

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»

Кафедра акушерства и гинекологии

С.Л. ВОСКРЕСЕНСКИЙ, Е.Н. ГРУДНИЦКАЯ, И.Г. ШОРОХ

ОСНОВЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Минск, БелМАПО
2022

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ»

Кафедра акушерства и гинекологии

С.Л. ВОСКРЕСЕНСКИЙ, Е.Н. ГРУДНИЦКАЯ, И.Г. ШОРОХ

ОСНОВЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Учебно-методическое пособие

Минск, БелМАПО
2022

УДК 618.33-07(075.9)

ББК 57.16я78

В 76

Рекомендовано в качестве учебно-методического пособия
НМС Государственного учреждения образования
«Белорусская медицинская академия последипломного образования»
протокол № 10 от 30.12.2021

Авторы:

Воскресенский С. Л., профессор кафедры акушерства и гинекологии
БелМАПО, доктор медицинских наук, профессор

Грудницкая Е. Н., доцент кафедры акушерства и гинекологии БелМАПО,
кандидат медицинских наук, доцент

Шорох И. Г., старший преподаватель кафедры акушерства и гинекологии
БелМАПО

Рецензенты:

Курлович В. И., заместитель директора по научной работе ГУ РНПЦ «Мать и
дитя», кандидат медицинских наук

*Кафедра акушерства и гинекологии учреждения образования «Белорусский
государственный медицинский университет»*

Воскресенский С. Л.

В 76 Основы пренатальной диагностики : учеб.-метод. пособие /
С.Л. Воскресенский, Е.Н. Грудницкая, И.Г. Шорох. – Минск :
БелМАПО, 2022. – 28 с.

ISBN 978-985-584-745-9

В учебно-методическом пособии обозначена проблема наследственных и врожденных заболеваний человека, даны основы генетики, изложена история развития пренатальной диагностики, подробно представлены основные методы оценки анатомии и состояния плода, освещены современные перспективы неинвазивного пренатального скрининга.

Учебно-методическое пособие предназначено для слушателей, осваивающих содержание образовательных программ: переподготовки по специальности «Акушерство и гинекология» (дисциплина «Гинекология»), повышения квалификации врачей-акушеров-гинекологов, врачей ультразвуковой диагностики, врачей-неонатологов.

УДК 618.33-07(075.9)

ББК 57.16я78

ISBN 978-985-584-745-9

© Воскресенский С.Л., Грудницкая Е.Н.,
Шорох И.Г., 2022

© Оформление БелМАПО, 2022

Введение

При рождении у 2,5-3% новорожденных диагностируются морфологические врожденные пороки развития (ВПР). В последующие годы жизни частота их выявляемости увеличивается до 5-7% за счет патологии, которая диагностируется в более позднем возрасте: болезни органов зрения, слуха, нервной и эндокринной систем. При учете данных о нарушениях социализации (т.н. поведенческий тератогенез), что обнаруживается еще позже, частота врожденных отклонений в развитии по некоторым данным может достигать 15-17%.

Причинами пороков выступают наследственные болезни и врожденные заболевания.

К первым относятся те, которые возникли вследствие дефектов в наследственном аппарате клеток (генные, хромосомные и митохондриальные мутации). Среди наследственных заболеваний генные болезни выявляются у 1% родившихся, хромосомные - у 0,5% – 1%, из которых 80% составляют анеуплоидии (клетки организма содержат измененное число хромосом, не кратное гаплоидному набору: моносомия, трисомия, нуллисомия), митохондриальные мутации – 0,02% [4, 6].

Врожденные заболевания – патология, которая возникла из-за действия повреждающих факторов на плод (эмбрион) во время беременности, которое привело к неправильному развитию органа или органов при нормальной наследственности. Примером такой патологии может быть ампутация конечности при синдроме амниотических перетяжек, врожденная пневмония и пр. Наследственные и врожденные заболевания могут пересекаться.

Множественные пороки развития плода часто возникают при хромосомных мутациях. Частота хромосомных аномалий при спонтанных абортах до 8 недель беременности выявляется примерно у 30% и у 50% эмбрионов в сроке гестации 8-11 недель. В группе пациентов с умственной отсталостью хромосомные аномалии выявляются с частотой от 2 до 35% в зависимости от патологии.

Классификации хромосомной патологии включает множество вариантов дефектов хромосом. Но в них можно выделить 2 большие группы: сбалансированные и несбалансированные хромосомные перестройки.

Сбалансированные хромосомные перестройки не сопровождаются потерей или добавлением генетического материала. Например, инверсии (поворот участка хромосомы на 180°) или транслокации (перемещение какого-либо участка хромосомы на другое место). Поэтому носители таких повреждений хромосом фенотипически могут не иметь отклонений от нормы.

Несбалансированные хромосомные перестройки, например, делеции (выпадение участка хромосомы), дупликации (удвоение какого-то участка хромосомы) связаны с изменением в сторону увеличения или уменьшения генетического материала. Поэтому при них наблюдаются различные патологические проявления от снижения фертильности и повышенной вероятности спонтанных выкидышей до рождения потомства с множественными врожденными пороками развития, умственной отсталостью, инвалидностью, что определяет их высокую социальную и клиническую значимость [10].

Изменение общего числа хромосом не кратное их гаплоидному набору (23 пары) называют анеуплоидией.

Различают следующие формы анеуплоидии: моносомия (недостаток одной хромосомы; например, моносомия по X-хромосоме – синдром Шерешевского-Тернера - 45, X0), нуллисомия (отсутствие пары гомологичных хромосом – летальная мутация) и трисомия (три "одинаковые" хромосомы в одной из пар; например, трисомия по 21-й паре – синдром Дауна, по 13 паре – синдром Патау, по 18 паре – синдром Эдвардса).

Люди с синдромом Дауна – единственные триплоиды человека с достаточно большой продолжительностью жизни. Триплоидия по другим аутосомам обычно приводит к серьезным аномалиям развития и внутриутробной гибели эмбриона/ плода, ранней неонатальной смертности.

Увеличение числа хромосом кратное гаплоидному набору (в 2, 3, 4 и т. д.) носит название «полиплоидия». Геномные мутации по типу полиплоидии у человека выявляются при исследовании выкидышей или мертворожденных плодов.

Обнаружение аномалий развития у плода позволяет не только определить прогноз и тактику ведения беременности, но и предусмотреть возможность пренатальной и постнатальной коррекции этих аномалий.

Основные вехи развития пренатальной диагностики

Пренатальная диагностика представляет собой комплекс диагностических методов, направленных на выявление морфологических, структурных, функциональных или молекулярных нарушений во время внутриутробного развития человека.

Основными задачами пренатальной диагностики являются:

- ранняя диагностика внутриутробной патологии;
- определение прогноза здоровья будущего потомства;
- предоставление будущим родителям информации о степени риска рождения больного ребенка;
- предоставление информации о целесообразности прерывания бере-

менности, перспективах лечения больного ребенка и последствиях принятого родителями решения.

Как научно-практическое направление пренатальная диагностика появилась в 70-х годах прошлого столетия на стыке клинических (акушерство, гинекология, перинатология, неонатология) и фундаментальных наук (генетика, цитогенетика, молекулярная биология, эмбриология, биохимия). Однако ее истоки возникли гораздо раньше и, безусловно, связаны с развитием вышеуказанных дисциплин и особенно генетики.

