

ПРИМЕНЕНИЕ ДНК СКРИНИНГА КАК ОДИН ИЗ НЕОБХОДИМЫХ ФАКТОРОВ ПОДДЕРЖАНИЯ КОЛЛЕКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ НАЦИИ

APPLICATION OF DNA SCREENING AS ONE OF THE NECESSARY FACTORS FOR SUPPORTING THE COLLECTIVE HEALTH OF THE NATION

**A. Tsekhomsky
L. Nefedova**

Summary. The purpose of this study is to analyze data on DNA screening as a defining direction in medical genetic counseling and one of the key factors in the formation of a healthy gene pool of the nation. In recent years, DNA screening has taken a leading position among the methods of prenatal diagnosis of congenital diseases and in the future may become a mass phenomenon. Originating in the 70s of the last century, this method has become the safest and fastest way to diagnose trisomy on chromosome 21 and some other aneuploidies. Justification of the reasonableness of using this method is one of the objectives of this study. In the course of the work, articles, monographs, final and qualifying works on the topic under consideration were analyzed. The depth of the search was more than 25 years, which eliminates the possibility of losing sight of the opportunities that this method provides, and the disadvantages that its use entails.

Keywords: medical genetic counseling, DNA, enzyme, genome, screening.

Цехомский Александр Вячеславович
Кубанский Государственный Медицинский
Университет
aastartov12@mail.ru

Нефедова Лариса Владимировна
К.м.н

Кубанский Государственный Медицинский
Университет
lorich11@mail.ru

Аннотация. Целью данного исследования является анализ данных по ДНК скринингу как определяющему направлению в медико-генетическом консультировании и одному из ключевых факторов в формировании здорового генофонда нации. В последние годы ДНК скрининг занимает лидирующие позиции среди методов пренатальной диагностики врожденных заболеваний и в перспективе может стать явлением массового характера. Возникший в 70-е годы прошлого века, этот метод успел стать наиболее безопасным и быстрым способом диагностики трисомии по 21 хромосоме и некоторых других анеуплоидий. Обоснование разумности использования данного метода является одной из задач этого исследования. В ходе работы были проанализированы статьи, монографии, выпускные и квалификационные работы по рассматриваемой теме. Глубина поиска составила более 25 лет, что исключает возможность упустить из виду возможности, которые предоставляет этот метод, и недостатки, которые несет за собой его использование.

Ключевые слова: медико-генетическое консультирование, ДНК, фермент, геном, скрининг.

Метод неинвазивного ДНК скрининга появился в 70-х годах прошлого века и с тех пор непрерывно развивался. В последние годы стал особо популярен ввиду развития технологий по секвенированию генома. На данный момент стоимость такой процедуры составляет около 100 долларов, а сроки проведения — до 5 дней. До изобретения метода всем женщинам после 35 лет были рекомендованы инвазивные способы диагностики врожденных патологий плода. Однако, после введения ДНК скрининга в клиническую практику такая необходимость отпала. В 2008 году Денис Ло показал возможность внедрения методики

геномного секвенирования нового поколения (next generation sequencing). После официального признания результативности методика получила поддержку со стороны многих компаний, в частности из США. В ноябре 2011 года методика получила поддержку Международной ассоциации по пренатальной диагностике. Сначала ее использовали для диагностики только синдрома Дауна, но вскоре стали применять для определения других трисомий. После доработки стала возможна диагностика делеционных синдромов (например синдрома Вольфа-Хиршхорна и синдрома кошачьего крика). В России способ зарегистрирован сравнительно

недавно, первый аналог технологии появился в частном секторе в 2014 году, а государственную поддержку получил лишь в 2018. Однако, около половины тестов (20 000 в год) отправляются за рубеж для анализа в лабораториях других стран. Это сильно увеличивает стоимость процедуры в российском сегменте рынка медицинских услуг и время подготовки заключения (вместо 3 дней процедура занимает 14) [1].

