест основан на присутствии сегментов ДНК плода в материнском кровотоке, что позволяет анализировать образец материнской крови для определения относительных пропорций определенных хромосом у плода [50]. Для этого использовать различные методы, включающие или массивно-параллельное секвенирование с оценкой относительного количества хромосомного материала, или анализ SNP для оценки относительного распределения аллелей матери и плода [50]. Важно отметить, что тестирование вкДНК не заменяет необходимость раннего УЗИ и оценки сывороточных маркеров, поскольку эти методы могут выявить другие состояния плода с высоким риском патологии, например, анэнцефалию. Следует помнить, что возможны «ложноотрицательные» или «ложноположительные» результаты из-за отсутствия соответствия между плацентой и плодом, когда плацентарные клетки анеуплоидны с эуплоидным плодом, или наоборот. Несмотря на это, было показано, что скрининг вкДНК имеет более высокую диагностическую специфичность и прогно-

стическую ценность положительного результата для выявления трисомий 18 и 21 у женщин как с высоким, так и с низким риском [7]. Считается также, что метод тестирования вкДНК имеет более высокую диагностическую чувствительность для обнаружения трисомии 21. Известны научные данные о «ложноотрицательном» уровне 4–19 % для трисомии 21 при использовании стандартного скрининга [7] по сравнению с 99 % диагностической чувствительностью при использовании вкДНК для обнаружения трисомии 21 [24].

«Ложноположительные», так и «ложноотрицательные» результаты скрининга вкДНК представляют собой интересные клинические сценарии и являются основой для важных биологических выводов. «Положительный» результат скрининга вкДНК с нормальным кариотипом плода может указывать на злокачественное новообразование матери, особенно при наличии множественных аномалий, или может быть результатом различных других состояний матери [5, 6]. Дискордантность половых хромосом была обнаружена, когда мать получила трансплантацию солидного органа или костного мозга от донора-мужчины, что приводило к обнаружению 46 XY на вкДНК плода женского пола. Сама мать может быть «мозаичной» при таком заболевании, как синдром Тернера, так как соматический мозаицизм с потерей одной копии X-хромосомы возникает в возрасте 29 лет. Беременная женщина может иметь невыявленную хромосомную микроделецию или дупликацию, приводящую к «ложноположительным» результатам вкДНК, поскольку хромосомный дисбаланс, присутствующий у матери, ошибочно интерпретируется как фетальный по происхождению [54, 66].

Недавний научный обзор показал, что одна треть «ложноположительных» случаев имела научное объяснение: вариации числа копий у матери (48 %) обнаруживались при ограниченном плацентарном мозаицизме (32 %) и онкологической патологии у матери (15 %) [30]. Результат вкДНК с высоким риском при нормальном кариотипе плода может также указывать на то, что произошло восстановление моносомии или трисомии с образованием эуплоидного плода, что создает риск однородительской дисомии, которая может привести к аутосомно-рецессивным или импринтинговым нарушениям у плода [40]. Из-за низкой положительной прогностической ценности вкДНК (частично из-за того, что состоя-

ния, на которые тестируются, очень редки), результат высокого риска при скрининге вкДНК должен быть основанием для дальнейшего диагностического тестирования. «Ложноотрицательные» результаты в научном исследовании были объяснены в 54 % случаев и отражали мозаицизм плода, который наблюдался в 92 % случаев [25]. В частности, изохромосома 21q, приводящая к синдрому Дауна, была связана с «ложноотрицательным» тестом cfNDA, поскольку эта транслокация обычно происходит *de novo* у плода и может отсутствовать в клетках плацентарного цитотрофобласта [31]. Низкая фракция плода или уменьшенная доля внеклеточной ДНК плода по сравнению с материнской ДНК в образце также может привести к «ложноотрицательному» результату. Это важный научный вывод, так как у многих женщин с ожирением присутствует низкая фракция плода, и при этом обнаружено, что до 23 % результатов «ложноотрицательных» имеют анеуплоидию [15]. Данные потенциальные ограничения тестирования вкДНК важно иметь в виду профильным специалистам при организации перинатальной помощи.