Генетика как наука развивалась достаточно сложно. Но к середине XX столетия сформировались три ее основополагающих метода исследования: клинико-генеалогический, близнецовый и популяционно-статистический.

Первый метод включал в себя анализ родословной. Близнецовый метод был связан со сравнением встречаемости признаков у двух групп близнецов: идентичных (монозиготных) и неидентичных (дизиготных). Популяционно-статистический метод заключался в изучении признаков в больших группах людей, различающихся по наследственным характеристикам или условиям жизни.

Эти методы, безусловно, не могли достоверно предсказать наличие наследственной патологии у плода при данной беременности, но какие-то вероятностные прогнозы уже намечали.

С середины XX века появляются новые технологии, позволяющие исследовать клеточные культуры и изучать кариотип человека. В 1958 г. Ж. Лежен, М. Готье и Р. Турпин (рис.1, 2, 3) установили наличие "лишней" хромосомы при болезни Дауна. В этом же году Ч. Форд (рис.4) обнаружил моносомию по X-хромосоме при синдроме Шерешевского-Тернера, а годом позже была подтверждена хромосомная природа синдромов Патау и Эдвардса. Исследования в этом направлении привели к внедрению в медицинскую терминологию понятия «хромосомные болезни».



Рис.1. Жером Лежен



Рис. 2. Марта Готье



Рис. 3. Реймонд Тюрпен

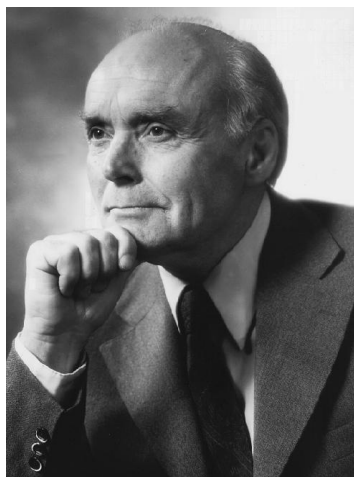


Рис. 4. Чарльз Эдмунд Форд

Со временем накопленный опыт по хромосомным болезням позволил приступить к изучению кариотипа плода путем исследования его клеток, полученных с помощью инвазивных диагностических процедур (см. ниже).

С этого момента началось активное развитие клинической генетики и медико-генетического консультирования беременных.

В 60-е годы XX века произошел новый прорыв в возможностях пренатальной диагностики. Появились аппараты, позволяющие осматривать плод, находящийся внутри матки, с помощью ультразвуковой волны (эхоскопия). Много позже для этого стали использовать магнитно-резонансную томографию (МРТ) и оптико-волоконную технику (фетоскопия). Более того, в ходе использования вышеописанных технологий начали выполнять лечебно-диагностические операции с плодом и плацентой. Но эхоскопия как метод визуализации самого плода и его органов стал знаковым в пренатальной диагностике.

В 80-е годы прошлого столетия произошло новое событие, сыгравшее в последующем важную роль в совершенствовании пренатальной диагностики. Тогда были заложены основы биохимического исследования в крови беременных сывороточных субстанций, ассоциированных с патологией развития плода. К ним отнесли: α -фетопротеин (продукт печени плода), хорионический гонадотропин (продукт клеток цитотрофобласта плаценты), неконъюгированный эстриол, трофобластический β -гликопротеин, ингибин, белок S100, ассоциированный с беременностью плазменный протеин А (PAPP-A) и др.

В настоящее время возможности пренатальной диагностики совершенствуются и развиваются.

Методы пренатальной диагностики

Методы пренатальной диагностики подразделяются на не прямые, когда объектом исследования является беременная женщина, и прямые, когда объектом исследования является плод.

Среди не прямых методов оценки состояния плода акцент делается на определение маркерных сывороточных субстанций в крови матери (биохимический скрининг); сбор генеалогического анамнеза; медико-генетическое консультирование (генетический скрининг).

Прямые методы, то есть связанные с непосредственным обследованием плода, могут быть неинвазивными: ультразвуковое, рентгеновское исследование, МРТ и инвазивными: биопсия ворсин хориона, плацентобиопсия, амниоцентез, кордоцентез, фетоскопия, биопсия тканей плода.

Исследование полученного плодного материала при инвазивных вмешательствах осуществляется при помощи цитогенетических (хромосомные болезни), молекулярных (генные болезни) и иммунологических методов.

Рутинным методом исследования хромосом является дифференциальное окрашивание, которое, способствует их идентификации и обнаружению имеющихся повреждений.

При недостаточной информативности базового метода используются молекулярно-цитогенетические методы диагностики. К последним относят флюоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH), сравнительную геномную гибридизацию (CGH), и хромосомный микроматричный анализ (ХМА). В основе этих методов лежат молекулярные технологии, позволяющие в разных аспектах исследовать тонкую структуру хромосом и их повреждения.

При описании кариотипа генетики применяют специфические сокращения и условные обозначения. Чаще всего используют запись в системе ISCN (1995). В ней кариотип описывают в следующей последовательности: количество хромосом, половые хромосомы. Установленные особенности кариотипа обозначают дополнительными символами: t - транслокация, del - делеция и др. При асимметричном повреждении хромосом их концы (плечи) имеют разную длину. Длинное плечо обозначается буквой "q", короткое - буквой "p". Нормальным считается кариотип, который можно описать следующими формулами: 46,XX, 46,XY (рис. 5). Если при цитогенетическом анализе кариотип хотя бы в двух клетках отличается от кариотипа остальных, то результат определяется как мозаичный [11].

В качестве примера приводим несколько вариантов описания разных кариотипов:

1. Кариотип 47,XXY - кариотип для лиц мужского пола с синдромом Кляйнфельтера (рис. 6);

2. Кариотип 47,XXX - кариотип для лиц женского пола с трисомией X (рис.7);

3. Кариотип 45,XY,rob(13;14)(q10;q10) - наиболее частая хромосомная транслокация (робертсоновская) у человека (рис.8);

4. Кариотип 46, XY, t(1;3)(p21;q21), del(9)(q22) - кариотип с транслокацией 21-х участков короткого (p) и длинного плеч (q) 1-й и 3-й хромосом и делецией 22-го участка длинного плеча (q) 9-й хромосомы (рис. 9).

