**ИССЛЕДОВАНИЕ АНЕУПЛОИДИЙ ПЛОДА У ЖЕНЩИН, ОБРАТИВШИХСЯ В ЛАБОРАТОРИЮ ПО ПОКАЗАНИЯМ УЗИ ИЛИ КОМБИНИРОВАННОГО СКРИНИНГА, В РАМКАХ НЕИНВАЗИВНОГО ПРЕНАТАЛЬНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ (НИПТ) МЕТОДОМ ПОЛУПРОВОДНИКОВОГО ИОННОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ.**

*Логинова Е.В.1,2, Наток С.Т.1,2, Шавернев М.Н.1,2*

*1. Государственная бюджетная организация дополнительного образования Республики Адыгея «Республиканская естественно-математическая школа»*

*2. Региональный центр выявления и поддержки одаренных детей*

*«Полярис – Адыгея»*

schaevrnev@yandex.ru

Актуальность. В связи с тяжестью последствий наличия лишней хромосомы или ее отсутствия (анеуплодий: трисомий и моносомий соответственно) диагностике трисомий на раннем сроке беременности в настоящее время уделяется большое внимание.В Российской Федерации проведению пренатального скрининга подлежат все беременные [1].Существуют инвазивные методы пренатальной диагностики и неинвазивные, такие как ультразвуковая диагностика, комбинированный биохимический скрининг, неинвазивное пренатальное тестирование (НИПТ). НИПТ – это скрининговое исследование с целью определения анеуплодий плода. Анализ проводится по образцу крови женщины, что помогает избежать инвазивных процедур (амниоцентеза, биопсии ворсин хориона, кордоцентеза), связанных с риском для женщины и ребенка. Из образца крови матери выделяются ее свободно циркулирующая ДНК и свободно циркулирующая ДНК плода, которые подвергаются анализу. Для этого используется метод «массивного параллельного секвенирования», который позволяет расшифровать миллиарды копий фрагментов ДНК в одном образце и распределить их по хромосомам.

Цель. Проанализировать данные пациенток, обратившихся в лабораторию для выполнения НИПТ, и овладеть методикой ионного полупроводникового секвенирования.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие женщины на сроке беременности от 8 до 35 недели в возрасте от 21 до 45 лет (33,91±5,35). Индекс массы тела в среднем составил 22,9±4,29. Всего было проанализировано 273 образца фетоплацентарной свободно циркулирующей ДНК, которая была выделена из венозной крови пациенток. Исследование было проведено на базе медицинской лаборатории “CL” в рамках неинвазивного пренатального тестирования на анеуплоидии всех хромосом SAGE (г. Краснодар). Все пациентки подписали информационное согласие об участии в научном исследовании. Материал анализировали с помощью полупроводникового высокопроизводительного секвенирования на платформе Ion Torrent. Результаты оценивали с помощью биоинформатической обработки данных. Оценка риска анеуплоидии хромосом выражалась через статистический показатель «Z‑score» c комментарием по каждой хромосоме. Статистические расчеты проводили в программе Microsoft Exсel.

Результаты и обсуждение. В рамках проекта нами была составлена статистика распределения разных вариантов лабораторных заключений проанализированных образцов, из которых 246 (90%) получили заключение с низким риском анеуплоидии, 15 (5,5%) – с повышенным риском трисомии по 21 хромосоме, 6 (2,2%) – с повышенным риском трисомии по 18 хромосоме, 2 (0,7%) – с повышенным риском трисомии по 11 хромосоме. Также были случаи повышенного риска трисомии по 13 хромосоме (1 образец – 0,4%), моносомии по X-хромосоме (1 образец – 0,4%) и сочетанного носительства трисомии по хромосоме 21 и моносомии по X-хромосоме (1 образец - 0,4%).

Нами были проанализированы направления, которые пациентки заполняли при сдаче анализа, в связи с чем пациенток можно разделить на 3 группы:

1. 31 женщина указала причину обращения в лабораторию «Наличие УЗИ-маркеров хромосомной патологии»;
2. 60 пациенток отметили «Повышенный риск хромосомной патологии по результатам комбинированного скрининга»;
3. 6 пациенток в направлении в графе «показания» отметили причину обращения в лабораторию и УЗИ-маркеры, и повышенные показатели биохимического скрининга».

Из 31 женщины группы 1 только 7 (22,6%), получили заключение по результатам НИПТ «высокий риск трисомии», остальные 24 (77,4%) получили заключение «низкий риск анеуплоидии». Из 60 пациенток группы 2 лишь 4 (7%) получили заключение «повышенный риск трисомии по 21 хромосоме», 2 (3%) – «повышенный риск трисомии по 18 хромосоме» в рамках НИПТ. Из пациенток 3-ей группы 5 заключений были выданы с результатом «низкий риск», и для 1-ой пациентки «повышенный риск трисомии по 21 хромосоме» (Z-score 4,69 [норма -6.0 – 2.8]). Согласно данным, указанным пациенткой, известно, что у нее беременность в результате ЭКО (без донорских ооцитов), высокий репродуктивный возраст (более 35 лет), по результатам УЗИ – гипоплазия носовой кости, наличие маркеров хромосомной патологии по результатам комбинированного скрининга.

Нами был рассмотрен клинический случай пациентки, обратившейся в лабораторию на 21 недели беременности, возраст ˂35 лет. По данным УЗИ у плода диагностировались укороченные трубчатые кости, микрогастрия. Лабораторное заключение в рамках НИПТ – «повышенный риск трисомии 18 хромосомы», Z‑score=3.96 (норма -6<Z score<2.8). По данным амниоцентеза трисомия не подтвердилась. Родилась здоровая девочка (оценка по шкале Апгар 8 баллов). Заключение цитогенетика: кариотип ребенка 46 ХХ, числовых и структурных изменений хромосом не выявлено, исключить гипохондроплазию. На основе данных литературы можно сделать заключение, что ложноположительные и ложноотрицательные результаты возможны по причине плацентарного мозаицизма (состояния, при котором в рамках одного биологического организма сосуществуют клетки с различным набором хромосом) и даже мозаицизма самой беременной женщины, о котором ей не известно [2].

Выводы.

1. Мы приняли непосредственное участие в проведении НИПТ: освоена методика ПЦР, создания библиотек, их очистки и количественной оценки на практике.
2. Составлена статистика распределения вариантов лабораторных заключений проанализированных 273 образцов.
3. Каждая 10-ая пациентка с положительным результатом по комбинированному скринингу получила подтверждение в рамках НИПТ.
4. Только каждая 5-ая пациентка, обратившаяся по показаниям УЗИ-скининга получила подтверждение в рамках НИПТ.

**Литература:**

1. Приказ Минздрава России от 01.11.2012 N 572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)».
2. Барков И.Ю. Совершенствование системы пренатального скрининга анеуплоидий плода на основе анализа внеклеточной крови ДНК матери. 2018. Диссертация на соискание степени к.б.н.- С. 151.