



НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ

© В. С. Баранов, Т. В. Кузнецова

ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург

■ Рассмотрены современные молекулярные подходы, используемые в пренатальной диагностике наследственных заболеваний. Обсуждаются преимущества и ограничения молекулярных методов диагностики хромосомных аномалий (КФ-ПЦР, СГН, экзомное секвенирование) в сравнении с традиционным кариотипированием плода. Особое внимание уделено проблемам эффективности и возможностям внедрения в современный алгоритм пренатальной диагностики методов неинвазивной диагностики генных и хромосомных аномалий у плода. Обсуждаются актуальные проблемы и этические аспекты доимплантационной диагностики, а также перспективы прекоцепционного генетического тестирования.

■ **Ключевые слова:** наследственные болезни; неинвазивная пренатальная диагностика; пренатальное кариотипирование; КФ-ПЦР; матричная сравнительная геномная гибридизация; генетическая карта репродуктивного здоровья; генетическое тестирование.

NOVEL OPTIONS IN PRENATAL GENETIC DIAGNOSTIC

© V. S. Baranov, T. V. Kuznetsova

D. O. Ott Research Institute for Obstetrics and Gynecology, Saint Petersburg, Russia

■ Modern molecular approaches to prenatal diagnostic of inherited diseases are briefly reviewed. Advantages and limitations of molecular methods for analysis of chromosomal anomalies (QF-PCR, aCGH, NGS) are considered in line with conventional prenatal karyotyping. The special attention is paid to efficacy, limitations and diagnostic options of noninvasive prenatal genetic testing (NIPT). Some particular problems of its widespread implication into routine clinical practice are discussed. State of art in preimplantation genetic diagnostics (PGD) and obvious great opportunities of preconceptional genetic testing are highlighted.

■ **Key words:** inherited disorders; non-invasive prenatal diagnosis; prenatal karyotyping; QF-PCR; array-based comparative genomic hybridization; genetic card of reproductive health, genetic testing.

Введение

Пренатальная диагностика (ПД) — раздел медицинской генетики, направленный на раннее выявление и профилактику наследственных заболеваний (НЗ) и врожденных пороков развития (ВПР), в последние годы получила особенно бурное развитие. В обзоре суммированы наиболее важные достижения ПД, достигнутые благодаря широкому внедрению новых молекулярно-генетических технологий, позволяющих с высокой точностью анализировать нарушения микроструктуры хромосом, генов и продуктов их экспрессии. Новые технологии, существенно увеличившие возможности ПД и делающие ее более эффективной и безопасной, позволяют значительно снизить естественный генетический груз наследственной патологии в популяции. Вместе с тем внедрение этих методов создает определенные организационные и методические трудности, делает необходимым вносить коррективы в устоявшийся за много лет традиционный алгоритм ПД.

Как совместить очевидные преимущества новых диагностических методов и подходов с существующим алгоритмом ПД? Как при этом

не растерять уже имеющийся положительный опыт врачей-акушеров, генетиков, лаборантов, привыкших к определенной последовательности действий в сложной иерархии алгоритмов основных и вспомогательных служб ПД? Каким образом обеспечить оптимум внедрения нового без очевидных потерь проверенного временем старого? Эти и другие проблемы, отражающие эволюцию понятий и идей в современной ПД, будут рассмотрены в заключительной части обзора.

Основные современные молекулярно-генетические технологии в ПД включают: молекулярную диагностику хромосомных болезней (1), микроделеционный анализ с помощью микрочипа (сравнительная геномная гибридизация — агау СГН) (2), доимплантационную диагностику хромосомных и генных болезней (3), неинвазивную ПД (НИПД) хромосомных и генных болезней методом секвенирования ДНК плода в крови матери (секвенирование нового поколения — NGS) (4), упредительное генетическое тестирование (УГТ) для выявления мутаций у супругов при планировании беременности (5).

1. Молекулярная диагностика хромосомных болезней у плода

Решающим успехом молекулярно-генетического подхода в ПД явился метод количественной флюоресцентной ПЦР (КФ-ПЦР), позволяющий резко повысить производительность ПД наиболее частых хромосомных болезней (трисомии по хромосомам 21, 13, 18, численные нарушения гоносом), на долю которых приходится свыше 95% всей хромосомной патологии у новорожденных. Диагностика возможна на любом сроке беременности и практически на любом материале плода, полученном при инвазивных вмешательствах. Секвенатор ABI 3100, который чаще всего используется для этих целей, позволяет анализировать 12–16 образцов в день и получать результаты уже на следующие сутки. Важно, что скорость анализа позволяет использовать метод КФ-ПЦР для получения информации о распространенных хромосомных аномалиях у плода в поздние сроки беременности [10]. Данный метод внедрен в ПД нашего института еще в 2008 г. [2]. В нашей лаборатории этим методом уже проведено около 2000 ПД, и почти в 100 случаях у плодов были выявлены хромосомные нарушения. Высокие производительность и чувствительность, рутинное использование для анализа клеток амниотической жидкости, а при необходимости — любых клеток плода, относительно низкая себестоимость по сравнению со стандартным кариотипированием не оставляют сомнения в необходимости его широкого использования в ПД.