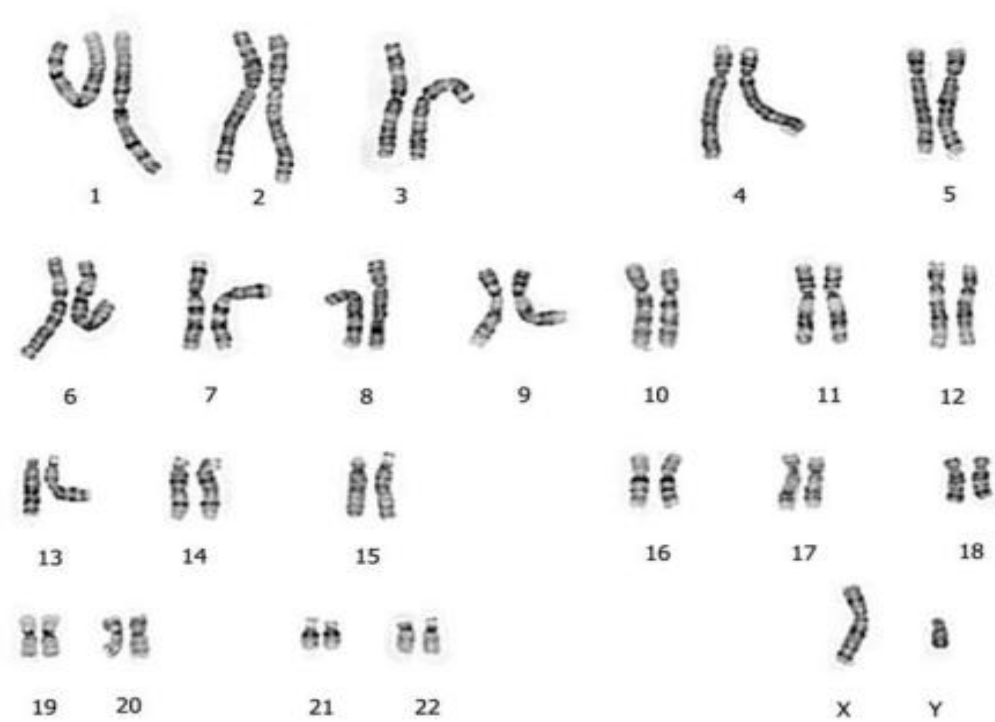


Рис. 5. Кариотип 46,XY



Рис. 6. Кариотип 47,XXY. Полисомия по X-хромосоме

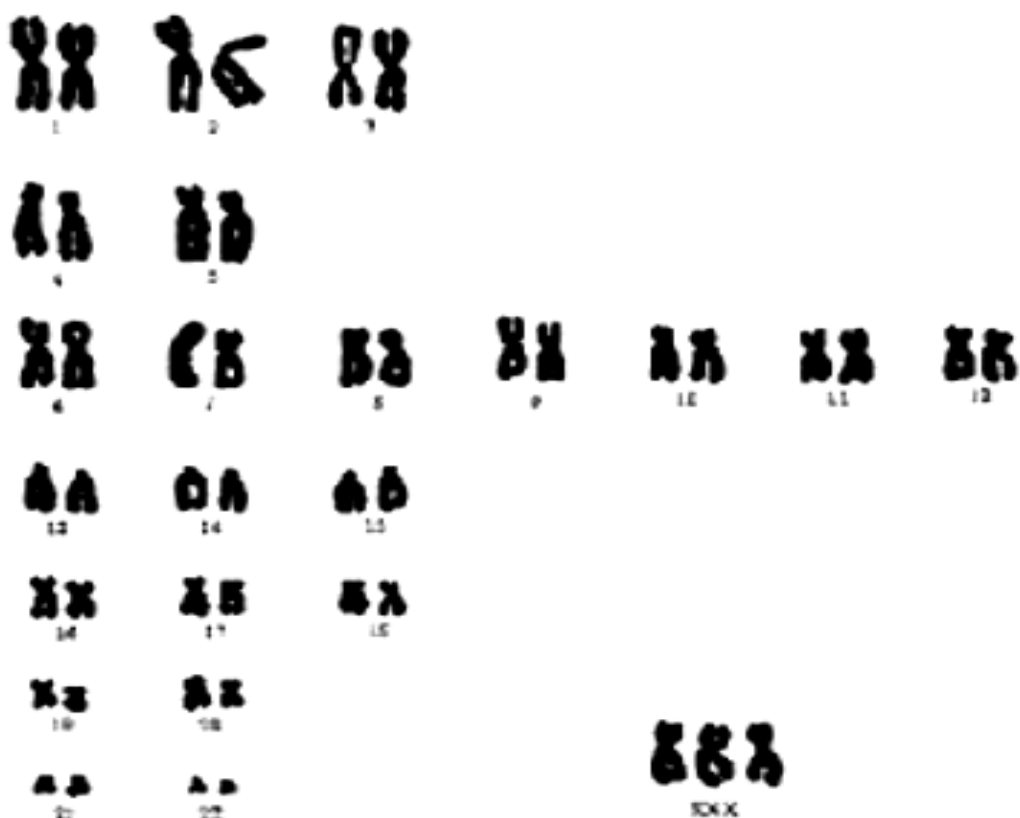


Рис. 7. Кариотип 47,XXX. Полисомия по X-хромосоме (трисомия)

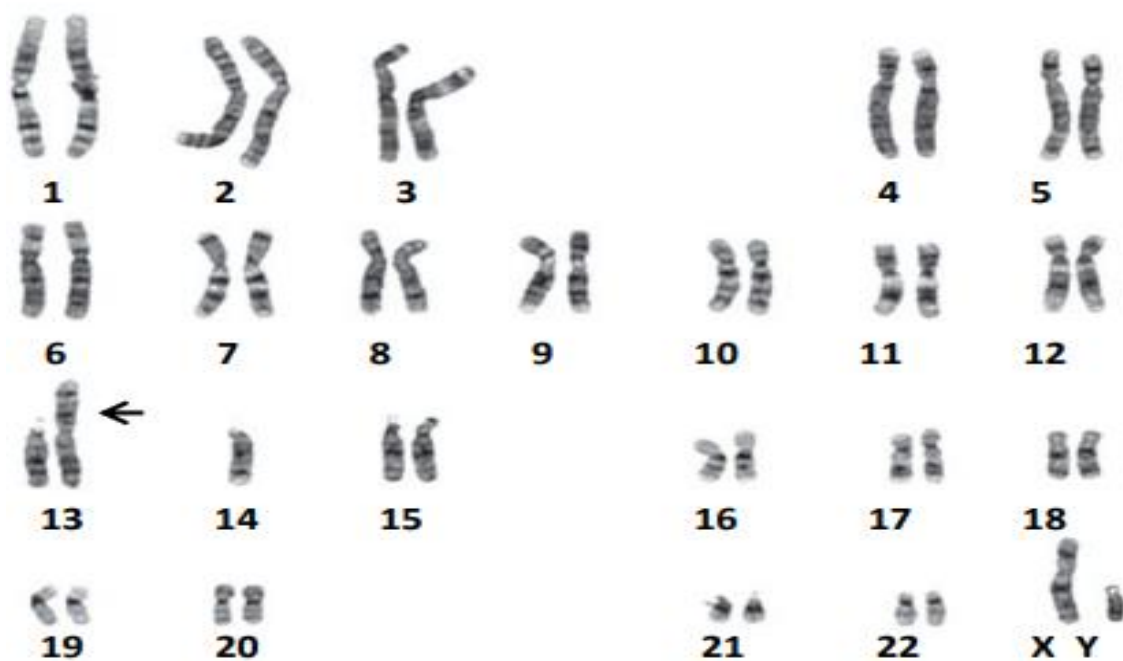


Рис. 8. Кариотип 45,XU,rob(13;14)(q10;q10). 13, 14 - хромосомы, вовлеченные в образование Робертсоновской транслокации; q10 - точки разрыва на хромосомах