Образцы плода обычно получают либо путем биопсии ворсин хориона (CVS) между 10–14 неделями беременности, либо путем амниоцентеза после 16 недель беременности. Чрезкожный забор пуповинной крови (PUBS) используется реже, он включает взятие образца крови плода непосредственно из пуповины [56]. Выбор образца зависит от нескольких факторов, таких как сроки, риск для плода и клеточная линия, взятая в качестве образца для каждого типа теста, что характерно для генетического тестирования плода [13, 32–34, 45, 60]. CVS включает забор плодной стороны плаценты, состоящей из цитотрофобласта и экстраэмбриональной мезодермы [8]. Таким образом, генетическое тестирование образца, полученного с помощью CVS, может дать «ложноположительный» или «ложноотрицательный» результат, если плод и плацента генетически дискордантны, как в случае с ограниченными возможностями при плацентарном мозаицизме (CPM), который встречается в 1–2 % образцов CVS [8, 25]. Это похоже на проблему, возникающую при тестировании вкДНК, но не относится к амниоцентезу, при котором непосредственно берутся клетки плода, которые попали в амниотическую жидкость. Генетическое тестирование после CVS может проводиться с использованием прямой подго-

товки полученного биологического образца или образца, культивируемого для выращивания дополнительных клеток и увеличения выхода ДНК. Непосредственная подготовка образца CVS способствует анализу клеток цитотрофобласта, которые быстро делятся, тогда как мезенхимальные клетки могут расти в культивируемом образце. Таким образом, прямой препарат может выявить хромосомную аномалию, хотя культивируемый образец и плод оба нормальны из-за нерасхождения в цитотрофобласте, поскольку он быстро делится [8].

Наблюдались также и другие модели несоответствия, например, прямой препарат и плод были нормальными, но культивированные клетки были аномальными, что представляет собой событие нерасхождения, ограниченное хорионической мезодермой [25]. Ситуация, в которой и прямой препарат, и культивированные образцы являются аномальными, но плод в норме, также можно наблюдать в условиях восстановления моносомии или дисомии, при которых мейотическое нерасхождение приводит к трисомной или моносомной плаценте, но плод «восстанавливает» неправильное число хромосом. Таким образом, в этих ситуациях вовлеченная пара хромосом может иметь происхождение от одного родителя, что может вызвать нарушения импринтинга, если затронуты определенные хромосомы (6, 7, 11, 14, 15 или 20) с импринтированными областями [37]. Интересно, что истинные ложноотрицательные результаты из образцов CVS (нормальный CVS, но аномальный плод) встречаются редко [8], а большинство ложноположительных результатов редкой аутосомной трисомии в CVS (97 % трисомий, отличных от 21, 18 или 13) представляют собой CPM [29,37], которые могут быть связаны с неблагоприятными исходами, такими как задержка роста плода, однако в других научных публикациях было показано, что этот риск является низким, за исключением случая CPM по трисомии [25, 28].

Как упоминалось ранее, амниоцентез позволяет избежать этой проблемы, поскольку плацентарные клетки в биологическом образце, полученном при данном способе, отсутствуют, поэтому амниоцентез может быть предпочтительнее в качестве последующего теста после результата вкДНК высокого риска, особенно, если на УЗИ не определены аномалии плода, и поэтому есть подозрение на «ложноположительный» результат.

Амниоцентез также может быть более полезен для диагностики определенных состояний, являющихся мозаичными у плода с болезнетворными вариантами, которые отсутствуют в крови, но присутствуют в других тканях. Синдром Паллистера-Киллиан, тетрасомия 12p, является примером такого расстройства; постнатальная диагностика этого состояния обычно требует биопсии кожи, а не анализа крови на кариотип [29, 37]. Поскольку синдром Паллистера-Киллиана проявляется врожденной диафрагмальной грыжей (ВДГ), амниоцентез для оценки этого состояния при обнаружении ВДГ на пренатальной визуализации может быть особенно полезным.

При тестировании эмбриональных образцов при выборе оптимального теста принимает во внимание множество факторов, включая результаты и ограничения пренатального скрининга или скрининга родителей-носителей [37, 59]. Несмотря на то, что методы тестирования доступны в постнатальном периоде, пренатальный период времени занимает меньше времени, клиническая интерпретация выявленных вариантов различается в пренатальном периоде, учитывается сниженная способность разрешать варианты неопределенной значимости на основе фенотипа плода, и также подразумевается, что эти результаты могут сказаться на течении беременности. На практике СМА плода часто используется в качестве теста первого уровня и выполняется непосредственно на образце амниотической жидкости или CVS; оставшийся образец затем культивируется и может быть использован для другого теста, например, тестирования генной панели, если СМА отрицателен, однако применение многоуровневого подхода может увеличить время обработки на несколько недель. Образцы матери анализируют вместе с образцами плода для оценки загрязнения материнскими клетками.