За последние несколько лет метод получил широкое распространение благодаря появлению отечественных коммерческих наборов, необходимых для молекулярного маркирования анализируемых хромосом. Оригинальные наборы на соответствующие полиморфные локусы разработаны также и в нашей лаборатории [5]. Согласно нашему опыту, на каждую анализируемую хромосому важно иметь наборы олигопраймеров, достаточных для анализа не менее 5–6 полиморфных сайтов, что обычно гарантирует информативность теста. Однако в некоторых случаях все полиморфные аллели гомологичных хромосом могут оказаться одинаковыми, что делает их неинформативными и затрудняет диагностику методом КФ-ПЦР. Другим осложнением являются необычные варианты (аллели) маркерного локуса, наличие которых требует дополнительного исследования геномов родителей. Трудности диагностики касаются также численных нарушений половых хромосом и хромосомного мозаицизма.

Таким образом, несмотря на кажущуюся простоту, анализ методом КФ-ПЦР должен выполняться специалистом, имеющим навык

в молекулярно-генетических исследованиях. Учитывая селективность теста, следует также помнить, что он не заменяет стандартного кариотипирования плода, позволяющего выявить аномалии числа и структуры всех хромосом набора. В этой связи мы считаем более оправданным применение данного теста в группе риска женщин с измененными показателями сывороточных маркерных белков [1], а при наличии УЗ-маркеров предпочитаем использование стандартного кариотипирования.

Вместе с тем, согласно рекомендациям Европейского цитогенетического общества [12] возможно использование метода КФ-ПЦР и при наличии УЗ-маркеров хромосомной патологии у плода.

2. Сравнительная геномная гибридизация (СГГ) — метод array CGH

Метод позволяет сканировать весь геном человека с помощью коротких маркерных ДНК-последовательностей (микроматриц), расположенных в геноме в непосредственной близости друг от друга. Идентификация этих микроматриц с помощью специального сканера позволяет четко улавливать не только крупные хромосомные aberrации, но и мелкие, субмикроскопические нарушения (инделы), невидимые при микроскопическом анализе [4, 20, 21, 25]. Метод нашел широкое применение для идентификации маркерных хромосом, определения ДНК-последовательностей в точках разрыва при хромосомных перестройках, выявления несбалансированных хромосомных перестроек, а также числа и расположения в геноме варьирующих по длине ДНК-последовательностей, так называемых CNV (copy number variations), играющих важную роль в патологии человека. Важную роль имеет данный метод и для ПД [21]. Благодаря методу СГГ становится доступной диагностика многочисленных микроделеционных синдромов, повышается эффективность диагностики хромосомного мозаицизма. В последние годы, особенно в зарубежных центрах ПД, метод завоевал особенно большую популярность, поскольку его применение позволяет повысить эффективность ПД в среднем на 2–3% [9]. Американская ассоциация акушеров-гинекологов рекомендовала (2013) применять метод CGH для анализа всех плодов с УЗИ-маркерами при отсутствии видимых нарушений кариотипа [10]. Рассматривается целесообразность СГГ при обследовании бесплодных супружеских пар, а также в случае спонтанных аборт [8]. Согласно мнению ведущих специалистов по ПД, озвученному в июне 2012 г. на 16-й Международной конференции по пренатальной диагностике в г. Майами

(США) метод CGH уже в ближайшие годы полностью заменит стандартное кариотипирование в ПД хромосомных болезней. Однако пока этого не произошло. Более того, по многим своим параметрам метод CGH уступает методу полногеномного секвенирования.

Недостатками метода CGH являются его сравнительно высокая стоимость и сложности интерпретации результатов. Последнее становится особенно очевидным при выявлении у плода микронарушений, отсутствующих у его родителей. Наличие в интернете соответствующих программ и информационных баз данных (DECIPHER [13], DGV [11]) в значительной мере, хотя и не во всех случаях, помогает решить эти проблемы.

3. Доимплантационная диагностика хромосомных и генных болезней

Доимплантационная диагностика (ДД) хромосомных нарушений методом FISH на единичных изолированных клетках проводится уже более 20 лет. Сегодня ДД широко применяется в многочисленных коммерческих клиниках вспомогательных репродуктивных технологий в РФ. На единичных бластомерах дробящегося эмбриона, полярных тельцах или клетках трофобласта на стадии бластоцисты с успехом проводится ДД наиболее частых хромосомных и моногенных болезней. Важное преимущество такой диагностики — исключение наследственной патологии у эмбриона еще до имплантации. Ее недостатки — большие трудозатраты, высокая стоимость, необходимость экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). Вместе с тем она дает уникальную возможность семьям высокого риска, в том числе бесплодным супружеским парам, иметь здоровое потомство. В ноябре 2014 г. впервые в России в нашем институте была проведена ДД тяжелого заболевания — спинальной мышечной атрофии (болезни Верднига–Гоффмана), завершившаяся рождением здорового ребенка. Следует, однако, подчеркнуть, что в силу своей специфики ДД никогда не станет массовой и никогда не заменит ПД на постимплантационных стадиях развития [1].

Вместе с тем в последние годы отмечен новый подъем интереса ученых и специалистов ВРТ к ДД. Он обусловлен по крайней мере двумя важными обстоятельствами: новыми возможностями секвенирования нуклеотидной последовательности ДНК одной клетки и перспективами использования новых технологий для коррекции наследственных нарушений генома в гаметах и ранних зародышах.