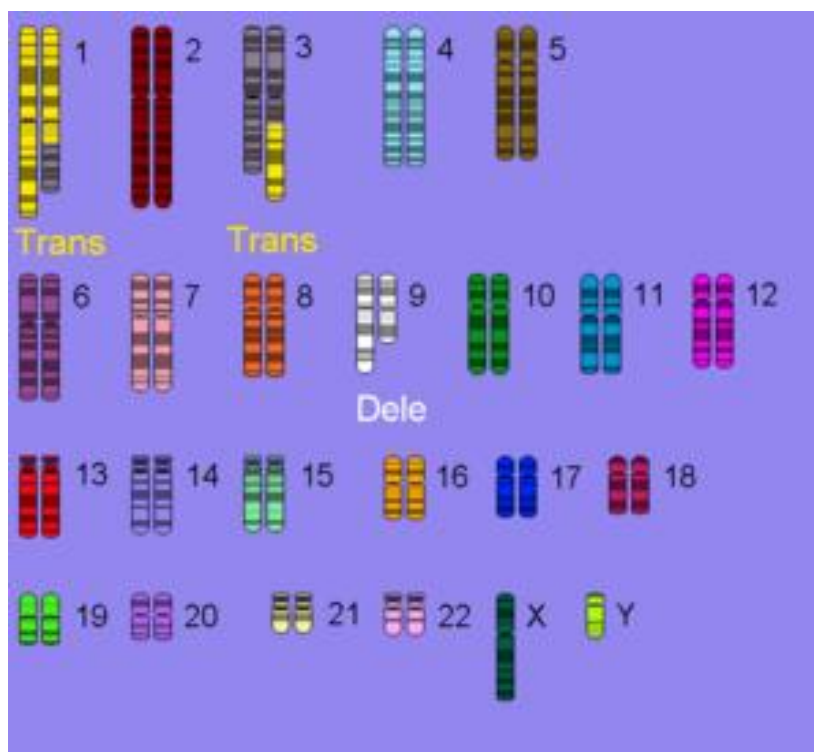


Рис.9. Кариотип 46,XY,t(1;3)(p21;q21), del(9)(q22): показаны транслокация (перенос фрагмента) между 1-й и 3-й хромосомами, делеция (потеря участка) 9-й хромосомы

Неинвазивное исследование плода

Такие неинвазивные методы как рентгеновское исследование плода, МРТ плода применяются с момента их внедрения в клиническую практику. Однако их использование ограничивается особыми случаями. Поэтому подробнее остановимся на наиболее распространенном и абсолютно доступном методе диагностики анатомии плода, а именно на ультразвуковым исследованием.

Эхоскопия в пренатальной диагностике

Фенотипические отклонения у плода, выявляемые с помощью эхоскопии, сопровождают изолированные, а также множественные врожденные пороки развития, в том числе и хромосомные аномалии.

Эхографические признаки патологии подразделяются на два вида: обязательные, когда выявленный признак однозначно сочетается с врожденной патологией, например, анэнцефалия (рис. 10) и т.н. «мягкие, или тревожные признаки». Последние относятся к эхографическим особенностям визуализации органа, которые обращают внимание исследователя своей необычностью. Они могут быть связаны с патологией, а могут не иметь в основе морфологического субстрата, то есть быть акустической (ультразвуковой) «иллюзией».

К таким «тревожным» эхоскопическим симптомам относят эхогенный фокус в сердце (рис. 11), пиелозктазию (рис.12), единственную артерию пуповины (рис. 13), гиперэхогенный кишечник (рис. 14), кисты сосудистых сплетений (рис. 15), брахицефалию, вентрикуломегалию (рис. 16), укорочение длинных трубчатых костей (рис. 17), клинодактилию (рис. 18) и пр. Эхографические маркеры аномалий имеют различия в ранние и поздние сроки беременности, и их перечень постоянно обновляется.



Рис. 10. Анэнцефалия



Рис. 11. Гиперэхогенный фокус в сердце

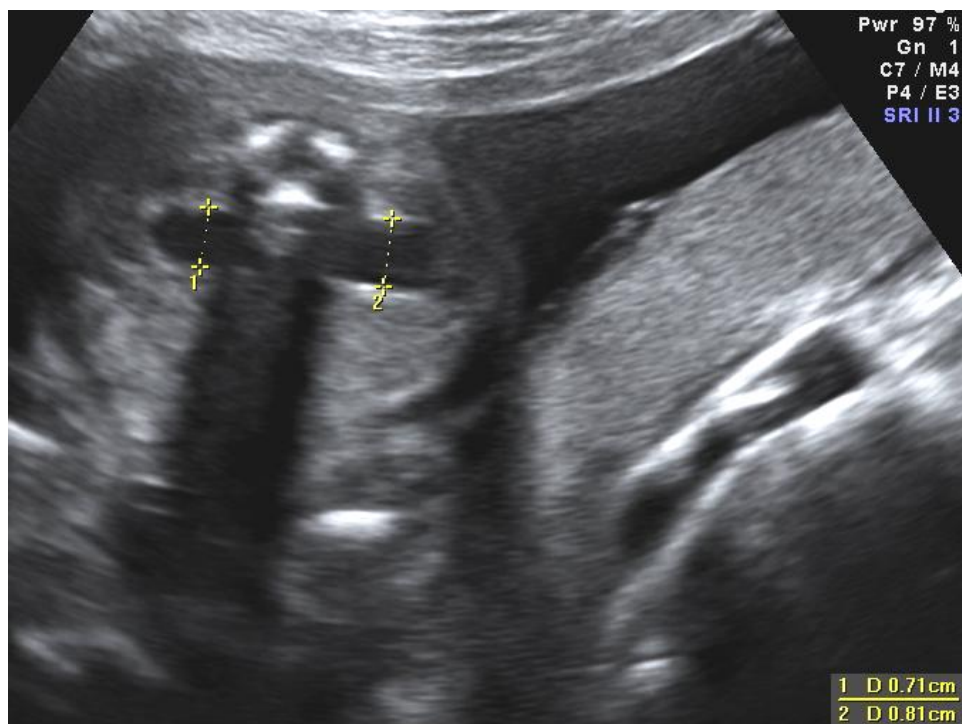


Рис. 12. Пиелоэктазия

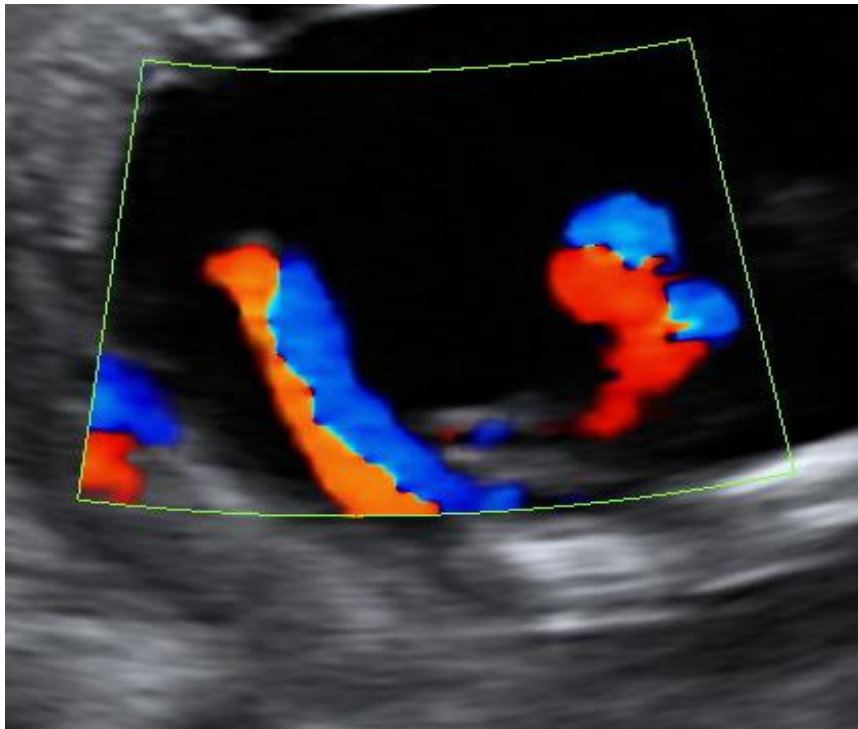


Рис. 13. Единственная артерия пуповины



Рис. 14. Гиперэхогенный кишечник



Рис. 15. Кисты сосудистых сплетений



Рис. 16. Вентрикуломегалия



Рис. 17. Укорочение длинных трубчатых костей



Рис. 18. Клинодактилия

В I триместре беременности важным эхографическим признаком хромосомных аномалий является расширенная воротниковая зона у плода (nuchal translucency - NT). Сама зона как таковая определяется абсолютно у всех плодов в сроках 10-14 недель беременности. Но ее избыточные размеры часто сочетаются с врожденной патологией плода (рис.19).