Биохимическое или ферментное тестирование – измерения активности ферментов – могут быть выполнены на амниотической жидкости или клетках плода из CVS или амниоцентеза и имеют преимущество в виде более коротких сроков их выполнения, чем молекулярно-генетическое тестирование. Это может быть использовано для оценки врожденных нарушений метаболизма и других состояний, таких как синдром Смита-Лемли-Опица, при котором в амниотической жидкости наблюдаются повышенные уровни 7-дегидрохолестерола [29].

Подходы секвенирования генов для диагностики врожденных нарушений метаболизма становятся более распространенным явлением, чем анализ активности ферментов или другой биохимический анализ образцов плода, особенно потому, что интересующий ген или даже его вариант (варианты) могут быть известны из семейного анамнеза.

Исторически сложилось так, что генетическое тестирование образцов, полученных с помощью амниоцентеза или CVS, ограничивалось тестированием кариотипа или FISH. Кариотип обычно проводится на культивируемых, делящихся клетках и обычно возвращается в течение 7–10 дней; этот тест выявит анеуплоидию, такую как синдром Дауна, большие хромосомные перестройки и триплоидию. FISH можно использовать для обнаружения анеуплоидии или определенных целевых CNV, таких как повторяющаяся делеция 22q11, на некультивируемых или культивируемых клетках, и результаты могут быть получены всего за 1–2 дня, если они выполняются на прямом образце. СМА, при которой могут быть обнаружены субмикроскопические хромосомные CNV, может быть выполнена как в прямом, так и в культивированном образце, и рекомендуется вместо кариотипа в качестве теста первого уровня при оценке аномального плода с диагностической ценностью примерно 6 % [16, 61].

Низкочастотное секвенирование генома эмбрионального образца является высокочувствительным и более успешным для выявления CNV, вызывающих заболевания, при более низком минимальном количестве ДНК, необходимом для тестирования, в дополнение к способности обнаруживать сбалансированную реаранжировку и потенциально более низкой стоимости [19, 59].

Надлежащее использование СМА или других технологий для выявления CNV при беременностях с низким риском, особенно при отсутствии аномалий при УЗИ плода, в настоящее время обсуждается, поскольку было обнаружено, что часть таких беременностей (1/71 беременностей) с «нормальным» ультразвуковым исследованием и 1/131 беременностей с «низким риском» в недавнем исследовании [48] также несут клинически значимые CNVs – по оценкам, 0,86 % в недавнем метаанализе [55]. Для этого использовали метод сравнительной геномной гибридизации на основе массива (CGH) на основе олигонуклеотидов, который неспособен обнаружить однородительскую дисо-

мию или триплоидию, в отличие от SNP, истинная частота аномальных результатов при этом может быть недооценена [39, 55]. Оценка клинического значения субмикроскопических CNV, которые могут быть связаны с различной степенью задержки развития или умственной отсталостью особенно у структурно-нормального плода, может вызывать затруднения и формировать у родителей чувство противоречия в отношении принятия решений во время беременности. Как упоминалось ранее, SNV, небольшие вставки/делеции (инделы) или другие структурные варианты (варианты размером > 50 пар оснований, включая инверсии, сложные реаранжировки или события количества копий), влияющие на отдельные гены, как правило, не выявляются с помощью пренатальной СМА. Поэтому, если есть подозрение на моногенное заболевание, следует рассмотреть возможность тестирования отдельных генов или панелей генов [10, 18, 39, 46, 57].