Первое экзомное (клиническое) секвенирование кодирующей части генома в одной клетке зародыша человека, позволяющее выявить генные

мутации многих наследственных заболеваний, было осуществлено в 2012 г. [17]. Уже в следующем году появилось сообщение о рождении в Оксфорде (Великобритания) первого ребенка, геном из одного бластомера которого был просеквенирован на наличие генных и хромосомных мутаций, в том числе мутаций митохондриальных генов. При этом авторы использовали ускоренный вариант — так называемое таргетное секвенирование, которое позволило получить результаты уже через 16 часов. После трансплантации в матку родился здоровый ребенок без какой-либо наследственной патологии [26]. По мнению авторов, для повышения эффективности ВРТ метод может быть рекомендован для проверки на хромосомные и генные мутации всех эмбрионов перед трансплантацией в матку. С этой же целью разрабатывается вариант полногеномного секвенирования полярных тельц, ооцитов и одного бластомера от 8-клеточного зародыша.

Не менее впечатляет первый опыт коррекции наследственных нарушений непосредственно в ооцитах и зиготе. Так, 3 февраля 2015 г. правительство Великобритании одобрило трехродительское ЭКО, направленное на лечение бесплодия у женщин с митохондриальными болезнями, при котором для получения потомства используется материал двух яйцеклеток и одного сперматозоида [24]. Метод включает введение в ооцит больной женщины часть ооплазмы ооцита здоровой женщины. Таким способом в ооцитерепициенте восстанавливается набор нормальных митохондрий, что повышает эффективность оплодотворения и дробления таких ооцитов. Еще более фантастично выглядят эксперименты по направленной коррекции («редактированию») генома, которые в настоящее время широко проводятся в экспериментах на клеточных культурах. Для этого разработана специальная и довольно сложная технология CRISP-Cas9, позволяющая осуществлять направленные замены нуклеотидов в заданные локусы генома, и таким образом корректировать мутантные гены. Метод активно испытывается в экспериментах по генной терапии на клеточных культурах и лабораторных животных. Однако его практическое применение на человеке кажется весьма проблематичным в связи с возможной опасностью возникновения непредвиденных нарушений генома, которые могут наследоваться в нескольких поколениях. Альянс врачей по регенерационной медицине высказал серьезные опасения в связи с открывшимися возможностями «редактировать» геном человека на уровне гамет и дробящихся эмбрионов [18]. Таким образом, успехи ДНК-технологий, прежде всего секвенирования ДНК, оказали большое

влияние на ДД генных и хромосомных болезней. Есть все основания считать, что по мере совершенствования и, главное, удешевления этих технологий они станут основными.

4. Неинвазивная ПД хромосомных и генных болезней (НИПД)

Наблюдаемый в последние 10 лет удивительный прогресс технологии секвенирования ДНК позволил в миллионы раз снизить его цену, сделал стоимость секвенирования всего генома человека \$ 1000, а время анализа сократить до нескольких суток [19]. Естественным итогом такого прогресса явилась разработка НИПД хромосомных, а в настоящее время и генных болезней у плода, основанная на анализе микроколичеств свободной ДНК плода в крови беременной. Показано, что такая ДНК, происходящая из клеток трофобласта, появляется в крови с 5-й недели беременности, а после 9–10-й недели ее количества уже достаточно для НИПД.

Первые удачные результаты НИПД были получены китайским ученым Питером Ло в 2006 г. Вскоре метод был радикально усовершенствован и стал активно применяться несколькими ведущими центрами молекулярной диагностики США (Sequenom, Natera, Verinata, Ariosa). Уже в ноябре 2011 г. метод получил официальную поддержку Международной ассоциации по пренатальной диагностике (США) и стал широко использоваться вначале для ПД болезни Дауна (трисомии 21), а затем для трисомий по другим аутосомам (18, 13) и нарушений числа половых хромосом [6]. После ряда усовершенствований, прежде всего за счет увеличения числа прочтенных генома (ридов), метод стал применяться и для диагностики микрохромосомных перестроек, прежде всего микроделеционных синдромов (синдром Прадера Вилли, Ангельмана, Ди Джорджи и др.).

В 2014 г. НИПД была проведена почти у полумиллиона беременных женщин США, и более чем 200 тыс. женщин Китая. При этом в странах Западной Европы их число не превысило нескольких тысяч [23], а в России едва ли достигло 1000. Такая диспропорция объясняется, прежде всего, значительно более продвинутой в США и Китае технологией ДНК-секвенирования по сравнению с Европой. НИПД оказалась предметом большого бизнеса, ее потенциальный рынок оценивается на уровне около 1 млрд беременных женщин в год.

Признавая высокую эффективность и большую чувствительность НИПД, следует отметить и серьезные ограничения, связанные с ее применением:

1. Сравнительно высокая частота неудачных попыток НИПД (1,4–5,4%), вызванная низким содержанием ДНК плода в крови беременной, особенно у тучных женщин (для успешной НИПД содержание фетальной ДНК должно составлять не менее 4% от всей ДНК в сыворотке крови беременной женщины).
2. При риске хромосомной патологии (болезни Дауна) 1/100, определенном при комбинированном (УЗ+маркерные сывороточные белки) скрининге (КС) частота ложноположительных результатов при НИПД составляет около 1/6.
3. Серьезные сложности НИПД возникают при мозаицизме хромосом у матери или плода, при двойне, кровнородственном браке, ложном отцовстве.
4. Отсутствуют стандартные методические рекомендации, регламентирующие проведение теста и анализ его результатов.
5. Значительным препятствием, особенно в России, является и относительно высокая стоимость НИПД (около \$ 1500 в 2012 г.).
6. Отмечено, что применение НИПД ведет к увеличению числа прерываний беременности при выявлении патологии, не представляющей серьезной угрозы для жизни после рождения ребенка.