Рис. 19. Расширенная воротниковая зона

Природа этого явления связана с тем, что в это время продукция лимфы превышает возможности ее дренирования. Возникает состояние аналогичное лимфатическому отеку, что при ультразвуковом исследовании (УЗИ) выявляется как воротниковая зона. К 14 неделям беременности лимфатико-венозный дренаж начинает полноценно функционировать и избыток скопившейся лимфы оттекает, а воротниковая зона исчезает [2].

Патологическая воротниковая зона является значимым и эффективным маркером для выявления у плода синдромов Дауна (трисомия по хромосоме 21), Эдвардса (трисомия по хромосоме 18), Шерешевского-Тернера (моносомия по хромосоме X) [9]. В частности, чувствительность этого признака при диагностике синдрома Дауна варьирует от 69% до 75% при 5,0% - 8,1% ложноположительных результатов [5].

Другие «тревожные» эхографические признаки, которые используют в клинической практике в качестве ультразвуковых маркеров: отсутствие носовой кости (рис. 20), отрицательный кровоток в венозном протоке (рис. 21), трикуспидальная регургитация (рис. 22). Чувствительность этих эхографических маркеров достигает 60%-70% при 3% ложноположительных результатов.

Ультразвуковой скрининг II триместра беременности позволяет получить более детальную информацию о фенотипе плода, выявить большинство грубых структурных аномалий и пороков развития плода по сравнению с ультразвуковым исследованием в ранние сроки.

Эхографические маркеры хромосомных аномалий во II триместре бере-

менности разнообразны и многочисленны. Например, обнаружение голопроэнцефалии (рис. 23) с высокой вероятностью ассоциировано с трисомией по хромосоме 13 (синдром Патау), неиммунная водянка плода - с моносомией по хромосоме X или трисомией по хромосоме 21, атрезия двенадцатиперстной кишки - с трисомией по хромосоме 21 [3].



Рис. 20. Отсутствие носовой кости

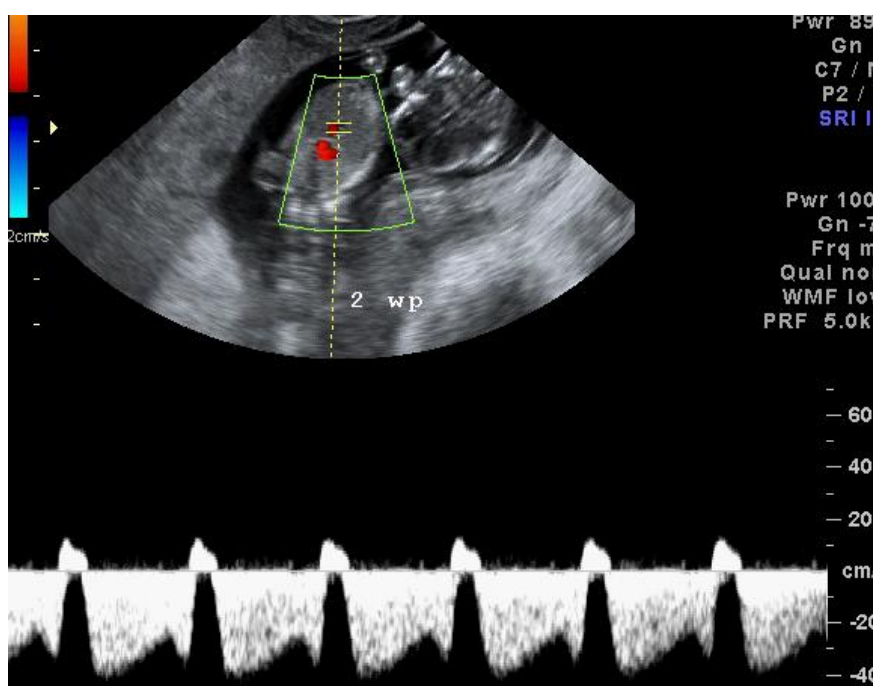


Рис. 21. Отрицательный кровоток в венозном протоке

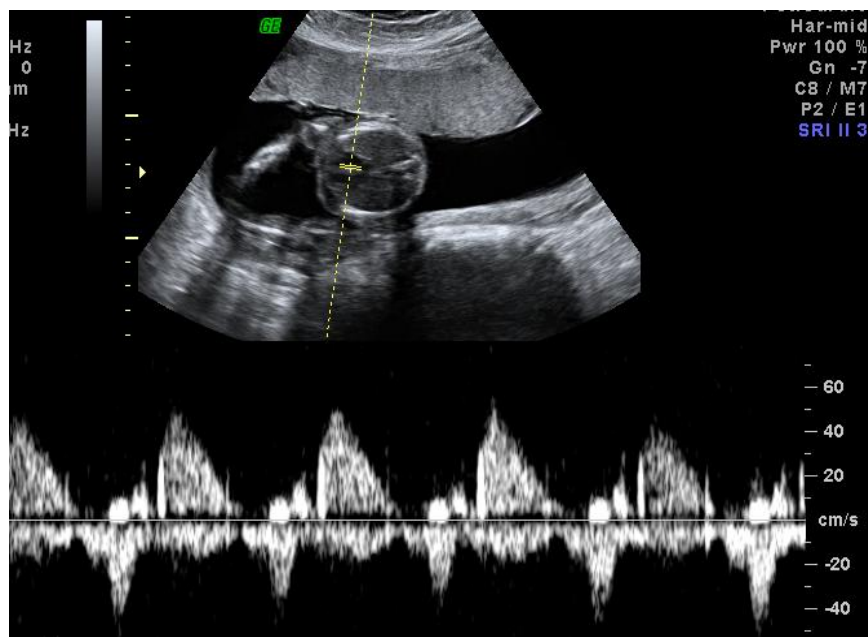


Рис. 22. Трикуспидальная регургитация



Рис. 23. Голопрозэнцефалия

С анеуплоидиями у плода (количество хромосом не кратное гаплоидному набору: трисомия, моносомия, нуллисомия) связаны некоторые аномалии почек, кисты сосудистых сплетений, гиперэхогенный кишечник, пиелозктазия, вентрикуломегалия, укорочение длинных трубчатых костей, клинодактилия.