Тестирование одного гена показано, если предположение плода вызывает подозрения в отношении определенного состояния, на основании доступной информации, такой как результаты скрининга сыворотки, данные УЗИ плода или семейный анамнез. В условиях известного семейного расстройства, например, если поражен брат или сестра, или если известно, что оба родителя являются носителями аутосомно-рецессивного заболевания, следует провести целенаправленную оценку ДНК плода на наличие известных патогенных генетических вариантов. В таких сценариях, когда известен конкретный генетический вариант, определяющий развитие заболевания, целевое тестирование геновариантов предпочтительнее секвенирования всего гена, поскольку оно устраняет возможность геновариантов неопределенной значимости, помогает в интерпретации «положительного» результата и является более экономичным [11, 35, 63]. В других случаях, таких как совокупность аномалий, патогномоничных для определенного синдрома, предпочтительным подходом может быть секвенирование всего генома. Следует отметить, что для некоторых моногенных состояний, не вызванных SNV, таких как синдром ломкой X-хромосомы или врожденная миотоническая дистрофия, вызванных короткими tandemными повторами (STR) триплетных нуклеотидов, показано применение специфических молекулярно-генетических тестов, отличных от секвенирования [23].

Тестирование панели генов включает параллельное секвенирование нескольких генов из одного образца. Этот метод тестирования часто используется для диагностики патологии плода, поскольку многие их проявления неспецифичны [11, 18, 35, 46, 63]. Примеры включают скелетную дисплазию плода и последовательность акинезии плода, при которой отсутствие движения плода приводит к множественным аномалиям, таким как артрит-гриппоз, косолопость и многоводие, или скелетные дисплазии. Преимуществом тестирования с помощью генной панели является возможность исследовать несколько генетических гипотез одновременно, чтобы увеличить вероятность постановки диагноза плода в кратчайшие сроки – 2–3 недели. Ограничения этого метода включают высокую стоимость исследования и к проблеме выбора правильного списка генов для тестирования. Как упоминалось ранее, глубокое фенотипирование затруднено во внутриутробном периоде, и известно, что тысячи генов вызывают менделевские расстройства. Многие лаборатории разработали панели специально для пренатального использования, уделяя особое внимание общим показателям для тестирования плода с коротким временем обработки. Эти панели включают только тяжелые состояния, которые, как известно, проявляются внутриутробно и коррелируют с фенотипом плода. Поскольку этот метод также основан на секвенировании, при интерпретации «отрицательного» результата теста читать варианты, которые трудно обнаружить с помощью массивно-параллельного секвенирования, такие как STR или структурные варианты [10, 46].

Секвенирование экзона (ES) или секвенирование генома (GS) шире, чем тестирование панели генов, где исследование ES включает секвенирование 2 % генома, кодирующего белок, 50 % GS включает некодирующие области. Хотя секвенирование генома включает в себя больше пар оснований и обладает большей способностью обнаруживать структурные варианты, варианты количества копий, некодирующие варианты и даже некоторые SNV и вставки из-за более равномерного охвата генома [57], это не было продемонстрировано в постнатальных клинических условиях для значительного повышения диагностической ценности, несмотря на значительно более высокую стоимость исследования [2, 20, 26, 52]. Одним из потенциальных преимуществ секвенирования является скорость тестирования.

Поскольку GS требует больших затрат и увеличивает сложность анализа данных, ES чаще используется в крупных исследованиях по пренатальной диагностике. ES, впервые зарегистрированная в пренатальных условиях для диагностики последовательности акинезии плода/неиммунной водянки в семье с рецидивирующими потерями плода [20], впоследствии показала высокую диагностическую эффективность для плодов с множественными врожденными аномалиями или иным образом с высокой степенью подозрения на генетическое заболевание, с выходом примерно 25–80 % в зависимости от анализируемой популяции [2, 17, 20, 26, 52]. Было показано, что информация, полученная из пренатального экзота, помогает родителям в принятии решений и перинатальном ведении [12, 17]. Проведенные два крупных исследования по секвенированию ES у плодов с любой структурной аномалией, включая повышенную прозрачность воротникового пространства и отрицательный результат предшествующего тестирования на анеуплоидию или CNV, показали, что частота выявления аномалий составляет 10–12,5 % [4, 58]. Самая высокая частота обнаружения патологических состояний была у плодов со скелетными аномалиями или множественными врожденными аномалиями [36, 41]. В данных исследованиях только патогенные или вероятно патогенные варианты, объясняющие предлежание плода, были переданы семье после рассмотрения консилиумом специалистов. Таким образом, гено варианты, ответственные за нарушения развития, которые не могли быть подтверждены фетальным фенотипом, не были переданы пациентам [36]. Различия в интерпретации вариантов между пре- и постнатальным экзомом важны в случае, когда пренатальная ES не является диагностической, поскольку постнатальный повторный анализ может позже быть диагностическим. Пренатальный ES также может быть недиагностическим, если плод несет потенциально опасные варианты в гене, который не связан с заболеванием человека, поскольку более 80 % из 20 000 человеческих генов не связаны с менделевским состоянием [43]. Установление диагноза в гене с неопределенным значением особенно сложно в пренатальный период с ограниченной информацией о фенотипе и временем, что усложняет принятие решения родителями. Секвенирование ES имеет высокую диагностическую эффективность и ценно для диагностики