Существует два глобальных подхода и несколько конкретных методов проведения неизвазивного ДНК скрининга. Первый глобальный подход — полногеномный. В этом случае производят полногеномное массовое параллельное секвенирование ДНК с низким покрытием — 0,3–0,5X. После чего происходит расчет соотношения копий соотношения фрагментов ДНК различных хромосом плода к таковым у матери. Такой способ позволяет выявить анеуплоидию по всем хромосомам. Второй подход — таргетный. От первого его отличает большое покрытие (200–1000X). Такой подход может быть реализован методами ПЦР (или цифровой ПЦР в реальном времени) или методом “катыщегося кольца”. В рамках такого подхода возможно выявление синдрома Дауна, синдрома Эдвардса, синдрома Патау, синдрома Шершевского-Тернера, синдрома Кляйнфельтера [1]. Оба метода имеют свои достоинства и недостатки, которые будут рассмотрены позже. А сейчас дадим краткие сведения о самой технологии проведения НИПТ. Первая стадия проведения исследования — забор венозной крови в стандартной дозе 10 мл. Затем из крови выделяют плазму. Из плазмы, в свою очередь, выделяется внеклеточная ДНК, содержащая материнскую ДНК и так называемую фетальную фракцию. Фетальная фракция — это доля ДНК плода среди всей ДНК в крови матери. Фетальная фракция появляется в крови матери на 4 неделе беременности, а на 9 неделе ее становится достаточно для проведения исследования. Существует вариативность в способах определения фетальной фракции [25]. Так, она может определяться с использованием ПЦР в реальном времени, биоинформатическим анализом или сравнением паттернов метилирования. Второе применяется наиболее часто [1]. В выборе методов биоинформатического метода предпочтение могут отдавать выравниванию биологических последовательностей или точечной матрице сходства. Эти методы позволяют установить степень гомологичности фетальной фракции ДНК матери, и, соответственно, разделить их. Биоинформатика позволяет провести тщательную фильтрацию данных и выявить погрешность. Для секвенирования генома могут применяться разные платформы, такие как Illumina или BG1.

Теперь рассмотрим положительные и отрицательные стороны двух подходов, о которых мы говорили ранее. Полногеномный подход позволяет выявить ане-

уплоидии во всех парах хромосом и носит точность до 98%, при этом с его помощью также могут быть выявлены микроделеционные синдромы. Недостатков этот метод, за исключением трудоемкости, не имеет. Таргетный же метод имеет более высокую специфичность, чем полногеномный, может проводиться с широким покрытием, но имеет свои отрицательные стороны. В частности, он позволяет выявить только 85% всех хромосомных анеуплоидий.

Говоря о специфичности, нельзя не упомянуть, что НИПТ позиционируется в современной литературе именно как скрининговый метод, не диагностический. Метаанализов, содержащих данные о проведении неизвазивного скрининга, очень много, и все они заявляют специфичность метода на уровне 98–99,9% для синдрома Дауна, и в некоторой степени ниже для синдромов Патау и Эдвардса при одноплодных беременностях [30–31]. У близнецов специфичность также ниже, но не на много. Стоит отметить, что так как НИПТ является скрининговым методом, наличие положительного результата не означает наличие патологии, а лишь дает понять клиницисту, что существует риск рождения ребенка с неблагоприятным фенотипом. Также как и отрицательный результат не говорит о факте отсутствия дефектов в геноме, а лишь о минимальном риске их возникновения.