Пороки развития сердца, головного мозга, замедление роста плода чаще ассоциированы с делециями, тогда как неиммунная водянка плода и увеличение воротниковой зоны являются типичными для трисомии и дупликаций. Конотрункальные пороки сердца характерны для микроделеции 22q 11.2, а выявление при ультразвуковом исследовании надклапанного стеноза аорты

может указывать на наличие микроделеции 7q 11.23 (синдром Вильямса-Бойрена) у плода.

Важно отметить, что при выявлении изолированного эхографического признака вероятность хромосомной аномалии у плода существенно меньше, чем при наличии двух и более маркеров (рис 24).

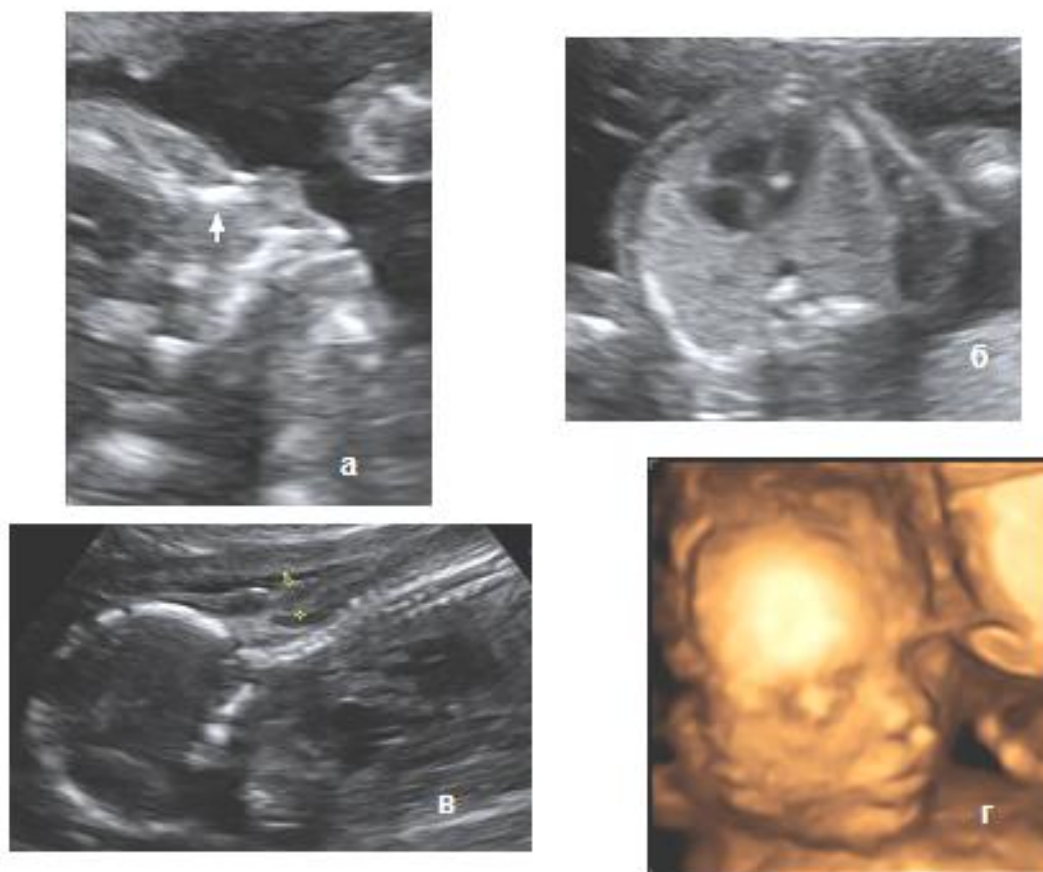


Рис. 24. Беременность 18-19 недель. Плод с синдромом Дауна: а – короткая носовая кость; уплощенный профиль; б – гиперэхогенный фокус в сердце плода; в - избыток мягких тканей в области шеи; г – лицо плода в режиме 3D

Обнаружение пороков и/или аномалий развития при ультразвуковом исследовании является одним из показаний для проведения инвазивной пренатальной диагностики и исследования кариотипа плода.

Неинвазивный пренатальный скрининг

Исходя из основных задач пренатальной диагностики и сложности выявления многообразных пороков развития в повседневной практике, в практической медицине стал применяться метод отбора женщин, наиболее угрожаемых по развитию у их плодов врожденных аномалий. Он получил название «скрининга» («скрининг» - просеивание, отбор).

Этот метод выстраивался на двух основных принципах: максимальной информативности по выявлению врожденных аномалий у плодов при минимальных затратах его массового применения в течение длительно отрезка времени (десятилетий).

Сочетание ультразвукового и биохимического исследования (по отношению к плоду это неинвазивные методики) дает возможность выделить среди беременных группу высокого риска по возможным хромосомным аномалиям у плода. И именно в этой группе выполнять дополнительные исследования, включая инвазивные.

Автоматизированный расчет индивидуального риска использует результаты статистической обработки ранее полученных данных при помощи специальных компьютерных программ. Качество скрининга определяется его чувствительностью (уровнем выявления больных плодов) и специфичностью (уровнем, выявления здоровых плодов, т. е. ложноположительных результатов). Чем выше чувствительность скрининга, тем меньше количество «пропущенных» случаев патологии. Чем выше уровень ложноположительных результатов скрининга, тем выше диагностическая агрессия, направленная на установление истинного состояния здоровья плода, то есть выполнение, по существу, излишних инвазивных процедур. Последние повышают риск самопроизвольного выкидыша. Поэтому показатели чувствительности и специфичности крайне важны при оценке качества скрининга.

В результате проведенных исследований беременная может быть отнесена к группе высокого риска (скрининг-положительная) либо к группе низкого риска (скрининг-отрицательная). Разделение на соответствующие группы выполняется на основании пороговых значений риска. В различных скрининговых программах пороговые значения могут колебаться от 1:100 до 1:300 [1]. В РБ пороговым значением является риск 1:360. Однако отнесение к той или иной группе не указывает на наличие или отсутствие патологии у плода, а только определяет риск (повышенный или пониженный) рождения ребенка с хромосомными аномалиями по сравнению с общепопуляционным риском.

Виды скрининга

Комбинированный скрининг I триместра беременности.

Выполняется в сроках беременности от 11 до 13 недель + 6 дней. Расчет риска у плода проводится на основании возраста матери, данных ультразвукового исследования плода (учитывается размер воротниковой зоны, носовой кости у плода и другие), уровней в материнские сыворотки ассоциированно-

го с беременностью плазменного протеина А (РАРР-А) и свободной β -субъединицы хорионического гонадотропина человека (β -ХГЧ) [7].

Важно отметить, что ультразвуковое исследование плода должно проводиться только специально обученными специалистами - врачами ультразвуковой диагностики при наличии оборудования высокого класса точности.

Скрининг II триместра беременности.

Выполняется с 16 по 22 неделю гестации. Основан на анализе результатов возраста матери, показателей содержания в сыворотке крови матери α -фетопротеина и β -субъединицы хорионического гонадотропина человека (двойной тест); α -фетопротеина, β -субъединицы хорионического гонадотропина человека и неконъюгированного эстриола (тройной тест); α -фетопротеина, β -субъединицы хорионического гонадотропина человека, неконъюгированного эстриола и ингибина А (четверной тест). Чувствительность скрининга второго триместра повышается при использовании большего числа показателей, так при тройном тесте она составляет 75%, а при четвертном достигает 81%.