В 2012 г. Международной ассоциацией по пренатальной диагностике были сформулированы следующие рекомендации для врачей-генетиков, консультирующих беременных по вопросам пренатальной диагностики:

- при наличии позитивных результатов НИПД направлять женщину на инвазивную диагностику;
- при отрицательном результате указать, что НИПД не снимает риски других заболеваний;
- напомнить, что НИПД является не диагностическим, а, скорее, скринирующим тестом;
- при отказе клиента от инвазивной диагностики после проведения НИПД получить образец крови у новорожденного для кариотипирования или CGH;
- предоставить современную взвешенную информацию о перспективах развития и здоровья ребенка с болезнью Дауна.

Опрос врачей в 10 больших медицинских центрах США показал, что 79% респондентов поддерживают использование НИПД для скрининга синдрома Дауна, а 48% даже считают, что этот метод может полностью заменить всю ПД [6].

Проблемы ПД, связанные с внедрением в практику НИПД, были недавно подробно рассмотрены на очередной, 5-й конференции МАПД в Брисбене (Австралия). Там были

сформулированы следующие вопросы, определяющие стратегию дальнейшего развития всей службы ПД:

- Станет ли анализ свободной ДНК плода в крови беременной основным методом скрининга хромосомных болезней в I триместре беременности?
- Сохранятся ли в ПД рутинный амниоцентез и молекулярное кариотипирование как альтернатива неинвазивной пренатальной диагностике?
- Обеспечат ли геномные или протеомные технологии эффективную профилактику болезней у плода и неблагоприятных исходов беременности?
- Будет ли всем беременным предлагаться упреждающее генетическое тестирование (УГТ) собственного генома для профилактики врожденных аномалий плода?

Возможные ответы на эти вопросы с учетом определенной специфики и особенностей службы ПД в РФ будут даны в заключительной части обзора. Отметим только, что, согласно обобщенным современным данным, и мнению ведущих специалистов в области ПД в мире, таких как К. Николаидес, Г. Каккл, Е. Биянчи и др., несмотря на то что НИПД реально в 10 раз чувствительней стандартного биохимического (БС) и даже комбинированного скрининга (КС), тест не готов заменить инвазивную ПД и традиционное кариотипирование. В настоящее время он должен рассматриваться как первичный скринирующий тест на наличие анеуплоидии у плода [6, 19]. НИПД только дополняет КС, и при его позитивных результатах следует рекомендовать подтверждающую диагностику инвазивными методами [14].

5. Упреждающее (преконцепционное) генетическое тестирование

Прекоцепционная профилактика является одним из действенных и давно используемых в медицинской генетике подходов для снижения генетического груза, обусловленного генными и хромосомными болезнями [1]. Внедрение в пренатальную диагностику молекулярно-генетических тестов существенно расширило возможности прекоцепционной профилактики. В 2006 г., суммировав почти 20-летний опыт лаборатории пренатальной диагностики, нами была предложена для практического использования в акушерстве и гинекологии Генетическая карта репродуктивного здоровья (ГКРЗ), ранее подробно рассмотренная в наших статьях, руководствах, монографиях и методических рекомендациях [1]. Суть ГКРЗ — тестирование супругов на скры-

тое (гетерозиготное) носительство мутаций ряда частых тяжелых заболеваний и определение неблагоприятных сочетаний вариантов генов предрасположенности, угрожающих серьезными осложнениями беременности.

Успехи секвенирования генома, возможность быстрого и точного анализа мутаций в тысячах генов, в том числе мутаций, приводящих к тяжелым заболеваниям, способствовали быстрому росту популярности прекоцепционного генетического тестирования. Практическое применение с важным клиническим результатом имело место при упреждающем тестировании супругов на гетерозиготное носительство мутаций в генах спинальной мышечной атрофии, муковисцидоза, синдрома ломкой X-хромосомы [7, 16]. В 2013 г. был разработан микрочип для тестирования супругов на носительство 500 мутаций, ответственных за 10 различных частых моногенных заболеваний. При этом, как показало применение этого чипа, 35% всех тестируемых оказались гетерозиготами как минимум по одной мутации [22]. Широкий опрос врачей в США свидетельствует о том, что 67% респондентов являются сторонниками УГТ тяжелых болезней с ранней манифестацией [7]. Пока УГТ ограничивается только некоторыми конкретными заболеваниями, однако серьезно обсуждается возможность сделать УГТ массовым, расширив его возможности тестированием мутаций в генах 595 заболеваний с помощью экзомного (клинически значимого) секвенирования [7].

В нашей лаборатории созданы и проходят клинические испытания панели для одновременного скринирования 300 различных заболеваний (200 мутаций), маркеров ГКРЗ и генов наследственных форм кардиомиопатий и внезапной смерти.

Таким образом, наряду с НИПД УГТ, основанное преимущественно на массовом генетическом тестировании с помощью современных ДНК технологий, является реальным подходом к профилактике и диагностике частых хромосомных и генных мутаций.