На данный момент каждый год в России проводится порядка 30–40 тысяч скрининговых ДНК процедур. Однако, около половины из них отправляется за рубеж. Российские компании, в том числе и государственные, не обладают новейшим оборудованием для проведения секвенирования генома. В то же время, НИПТ имеет ряд преимуществ перед инвазивными способами. НИПТ не требует вмешательства в беременность, имеет высокую специфичность и малую долю ложноположительных результатов (0,3%) в отличие от традиционного комбинированного скрининга первого триместра (3,6%). С коммерческой точки зрения использование НИПТ оправдано. Т. к. количество беременностей после 40 лет в России обычно не превышает 60 000 в год (56,86 тысяч за 2021 год по данным министерства труда). Постановка технологии НИПТ на поток может быть осуществлена за счет средств государственного бюджета и частных медицинских страховых компаний, но только при условии развития отрасли в России. Для этого необходимо увеличить поставки высокоточного оборудования из-за рубежа, а также наладить выпуск соответствующих узкопрофильных специалистов. При условии, что каждая женщина с беременностью после 40 лет будет проходить через процедуру скрининга, возможно полное искоренение или значительное уменьшение числа случаев рождения детей с тяжелыми клиническими генотипами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калашникова Е.А., Готов А.С., Андреева Е.Н., Барков И.Ю., Бобровник Г.Ю., Дубровина Е.В., Жученко Л.А. Современное значение неинвазивного пренатального исследования внеклеточной ДНК плода в крови матери и перспективы его применения в системе массового скрининга беременных в Российской Федерации // Журнал акушерства и женских болезней. 2021. Т. 70. № 1. С. 19–50. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD56573>
2. Bianchi D.W., Chiu R.W.K. Sequencing of circulating cell-free DNA during pregnancy // N. Engl. J. Med. 2018. Vol. 379. No. 5. P. 464–473. doi: 10.1056/NEJMra1705345
3. Taglauer E.S., Wilkins-Haug L., Bianchi D.W. Review: cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease // Placenta. 2014. Vol. 35. Suppl. P. S64–S68. doi: 10.1016/j.placenta.2013.11.014
4. Alberry M, Maddocks D, Jones M, Abdel Hadi M, Abdel-Fattah S, Avent N, Soothill PW. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis. 2007; 27 (5): 415–8
5. Tamminga S, van Maarle M, Henneman L, Oudejans CB, Cornel MC, Sijm EA. Maternal plasma DNA and RNA sequencing for prenatal testing. Advances in clinical chemistry. 2016; (74): 63–102.
6. Zhao C, Tynan J, Ehrich M, Hannum G, McCullough R, Saldivar JS, Deciu C. Detection of fetal subchromosomal abnormalities by sequencing circulating cell-free DNA from maternal plasma. Clinical chemistry. 2015.
7. Емельяненко Е.С., Ветрова Н.В., Масюк С.В. и др. Клиническая и экономическая эффективность методов пренатальной диагностики хромосомных аномалий // Доктор.Ру. 2016. № 3 (120). С. 43–51.
8. Sayres L.C., Allyse M., Goodspeed T.A., Cho M.K. Demographic and experiential correlates of public attitudes towards cell-free fetal DNA screening // J. Genet. Couns. 2014. Vol. 23. No. 6. P. 957–967. doi: 10.1007/s10897-014-9704-9
9. Di Renzo G.C., Bartha J.L., Bilardo C.M. Expanding the indications for cell-free DNA in the maternal circulation: clinical considerations and implications // Am. J. Obstet. Gynecol. 2019. Vol. 220. P. 537–542. doi: 10.1016/j.ajog.2019.01.009