Интегрированный скрининг I и II триместров

Выполняется скрининг I триместра, а затем в конце 16 недели оценивается четвертной тест. Далее анализируют общий результат для всех выполненных исследований в комплексе. Результативность интегрированного скрининга может достигать 90%. Однако результаты скрининга I триместра не должны раскрываться, пока не будет проведен скрининг II триместра беременности.

Этот организационный момент может быть причиной неоправданно длительного сохранения абсолютно бесперспективной беременности и повышения риска здоровью женщины при выполнении прерывания беременности в позднем сроке. Но, с другой стороны, он сдерживает напряженность волюнтаристских решений со стороны медперсонала и этических проблем со стороны потенциальных родителей.

Независимый последовательный скрининг

Принцип независимого последовательного скрининга основан на анализе расчета у одной беременной женщины двух независимых индивидуальных рисков при скринингах I и II триместров беременности. Расчет риска во II триместре проводится независимо от результатов данных, полученных в I триместре беременности. Чувствительность такого вида скрининга повышается с 88% до 94%, при этом специфичность метода теряется из-за увеличе-

ния частоты ложноположительных результатов с 5% до 11%.

Потеря специфичности может быть нивелирована при помощи ступенчатого последовательного скрининга. При попадании беременных после скрининга I триместра в скрининг-положительную группу им проводится инвазивная диагностическая процедура с последующим кариотипированием плода. В случае установления низкого риска после скрининга I триместра проводится дополнительный скрининг II триместра беременности.

Контингентный скрининг

Применяется для определения необходимости дополнительного обследования беременных во II триместре в зависимости от величины риска, рассчитанного в I триместре. Обследованные беременные делятся на три контингента: женщинам с высоким риском сразу рекомендуется инвазивная диагностика; женщинам со средним (промежуточным) риском инвазивная процедура рекомендуется в случае повышения риска после дополнительных обследований во II триместре; женщинам с низким риском во II триместре инвазивная процедура и биохимический скрининг не рекомендуются.

Результативность контингентного скрининга достигает 85%, обследование во II триместре рекомендуется 25% женщин, а количество ложноположительных результатов лишь на 0,1% выше, чем при проведении интегрированного скрининга. Таким образом, контингентный скрининг является альтернативой интегрированному скринингу, с преимуществом в завершении процесса скрининга уже в I триместре для женщин с низким риском, а так же является оптимальным по соотношению себестоимости и эффективности.

В ходе исследований было замечено, что беременные, отнесенные в группу промежуточного риска, будучи обеспокоенными результатами первого скрининга, выбирают проведение инвазивной диагностической процедуры, не дожидаясь скрининга во II триместре, увеличивая тем самым частоту ложноположительных случаев и снижая специфичность контингентного скрининга.

Важно подчеркнуть, что неинвазивный пренатальный скрининг эффективен не только для оценки риска по трисомии 21 у плода, но также и риска трисомии по хромосомам 13 и 18.

Выбор вида пренатального скрининга определяется государством или администрацией того или иного региона и зависит от обеспеченности медицинского учреждения подготовленными кадрами, экспертными ультразвуковыми аппаратами и лабораторным оборудованием, достаточным финансированием.

Перспективы неинвазивного пренатального скрининга

В 1948 году в плазме крови человека были обнаружены фракции ДНК, не связанные с клетками хозяина. Предполагалось, что они являются "обломками" разрушенных клеток. Т.е. "облигатные" внутриклеточные, точнее внутриядерные молекулы, в действительности могут оказываться за пределами не только ядер клеток, но и самих клеток.

В начале XXI века было установлено, что плодные клетки плода обнаруживаются в периферической крови матери уже с 5 недели беременности, а к 9 неделе гестации их количество достигает уровня, достаточного для диагностики пороков его развития. В этот промежуток времени в крови матери начинают выявляться и сами молекулы ДНК плода. При этом интересен тот факт, что уже через час после родов внеклеточная ДНК разлагается и не обнаруживается в крови матери.

Возможность получения генетического материала эмбриона и плода без инвазивного вмешательства открыла новую ступень в области пренатальной диагностики. Широкое внедрение этой технологии на сегодняшний день ограничивается высокой стоимостью анализа и возможностью ошибок, связанных как с неопределенностью источника поступления ДНК (эмбрион, хорион), так и с невозможностью выявления хромосомной патологии плода при мозаичном варианте.

Поэтому обнаружение наследственной патологии плода по анализу крови матери уступает в точности исследования материала, непосредственно полученного от продуктов зачатия, но является в высшей степени перспективным направлением исследования. На сегодняшний день неинвазивное пренатальное тестирование НИПТ (Non-Invasive Prenatal Testing, NIPT) не 100% тест и не заменяет инвазивные методы диагностики.

В настоящее время существует ряд вариантов НИПТ [8], которые могут применяться с 9-10 недели гестации. Они отличаются между собой методическими особенностями и спектром выявляемой патологии.

Но можно предполагать, что существующие на сегодняшний день недостатки уже действующих вариантов пренатального тестирования будут преодолены и в будущем полностью отпадет (за редким исключением) необходимость в инвазивных методах исследования врожденной патологии плода.

Инвазивная пренатальная диагностика

Инвазивная пренатальная диагностика предполагает взятие биологического материала из продуктов зачатия.

Абсолютным показанием для проведения пренатальной цитогенетиче-

ской диагностики в настоящее время являются:

- носительство семейной хромосомной перестройки;
- моногенные заболевания в семье, если установлена мутация;
- положительный результат неинвазивного пренатального скрининга на анеуплоидию (высокий риск);
- аномалии развития плода, выявленные при УЗИ;
- возраст беременной 35 лет и старше.

В некоторых лабораториях последнее из показаний (возраст беременной 35 лет и старше) оценивается как сомнительное, в других является основанием для проведения пренатальной цитогенетической диагностики. Обосновывается это тем, что риск прерывания беременности вследствие выполнения инвазивной диагностической процедуры меньше, чем риск рождения больного ребенка. В РБ женщины старше 35 лет в репродуктивной популяции в 2019 году составляли 16-17% (в г. Минске - 19,8%). Большое количество применения инвазивных процедур опасно увеличением частоты ятрогенных заболеваний. Тем не менее, возраст беременных женщин в Беларуси 35 лет и старше является показанием к проведению процедуры.

Инвазивные диагностические процедуры

Инвазивные процедуры предназначены для получения генетического материала плода. Он может принадлежать непосредственно плоду в момент забора материала (например, кровь при кордоцентезе) или быть причастен к его жизни (клетки плода в амниотической жидкости). В зависимости от решаемых задач выбирается та или иная инвазивная методика получения генетического материала.

Выбор инвазивной процедуры зависит от срока беременности, клинического состояния женщины, показаний для пренатального исследования, квалификации врача-хирурга и врача-цитогенетика и от организационной формы пренатальной диагностики в той или иной стране. Инвазивные диагностические процедуры (аспирация ворсин хориона, амниоцентез, плацентоцентез, кордоцентез) выполняются под контролем УЗИ.

В I триместре беременности основной диагностической процедурой является аспирация ворсин хориона - получение хориальной ткани, которая может быть выполнена трансцервикальным или трансабдоминальным путем. Преимущество имеет трансабдоминальный способ получения хориальной ткани ввиду получения биологического материала высокого качества - чистота ворсин и практически полное отсутствие примеси децидуальной ткани. Проводится в интервале с 10 до 14 недель гестации, оптимальный срок - с 11

по 13 неделю беременности. В эти сроки беременности количество полученного биологического материала достаточно, риски осложнений диагностической процедуры минимальные, а при обнаружении тяжелых врожденных и наследственных заболеваний возможно выполнение медицинского аборта по генетическим показаниям.