Заключение

Нет сомнения, что все рассмотренные выше методы и подходы существенно увеличивают возможности ПД в отношении как сроков диагностики, так и повышению чувствительности тестирования наследственных и врожденных пороков у плода. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и ограничения, которые кратко рассмотрены в соответствующих разделах. Важно, однако, отметить, что ни один из них, за исключением метода FISH, не сертифициро-

ван в РФ и полученные с их помощью результаты требуют обязательной верификации другими методами. Наиболее близким к практическому применению является метод FISH, который уже широко используется для диагностики частых хромосомных болезней во II триместре беременности на клетках амниотической жидкости и ворсин хориона/плаценты, а также в доимплантационной диагностике (PGD).

Все большей популярностью в ПД пользуется и метод КФ-ПЦР для массовой диагностики (скрининга) частых хромосомных аномалий у плода. Следует еще раз отметить, что при своей кажущейся простоте, как показывает наш многолетний опыт, применение метода требует не только соответствующего оборудования (секвенатора типа ABI 3600), но, что особенно важно, специалиста высокой квалификации с большим опытом молекулярно-генетической диагностики.

Еще более высокие требования к квалификации специалиста предъявляет технология сравнительной геномной гибридизации (СГГ) на чипах. Помимо опыта молекулярно-генетического тестирования применение этого метода требует умения работы с соответствующими компьютерными программами, необходимыми для правильной интерпретации результатов анализа микрохромосомных перестроек.

Следует также подчеркнуть, что при анализе хромосомных аномалий молекулярными методами специалисты должны придерживаться рекомендаций, принятых Европейским цитогенетическим обществом [12], а для описания результатов, полученных методами FISH, КФ-ПЦР, СГГ и др., — использовать правила Международной системы по цитогенетической номенклатуре [15].

В силу всех этих обстоятельств методы КФ-ПЦР, СГГ, как и методы доимплантационной диагностики, не получили широкого распространения и применяются только в специализированных и нередко в частных центрах ВРТ и ПД.

Специального рассмотрения заслуживают методы НИПД, совершившие, по сути, качественный переворот в этой области.

Согласно существующим данным, эффективность выявления хромосомных аномалий у плода с помощью НИПД в 10 раз выше, чем при БС и КС [19].

Вместе с тем высокая стоимость теста даже по меркам США, неудачи, связанные с недостаточным количеством фетальной ДНК в крови беременной, частота ложноотрицательных результатов, неизвестная до настоящего времени,

и отсутствие стандартов НИПД являются серьезным препятствием для внедрения НИПД в качестве скринирующего теста [14].

Помимо перечисленных сложностей внедрение НИПД в России сопряжено с дополнительными трудностями как финансового, так и организационного плана. Прежде всего, за исключением одной отечественной фирмы в Москве, НИПД как коммерческую услугу предлагают многочисленные фирмы-посредники, отсылающие образцы крови беременной в крупные диагностические центры США и Китая. Поэтому на сегодняшний день следует признать, что как таковая технология НИПД в России отсутствует. Более того, как показывает зарубежный опыт (Великобритания, Австралия), необходимость форсированного внедрения в практику этой технологии представляется неоднозначной.

Особенно проблематичным представляется ее внедрение в службу ПД России. Более 30 лет ПД в России была регламентирована соответствующими приказами Минздрава РФ (№ 316 от 30.12.1993 г., № 457 от 28.12.2000 г., № 917 н от 15.11.2012 г.), которые определяли структуру центра ПД, количественный и качественный состав ее сотрудников, парк оборудования и объем нагрузок. Регламентировался и периодически менялся алгоритм ПД. Наиболее значимые изменения в отечественной ПД произошли в 2010 г., когда сначала избирательно, а затем повсеместно была внедрена новая территориальная программа ПД, итоги которой были подведены на конференции в Казани в августе 2014 г. [3]. Данная программа способствовала существенному повышению (в среднем >50%) эффективности ПД хромосомных болезней у плода, особенно болезни Дауна. Форсированное внедрение НИПД в РФ даже без учета ее высокой стоимости, методических, технических и других ограничений таит в себе реальную угрозу разрушения сложившегося алгоритма ПД в России, нивелирования ценных диагностических преимуществ, которые дают для матери и плода БС и КС, более универсальные, но значительно менее специфичные, чем НИПД. С внедрением НИПД дополнительная серьезная нагрузка в плане первичного и пост-тестового консультирования при НИПД ложится и на врачей-генетиков.

Поэтому на данном этапе в России, как и во многих странах, целесообразно сохранить уже годами сложившийся алгоритм ПД, дополняя ее при возможности или необходимости НИПД в I триместре беременности, т.е. относиться к ней как к высокоинформативному скринирующему, а не диагностическому тесту [6, 19]. Таким образом, внедрение новой технологии

не должно сопровождаться революционной ломкой предшествующей системы, но должно сохранять ранее накопленный опыт.

Означает ли это отказ от внедрения новых молекулярно-генетических методов, в том числе метода НИПД, в службу ПД? Конечно, нет, оно лишь подчеркивает необходимость взвешенного подхода к новым революционным преобразованиям и технологиям.