10. Сухих Г.Т., Каретникова Н.А., Баранова Е.Е., Шубина Е.С. и др. Неинвазивная пренатальная диагностика анеуплоидий методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) в группе женщин высокого риска // Акуш. и гин. 2015. Т. 15, № 4. С. 5–9.
11. Morin S., Greene M.F., Mello M.M. et al. A new era in noninvasive prenatal testing // N. Engl. J. Med. 2015. Vol. 369. P. 499–501.
12. Малышева О.В., Баранов В.С. Неинвазивная пренатальная диагностика. Проблемы, подходы и перспективы // Журн. акуш. и женских бол. 2012. Т. LXI, № 3. С. 83–93.
13. Wald NJ, Hackshaw AK. Combining ultrasound and biochemistry in first-trimester screening for Down's syndrome. Prenatal diagnosis. 1997; 17 (9): 821–9.
14. Straver R, Oudejans C, Sijm EA, Reinders MJ. Calculating the fetal fraction for noninvasive prenatal testing based on genome-wide nucleosome profiles. Prenatal diagnosis. 2016; 36 (7): 614–21.
15. Lo YD, Chan KA, Sun H, Chen EZ, Jiang P, Lun FM, et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. Science translational medicine. 2010; 2 (61): 61ra91–61ra91.
16. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. Prenatal diagnosis. 2013; 33 (7): 662–6.
17. Баранова Е.Е., Заяева Е.Е., Жученко Л.А. и др. Результаты опроса беременных об их предпочтениях пренатальных тестов с разными характеристиками // Медицинская генетика. 2020. № 3. С. 74–75. doi: 10.25557/2073-7998.2020.03.74-75
18. Dondorp W., de Wert G., Bombard Y. et al.; European Society of Human Genetics; American Society of Human Genetics. Noninvasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening // Eur. J. Hum. Genet. 2015. Vol. 23. No. 11. P. 1438–1450. doi: 10.1038/ejhg.2015.57
19. Благодатских Е.Г. Использование циркулирующих ДНК и мРНК для неинвазивного пренатального определения пола, резус фактора и диагностики синдрома Дауна у плода: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2010. 23 с.
20. Tazim Dowlut-McElroy, Shanlee Davis, Susan Howell, Iris Gutmark-Little, Vaneeta Bamba, Siddharth Prakash, Sheetal Patel, Doris Fadoju, Nandini Vijayakanthi, Mary Haag, Deborrah Hennerich, Lorraine Dugoff, Roopa Kanakatti Shankar, Cell-free DNA screening positive for monosomy X: clinical evaluation and management of suspected maternal or fetal Turner syndrome, American Journal of Obstetrics and Gynecology, 2022, ISSN0002-9378, <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2022.07.004>.
21. Nicolaidis K.H. Musci T.J. Struble C.A. Syngelaki A. Gil M.M. Assessment of fetal sex chromosome aneuploidy using directed cell-free DNA analysis. Fetal Diagn Ther. 2014.
22. L.S. Chitty, D.W. Bianchi, Noninvasive prenatal testing: the paradigm is shifting rapidly, Prenat Diagn, 33 (2013), pp. 511–513
23. Lee MY, Cho DY, Won HS, Hwang AR, Jeong B, Kim J, Oh M. Performance of Momguard, a new non-invasive prenatal testing protocol developed in Korea. ObstetGynecol Sci 2015;58: 340–345
24. Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, Leeflang MM, Sterne JA, Bossuyt PM; QUADAS-2 Group. QUADAS-2: a revised tool for the quality
25. Ким Л.В., Тетрашвили Н.К., Трофимов Д.Ю., Барков И.Ю., Шубина Е.С., Парсаданян Н.Г., Федорова Н.И., Гольцов А.Ю. Результаты комбинированного и неинвазивного пренатального скрининга методом высокопроизводительного секвенирования при прогнозировании хромосомных анеуплоидий плода у женщин с привычным выкидышем. АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ: новости, мнения, обучение № 4 2017