Во II триместре беременности для получения клеток плода используют:

- амниоцентез - пункция амниотической полости с целью получения околоплодных вод. Проводится в сроке гестации - 16-22 недели;
- плацентоцентез - аспирация ворсин хориона в более поздние (после 15 недель) сроки беременности. Оптимальный срок проведения плацентоцентеза - интервал с 15 по 18 недели гестации;
- кордоцентез - пункция сосудов пуповины с целью получения крови плода для диагностики хромосомных аномалий применяется редко. Оптимальный срок проведения - интервал с 21 по 22 недели беременности. К этому времени пуповина достигает определенной толщины, что облегчает пункцию. Объем получаемой крови (0,5—4,0 мл в зависимости от вида диагностируемой патологии) практически не оказывает отрицательного влияния на плод.

Самым безопасным инвазивным методом исследования является амниоцентез, поскольку частота выкидышей после него не превышает 1%. Однако необходимо отметить, что все инвазивные методы исследования сопряжены не только с прерыванием беременности, но и с рядом других возможных осложнений (развитие группового или резус-конфликта, инфицирование плода и т. д.). Поэтому соотношение рисков наличия хромосомных аномалий у плода и его потери, при имеющейся социальной значимости демографических потерь, обуславливает целесообразность и обоснование инвазивных процедур.

Исследование хромосом плода

Классическим методом изучения числа и структуры хромосом является метод их дифференцированного окрашивания. Он проводится специальными красителями, которые выявляют определенные диски или области хромосом, позволяющие идентифицировать индивидуальные хромосомы и обнаружить большинство хромосомных аномалий.

Когда с помощью этого метода установить окончательный цитогенетический диагноз невозможно, используют высокоразрешающие молекулярно-цитогенетические методы диагностики.

К ним относятся следующие:

- флюоресцентная гибридизация, или FISH - цитогенетический метод, который применяется для определения последовательности ДНК на метафазных хромосомах или в интерфазных ядрах *in situ*. В его основе лежит специфическое связывание флюоресцентных меток с определёнными участками хромосом;
- спектральное кариотипирование – метод цитогенетической идентификации хромосомных нарушений при сомнениях в источнике хромосомного материала;
- сравнительная геномная гибридизация (CGH) – предназначена для обнаружения количественных изменений экспрессии генов непосредственно на хромосомах;
- хромосомный микроматричный анализ (ХМА) – метод позволяющий исследовать структуру генома без культивирования клеток.

Применение различных методов обеспечивает возможность получения информации об индивидуальном геноме, определить природу, локализацию, размер и структуру дисбаланса в генетическом аппарате, что является важным элементом в эффективном медикогенетическом консультировании семьи.

Заключение

Существующая стратегия неинвазивного пренатального скрининга направлена на раннее формирование среди беременных группы высокого риска по наличию у плода возможных аномалий развития и своевременного определения показаний к инвазивным вмешательствам, а при обнаружении патологии принятие взвешенного решения о дальнейшей тактике ведения беременности или родов.

В настоящее время результаты исследования после инвазивной процедуры, является определяющими, в принятии решения о сохранении или прерывании беременности. Риск самопроизвольного выкидыша после них составляет в среднем 1-2%. Он невысок, но существует. Поэтому при формировании показаний к проведению инвазивных исследований, необходимо сопоставлять реальный риск потери беременности вследствие проведения диагностической процедуры с риском рождения больного ребенка в семье.

В этой связи становится актуальной разработка способов неинвазивных методов пренатальной диагностики, позволяющих проводить анализ генетического статуса плода без угрозы для женщины преждевременно завершить беременность.

Список литературы

1. Жученко, Л.А. Анализ результатов раннего пренатального скрининга, выполняющегося по национальному приоритетному проекту «Здоровье» в субъектах Российской Федерации. Результаты российского мультицентрового исследования / Л.А. Жученко, П.А. Голошубов, Е.Н. Андреева [и др.] // «Аудит-2014» - Медицинская генетика. - 2014. – Т. 13. - № 6(144). - С. 3-540.
2. Золотухина, Т.В. Пренатальная диагностика хромосомных болезней. / Т.В. Золотухина, Н.В. Шилова, Е.В. Юдина // Наследственные болезни: национальное руководство / Н.П. Бочков, Е.К. Гинтер, В.П. Пузырев. - М.: Изд-во ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 936 с.
3. Benacerraf, B. The history of the second-trimester sonographic markers for detecting fetal Down syndrome, and their current role in obstetric practice / B. Benacerraf // Prenat. Diagn. - 2010. – V. 30. – P. 644-652.
4. Boyd, P. Sex chromosome trisomies in Europe: prevalence, prenatal detection and outcome of pregnancy / P. Boyd, E. Loane, E. Garne [et al.] // Eur. J. Hum. Genet. – 2011. – V. 19. – P. 231-234
5. Chitayat, D. Prenatal screening for fetal aneuploidy in singleton pregnancies / D. Chitayat, S. Langlois, R. Wilson // JOGC. - 2011. – V. 261. – P. 736-750.
6. Gardner, R. Chromosome abnormalities and genetic counseling. Oxford monographs of medical genetics no. 6 / R. Gardner, G. Sutherland, L. Shaffer – Int. Oxford press, 2012. - 4th edition - 634 pp.
7. Gross, S. Rapid and novel prenatal molecular assay for detecting aneuploidies and microdeletion syndromes / S. Gross, K. Bajaj, D. Garry [et al.] // Prenat. Diagn. – 2011. – [doi:10.1002/pd.2674].
8. Hui L. Advances in prenatal interrogation of the human fetal genome / L. Hui, D. Bianchi // Trends in genetics. – 2013. – V. 29. – P. 84-91.
9. Sepulveda, W. First-trimester sonographic findings in trisomy 18: a review of 53 cases / W. Sepulveda, A. Wong, V. Dezerega // Prenat. Diagn. – 2010. – V. 30. - P. 256–259.
10. Theisen, A. Disorders caused by chromosome abnormalities / Theisen A., Shaffer L. // The Applications of Clinical Genetics. – 2010. – V. 3. - P. 159-174.
11. The principles of clinical cytogenetics / ed. S. I. Gersen, M. B. Kagle. – 3rd ed. – New York : Springer-Verlag New York, 2013. – 569 p.

Учебное издание

Воскресенский Сергей Львович
Грудницкая Елена Николаевна
Шорох Ирина Григорьевна

ОСНОВЫ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Учебно-методическое пособие

В авторской редакции

Подписано в печать 30.12.2021. Формат 60х84/16. Бумага «Снегурочка».

Печать ризография. Гарнитура «Times New Roman».

Печ. л. 1,75. Уч.- изд. л. 2,18. Тираж 120 экз. Заказ 134.

Издатель и полиграфическое исполнение –
государственное учреждение образования «Белорусская медицинская
академия последипломного образования».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, рас-
пространителя печатных изданий № 1/136 от 08.01.2014.

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, рас-
пространителя печатных изданий № 3/1275 от 23.05.2016.

220013, г. Минск, ул. П. Бровки, 3, корп.3.