Следует, в частности, напомнить об определенной иерархии учреждений ПД в России, схематически представлявшей собой пирамиду, основание которой составляли многочисленные ЖК, ее промежуточное звено — региональные и межрайонные МГЦ, а вершину — несколько федеральных медико-генетических центров (ФМГЦ), организованных на базе ведущих профильных научно-исследовательских институтов. Именно такие центры, располагающие кадрами соответствующей квалификации, необходимым оборудованием и опытом работы, были и остаются основными проводниками для внедрения новых технологий. Одним из таких ФМГЦ много лет являлся Институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта, в котором были разработаны, апробированы и внедрены в практику многочисленные цитогенетические, биохимические и молекулярные методы ПД, широко используемые поныне не только в Санкт-Петербурге, но и в многочисленных центрах ПД в РФ.

Считаем целесообразным и исторически оправданным возрождение ранее существовавшей иерархии службы ПД в РФ с четко прописанной регламентацией деятельности и финансового обеспечения всех ее составляющих, что необходимо для эффективного взаимодействия. Такая структура позволит не только сохранить преемственность алгоритмов ПД в новых условиях, но и будет способствовать более рациональному внедрению в практику новых технологий и методов, позволит избежать многих серьезных ошибок.

Статья представлена Э.К. Айламазяном,
ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О.Отта»,
Санкт-Петербург

Литература

- Баранов В.С., Айламазян Э.К., ред. Современные алгоритмы и новые возможности пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний: Методические рекомендации. СПб.: Изд-во Н-Л, 2013.
- Демин Г.С., Иващенко Т.Э., Федорова И.Д., Белоцерковский И.К., Чиряева О.Г., Петрова Л.И., Садик Н.А., Дудкина В.С., Кузнецова Т.В., Баранов В.С. Особенности пренатальной диагностики хромосомных болезней с помощью метода количественной флуоресцентной ПЦР. Медицинская генетика. 2008; 7 (5): 20–25.
- Жученко Л.А., Голошубов П.А., Андреева Е.Н., Калашникова Е.А., Юдина Е.В., Ижевская В.Л. Анализ результатов раннего пренатального скрининга, выполняющегося по национальному приоритетному проекту «Здоровье» в субъектах Российской Федерации. Результаты российского мультицентрового исследования «Аудит-2014». Медицинская генетика. 2014; 13 (144): 3–54.
- Лебедев И.Н., Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А., Никитина Т.В., Лопаткина М.Е., Мельников А.А., Саженова Е.А. Матричная сравнительная геномная гибридизация (array-CGH) в диагностике хромосомного дисбаланса и CNV-полиморфизма при анэмбрионии. Ж. акуш. и жен. болезн. 2013; 62 (2): 117–25.
- Тарасенко О.А., Насыхова Ю.А., Иващенко Т.Э., Коротев А.Л., Николаева Ю.А., Талантова О.Е., Чиряева О.Г., Петрова Л.И., Садик Н.А., Дудкина В.С., Баранов В.С. Пренатальная диагностика наиболее распространенных хромосомных аномалий методом QF-PCR в Санкт-Петербурге. Медицинская генетика. 2012; 11 (118): 42–49.
- Benn P, Chapman AR, Erickson K, Defrancesco MS, Wilkins-Haug L, Egan JF, Schulkin J. Obstetricians and gynecologists' practice and opinions of expanded carrier testing and noninvasive prenatal testing. Prenat Diagn. 2014; 34 (2): 145–52.
- Benn P. Mendelian disorders: universal carrier testing. Prenatal screening perspectives. 2011; 16: 4.
- Bug S, Solfrank B, Schmitz F, Pricelius J, Stecher M, Craig A, Botcherby M, Nevinny-Stickel-Hinzpeter C. Bug S, Solfrank B, Schmitz F, et al. Diagnostic utility of novel combined arrays for genome-wide simultaneous detection of aneuploidy and uniparental isodisomy in losses of pregnancy. Molecular Cytogenetics. 2014; 7:43. Available at: <http://www.molecularcytogenetics.org/content/7/1/43>.
- Callaway J.L., Shaffer L.G., Chitty L.S., Rosenfeld J.A., Crolla J.A. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature. Prenat. Diagn. 2013; 33 (12):1119–23.
- Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Obstet Gynecol. 2013; 122 (6): 1374–7.
- DGV-Database of Genomic Variants). URL: <http://projects.tcag.ca>.
- E.C.A. Cytogenetic Guidelines and Quality Assurance. E.C.A. Newsletter. 2012; N 29: 7–25.
- Ensembl (DECIPHER-Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources) URL: <https://decipher.sanger.ac.uk>.
- Hui L, Teoh M, da Silva Costa F, Ramsay P, Palma-Dias R, Richmond Z, Piessens S, Walker S; Australian NIPT collaboration. Clinical implementation of cell-free DNA-based aneuploidy screening: perspectives from a national audit. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015; 45 (1): 10–15.