26. Kim S, Jung H, Han SH, Lee S, Kwon J, Kim MG, Chu H, Chen H, Han K, Kwak H, Park S, Joo HJ, Kim BC, Bhak J. Comparison of two high-throughput semiconductor chip sequencing platforms in noninvasive prenatal testing for Down syndrome in early pregnancy. *BMC Med Genomics* 2016;9: 22.
27. Огурцов А.Н. Методы биоинформационного анализа: учеб. пособие по курсу «Биоинформатика и информационная биотехнология» для студ. направл. подг. 051401 «Биотехнология», в т.ч. иностр. студ. / А.Н. Огурцов. — Харьков.: НТУ «ХПИ», 2011. — 114 с. — На рус. яз. ISBN978–966–593–931–3
28. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45: 249–266.
29. Nicolaides KH, Wright D, Poon LC, Syngelaki A, Gil MM. First-trimester contingent screening for trisomy 21 by biomarkers and maternal blood cell-free DNA testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;42: 41–50.
30. Taylor-Phillips S., Freeman K., Geppert J. et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis // *BMJ Open*. 2016. Vol. 6. No. 1. P. e010002. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010002 22.
31. Gil M.M., Galeva S., Jani J. et al. Screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in twin pregnancy: update of The Fetal Medicine Foundation results and meta-analysis // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2019. Vol. 53. No. 6. P. 734–742. doi: 10.1002/uog.20284
32. Helgeson J., Wardrop J., Boomer T. et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing // *Prenat. Diagn.* 2015. Vol. 35. No. 10. P. 999–1004. doi: 10.1002/pd.4640
33. Ma J, Wang Y, Wang W, Dong Y, Xu C, Zhou A, Xu Z, Wu Z, Tang X, Chen F, Yin Y, Wang W, Yan M, Zhang W, Mu F, Yang H. Validation of combinatorial probe-anchor ligation (cPAL) based sequencing method for non-invasive prenatal testing in trisomy detection by a central laboratory. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017;50:49–57
34. Chitty LS, Wright D, Hill M, Verhoef TI, Daley R, Lewis C, Mason S, McKay F, Jenkins L, Howarth A, Cameron L, McEwan A, Fisher J, Kroese M, Morris S. Uptake, outcomes, and costs of implementing non-invasive prenatal testing for Down's syndrome into NHS maternity care: prospective cohort study in eight diverse maternity units. *BMJ* 2016;354: i3426
35. Norton ME, Brar H, Weiss J, Karimi A, Laurent LC, Caughey AB, Rodriguez MH, Williams J 3rd, Mitchell ME, Adair CD, Lee H, Jacobsson B, Tomlinson MW, Oepkes D, Hollemon D, Sparks AB, Oliphant A, Song K. Non-invasive chromosomal evaluation (NICE) study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207: 137.e1–8
36. Stumm M, Entezami M, Haug K, Blank C, Wustemann 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: 185–191
37. Qi G, Yi J, Han B, Liu H, Guo W, Shi C, Yin L. Noninvasive prenatal testing in routine clinical practice for a high-risk population: Experience from a center. *Medicine (Baltimore)* 2016;95: e5126
38. Porreco R., Garite T., Maurel K. et al. Noninvasive prenatal screening for fetal trisomies 21, 18, 13 and the common sex chromosome aneuploidies from maternal blood using massively parallel genomic sequencing of DNA // *Am J. Obstet. Gynecol.* 2014 Mar. pii: S0002–9378(14)00270–1.
39. Barrett A.N., Chitty L.S. et al. Developing noninvasive diagnosis for single-gene disorders: the role of digital PCR // *Methods Mol. Biol.* 2014. Vol. 1160. P. 215–228.
40. Neyt M., Hulsstaert F., Gyselaers W. Introducing the noninvasive prenatal test for trisomy 21 in Belgium: a cost consequences analysis // *BMJ Open*. 2014. Vol. 11. P. 5–15.
41. Benn P., Cuckle H., Pergament E. et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2013. Vol. 42, N1. P. 15–33.
42. Никитина Т.В., Лебедев И.Н. Цитогенетика привычного невынашивания беременности // *Генетика*. 2014. Т. 50, № 5. С. 501–514.
43. Николаидес К. Ультразвуковое исследование в 11–13,6 недели беременности: перевод с англ. Санкт-Петербург: Петрополис, 2007.
44. Committee on practice bulletins — obstetrics, committee on genetics, and the society for maternal-fetal medicine. Practice bulletin No. 163: Screening for fetal aneuploidy // *Obstet. Gynecol.* 2016. Vol. 127. No. 5. P. e123–37. doi: 10.1097/AOG.0000000000001406
45. ACOG Practice Bulletin № 77: screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol.* 2007; (109): 217–27.
46. Screening in the UK: making effective recommendations 2015 to 2016. Public Health England hosts the UK National Screening Committee URL. Available from: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/538524/Screening_in_the_UK_making_effective_recommendations_2015_to_2016_180716_final.pdf (дата обращения: 20.07.2018).
47. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci / B. Zimmermann, M. Hill, G. Gemelos, et al., *Prenatal Diagnosis*, vol. 32, no. 13, pp. 1233–1241, 2012
48. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18 / A.B. Sparks, C.A. Struble, E.T. Wang, K. Song, and A. Oliphant, *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, vol. 206, no. 4, pp. 319.e1–319.e9, 2012
49. Сухих Г.Т., Трофимов Д.Ю., Барков И.Ю., Донников А.Е., Шубина Е.С., Коростин Д.О. и др. Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования. Клинические рекомендации. *Акушерство и гинекология*. 2016; (6): 3–22.
50. Румянцев А.Г., Курцер М.А., Мареева Ю.М., Мисюрин А.В., Румянцев С.А., Устюгов А.Ю. Клиническое значение фетального микрохимеризма у матери. *Гены и клетки*. 2012; 7 (2): 103–111.
51. Tsui DW, Lam YD, Lee WS, Leung TY, Lau TK, Lau ET, et al. Systematic identification of placental epigenetic signatures for the noninvasive prenatal detection of Edwards syndrome. *PloS one*. 2010; 5 (11): e15069.
52. Yu SC, et al. Size-based molecular diagnostics using plasma DNA for noninvasive prenatal testing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014; 111 (23): 8583–8.

53. Costa JM, Benachi A, Gautier E. New strategy for prenatal diagnosis of X-linked disorders. *New England Journal of Medicine*. 2002; 346 (19): 1502.
54. Srinivasan A, Bianchi DW, Huang H, Sehntert AJ, Rava RP. Noninvasive detection of fetal subchromosome abnormalities via deep sequencing of maternal plasma. *The American Journal of Human Genetics*. 2013; 92 (2): 167–76.
55. Peters D, Chu T, Yatsenko SA, Hendrix N, Hogge WA, Surti U, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of a fetal microdeletion syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2011; 365 (19): 1847–8.
56. Sancho M, Diani E, Beato M, Jordan A. Depletion of human histone H1 variants uncovers specific roles in gene exp

© Цехомский Александр Вячеславович (aastartov12@mail.ru), Нефедова Лариса Владимировна (lorich11@mail.ru).
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Кубанский Государственный Медицинский Университет