после гибели плода или после прерывания беременности, что помогает консультировать семьи в отношении риска рецидива [1, 21, 43].

Ограничения секвенирования ES плода включают: 1) время обработки, поскольку женщины могут пытаться использовать информацию, чтобы решить: продолжать ли беременность или нет, и этот вид исследования более доступен при сроке беременности 24 недели; 2) стоимость, при этом секвенирование ES стоит тысячи долларов, по сравнению с сотнями долларов за тестирование одного гена или панели генов и 3) интерпретация, поскольку определение геновариантов, определяющих развитие заболевания, усложняется из-за неполной информации о фенотипе, присущей предлежанию плода [20].

Аномалии плода, обнаруженные с помощью ультразвукового исследования, варьируются от незначительных изменений (например, дисморфических черт лица) до серьезных, потенциально летальных мультисистемных аномалий. Основная их этиология разнообразна и включает экологические и генетические факторы. Генетическая этиология аномалий плода исследуется пренатально или постнатально с помощью комбинации кариотипирования, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и сравнительной геномной гибридизации на основе массива (CGH). Обычное полное кариотипирование может выявить числовые, а также несбалансированные и сбалансированные структурные перестройки > 5–10 Мб. Субмикроскопические хромосомные аномалии могут быть диагностированы с помощью FISH, но это очень ограниченный метод, поскольку он является «целевым» подходом, требующим знания о том, что конкретная кариотипическая перестройка связана с конкретным пороком развития. Возрастает популярность аХГЧ в пренатальной диагностике, но диагностическая чувствительность обнаружения зависит от выбранной платформы и показаний для тестирования.

Генетические исследования активно внедряются в пренатальную диагностику и важны для оценки и клинической сортировки структурных аномалий плода. В течение более 30 лет традиционный пренатальный цитогенетический анализ был методом первой линии для исследования этих аномалий, но в течение последних 10 лет анализ хромосомных микрочипов все чаще используется для обнаружения субмикроскопических патогенных вариаций числа копий (CNV) в пренаталь-

ной диагностике. Добавление хромосомного микрочипового тестирования к кариотипированию увеличивает частоту обнаружения хромосомных аномалий на 3–5 % [3, 9, 11, 35, 63, 64]. Структурные аномалии плода могут быть связаны со всеми типами генетической изменчивости, включая анеуплоидию, однородительскую дисомию, CNVs и внутригенные мутации.

Растет интерес к стратегиям полногеномного секвенирования для исследования пренатально обнаруженных врожденных аномалий. Пренатальное полногеномное секвенирование (GS), полноэкзомное секвенирование (ES) и целевые генные панели вызывают большой практический интерес из-за экономической доступности, меньшего количества требуемой фетальной ДНК, возможности сравнительно более быстрой скорости исследований и большего объема получаемой диагностической информации.

Секвенирование следующего поколения (NGS) становится бесценным инструментом не только для обнаружения генов болезней в исследовательских условиях, но и для клинической диагностики. Диагностическая ценность секвенирования экзома у пациентов с менделевскими заболеваниями составляет 25 % [49], что позволяет предположить, что оно может дополнять традиционные методы пренатальной диагностики. NGS может улучшить результаты пренатальной диагностики за счет выявления патогенных генетических вариантов, которые ниже разрешения платформ CGH при текущем клиническом использовании, а также за счет локализации точек разрыва цитогенетически сбалансированных хромосомных перестроек в отдельных генах.

С литературой можно ознакомиться в редакции.

Поступила 13.07.2022 г.