15. ISCN (2013): An international system for human cytogenetic nomenclature, L. G. Shaffer, J. McGowan-Jordan, M. Schmid (eds); S. Karger, Basel 2013.
16. Kingsmore S. Preconceptional testing by next generation sequencing *Reprod Biomedicine Online*. 2012; 24 (suppl. 2): S27–S29.
17. Kitzman JO, Snyder MW, Ventura M, Lewis AP, Qiu R, Simmons LE, Gammill HS, Rubens CE, Santillan DA, Murray JC, Tabor HK, Bamshad MJ, Eichler EE, Shendure J. Noninvasive whole-genome sequencing of a human fetus. *Sci Transl Med*. 2012; 4 (137): 137.
18. Lanphier E, Urnov F, Haecker SE, Werner M, Smolenski J. Don't edit the human germ line. *Nature*. 2015; 519 (7544): 410–1.
19. Nicolaides K.H., Syngelaki A., Gil M., Atanasova V., Markova D. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y. *Prenat Diagn* 2013; 33 (6): 575–9.
20. Novelli A, Cavalli P, Bernardini L. The future of prenatal diagnosis: karyotype, microarray or both? Technical and ethical considerations. *Expert Rev Proteomics*. 2013; 10 (2):131–4.
21. Shaffer I.G, Van der Veiver. New technologies for assessment of chromosomes in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*. 2012; 32 (4): 307–309.
22. Srinivasan BS, Evans EA, Flannick J, Patterson AS, Chang CC, Pham T, Young S, Kaushal A, Lee J, Jacobson JL, Patrizio P. A universal carrier test for the long tail of Mendelian disease. *Reprod Biomed Online*. 2010 Oct;21 (4):537–51.
23. Stumm M, Entezami M, Haug K, Blank C, Wüstemann M, Schulze B, Raabe-Meyer G, Hempel M, Schelling M, Ostermayer E, Langer-Freitag S, Burkhardt T, Zimmermann R, Schleicher T, Weil B, Schöck U, Smerdka P, Grömminger S, Kumar Y, Hofmann W. Diagnostic accuracy of random massively parallel sequencing for non-invasive prenatal detection of common autosomal aneuploidies: a collaborative study in Europe. *Prenat Diagn*. 2014; 34 (2): 185–91.
24. Torjesen I. UK moves a step closer to being first country in world to allow "three parent babies". *BMJ*. 2013; 346: 1899.
25. Wapner R.J., Martin C.L., Levy B., Ballif B.C., Eng C.M., Zachary J.M., Savage M., Platt L.D., Saltzman D., Grobman W.A., Klugman S., Scholl T., Simpson J.L., McCall K., Aggarwal V.S., Bunke B., Nahum O., Patel A., Lamb A.N., Thom E.A., Beaudet A.L., Ledbetter D.H., Shaffer L.G., Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*. 2012; 367 (23): 2175–84.
26. Wells D, Kaur K, Grifo J, Glassner M, Taylor JC, Fragouli E, Munne S. Clinical utilisation of a rapid low-pass whole genome sequencing technique for the diagnosis of aneuploidy in human embryos prior to implantation. *J Med Genet*. 2014; 51(8): 553–62.
27. Baranov V.S., Ivashchenko T.E., Fedorova I.D., Belotserkovskiy I.K., Chiryayeva O.G., Petrova L.I., Sadik N.A., Dudkina B.C., Kuznetsova T.V., Baranov B.C. Osobennosti prenatal'noy diagnostiki khromosomnykh bolezney s pomoshch'yu metoda kolichestvennoy fluorestsentnoy PTsR [Prenatal diagnosis of chromosome abnormalities by quantitative fluorescent PCR]. *Meditinskaya genetika*. 2008; 7 (5): 20–25. (in Russian).
28. Zhuchenko L.A., Goloshubov P.A., Andreeva E.N., Kalashnikova E.A., Yudina E.V., Izhevskaya V.L. Analiz rezul'tatov rannego prenatal'nogo skrininga, vypolnyayushchegosya po natsional'nomu prioritetnomu proektu «Zdorov'e» v subektakh Rossiyskoy Federatsii. Rezul'taty rossiyskogo mul'titsentrovogo issledovaniya «Audit-2014». [Analysis of the results of early prenatal screening activities of the national priority project «Health» in the Russian Federation regions. Results of Russian multicenter study «Audit-2014»]. *Meditinskaya genetika*. 2014; 13 (144): 3–54. (in Russian).
29. Lebedev I.N., Kashevarova A.A., Skryabin N.A., Nikitina T.V., Lopatkina M.E., Melnikov A.A., Sazhenova E.A. Matrichnaya sravnitel'naya genomnaya gibridizatsiya (array-CGH) v diagnostike khromosomnogo disbalansa i CNV-polimorfizma pri anembrionii. *Zh. akush. i zhen. bolezni*. 2013; 62 (2): 117–125. (in Russian).
30. Tarasenko O.A., Nasykhova Yu.A., Ivashchenko T.E., Koroteev A.L., Nikolaeva Yu.A., Talantova O.E., Chiryayeva O.G., Petrova L.I., Sadik N.A., Dudkina V.S., Baranov V.S. Prenatal'naya diagnostika naibolee rasprostranennykh khromosomnykh anomalii metodom QF-PCR v Sankt-Peterburge [Prenatal diagnostics of the most widespread chromosomal anomalies by QF-PCR method in St. Petersburg]. *Meditinskaya genetika*. 2012; 11 (118): 42–49. (in Russian).
31. Benn P, Chapman AR, Erickson K, Defrancesco MS, Wilkins-Haug L, Egan JF, Schulkin J. Obstetricians and gynecologists' practice and opinions of expanded carrier testing and noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn*. 2014; 34 (2): 145–152.
32. Benn P. Mendelian disorders: universal carrier testing. *Prenatal screening perspectives*. 2011; 16: 4.
33. Bug S, Solfrank B, Schmitz F, Pricelius J, Stecher M, Craig A, Botcherby M, Nevinny-Stickel-Hinzpeter C. Bug S, Solfrank B, Schmitz F, et al. Diagnostic utility of novel combined arrays for genome-wide simultaneous detection of aneuploidy and uniparental isodisomy in losses of pregnancy. *Molecular Cytogenetics*. 2014; 7:43. Available at: <http://www.molecularcytogenetics.org/content/7/1/43>.
34. Callaway J.L., Shaffer L.G., Chitty L.S., Rosenfeld J.A., Crolla J.A. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature. *Prenat Diagn*. 2013; 33 (12): 1119–23.
35. Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. *Obstet Gynecol*. 2013; 122 (6): 1374–7.

References

1. Baranov V.S., Ajlamazjan Je.K., ed. *Sovremennyye algoritmy i novye vozmozhnosti prenatal'noj diagnostiki nasledstvennykh i vrozhdennykh zabolevaniy: Metodicheskie rekomendatsii* [Modern algorithms and new opportunities of prenatal diagnosis of hereditary and congenital diseases: Methodical recommendations]. SPb.: Izd-vo N-L, 2013. (in Russian).

11. DGV-Database of Genomic Variants) URL: <http://projects.tcag.ca>.
12. E. C. A. Cytogenetic Guidelines and Quality Assurance. E. C. A. Newsletter. 2012; N 29: 7–25.
13. Ensembl (DECIPHER-Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources) URL: <https://decipher.sanger.ac.uk>.
14. Hui L, Teoh M, da Silva Costa F, Ramsay P, Palma-Dias R, Richmond Z, Piessens S, Walker S; Australian NIPT collaboration. Clinical implementation of cell-free DNA-based aneuploidy screening: perspectives from a national audit. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015; 45 (1): 10–15.
15. ISCN (2013): An international system for human cytogenetic nomenclature, L. G. Shaffer, J. McGowan-Jordan, M. Schmid (eds); S. Karger, Basel 2013.
16. Kingsmore S. Preconceptional testing by next generation sequencing *Reprod Biomedicine Online*. 2012; 24 (suppl 2): S27–S29.
17. Kitzman JO, Snyder MW, Ventura M, Lewis AP, Qiu R, Simmons LE, Gammill HS, Rubens CE, Santillan DA, Murray JC, Tabor HK, Bamshad MJ, Eichler EE, Shendure J. Noninvasive whole-genome sequencing of a human fetus. *Sci Transl Med*. 2012; 4 (137): 137.
18. Lanphier E, Urnov F, Haecker SE, Werner M, Smolenski J. Don't edit the human germ line. *Nature*. 2015; 519 (7544):410–1.
19. Nicolaidis K. H., Syngelaki A., Gil M., Atanasova V., Markova D. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y. *Prenat Diagn* 2013; 33 (6): 575–9.
20. Novelli A, Cavalli P, Bernardini L. The future of prenatal diagnosis: karyotype, microarray or both? Technical and ethical considerations. *Expert Rev Proteomics*. 2013; 10(2):131–4.
21. Shaffer I.G, Van der Veiver. New technologies for assessment of chromosomes in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*. 2012; 32 (4): 307–9.
22. Srinivasan BS1, Evans EA, Flannick J, Patterson AS, Chang CC, Pham T, Young S, Kaushal A, Lee J, Jacobson JL, Patrizio P. A universal carrier test for the long tail of Mendelian disease. *Reprod Biomed Online*. 2010 Oct; 21 (4): 537–51.
23. Stumm M, Entezami M, Haug K, Blank C, Wüstemann M, Schulze B, Raabe-Meyer G, Hempel M, Schelling M, Ostermayer E, Langer-Freitag S, Burkhardt T, Zimmermann R, Schleicher T, Weil B, Schöck U, Smerdka P, Grömminger S, Kumar Y, Hofmann W. Diagnostic accuracy of random massively parallel sequencing for non-invasive prenatal detection of common autosomal aneuploidies: a collaborative study in Europe. *Prenat Diagn*. 2014; 34 (2): 185–91.
24. Torjesen I. UK moves a step closer to being first country in world to allow “three parent babies”. *BMJ*. 2013; 346: 1899.
25. Wapner R.J., Martin C.L., Levy B., Ballif B.C., Eng C.M., Zachary J.M., Savage M., Platt L.D., Saltzman D., Grobman W.A., Klugman S., Scholl T., Simpson J.L., McCall K., Aggarwal V.S., Bunke B., Nahum O., Patel A., Lamb A.N., Thom E.A., Beaudet A.L., Ledbetter D.H., Shaffer L.G., Jackson L. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med*. 2012; 367 (23): 2175–84.
26. Wells D, Kaur K, Grifo J, Glassner M, Taylor JC, Fragouli E, Munne S. Clinical utilisation of a rapid low-pass whole genome sequencing technique for the diagnosis of aneuploidy in human embryos prior to implantation. *J Med Genet*. 2014; 51 (8): 553–62.

■ Адреса авторов для переписки

Баранов Владислав Сергеевич — заведующий лабораторией пренатальной диагностики. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: baranov@VB2475.spb.edu.

Кузнецова Татьяна Владимировна — вед. науч. сотр. лаборатории пренатальной диагностики. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: tkuznetzova@mail.ru.

Baranov Vladislav Sergeevich — head of Laboratory of prenatal diagnosis of inherited and inborn disorders. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia. **E-mail:** baranov@VB2475.spb.edu.

Kuznetzova Tatyana Vladimirovna — leading researcher of Laboratory of prenatal diagnosis of inherited and inborn disorders. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia. **E-mail:** tkuznetzova@mail.ru.