



Низкая фетальная фракция внеклеточной ДНК при проведении неинвазивного пренатального ДНК-скрининга: возможные причины, клиническое значение и тактические решения

Е.В. Кудрявцева¹, В.В. Ковалёв¹, И.И. Баранов², И.В. Канивец³, Ю.К. Киевская³, С.А. Коростелёв⁴

¹ ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, г. Екатеринбург

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; Россия, г. Москва

³ ООО «Геномед»; Россия, г. Москва

⁴ ФГАУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); Россия, г. Москва

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: провести сравнение частоты хромосомных аномалий (ХА) у плодов при первичном и повторном неинвазивном пренатальном ДНК-скрининге (НИПС) в связи с низким уровнем фетальной фракции или низким качеством внеклеточной эмбриональной ДНК.

Дизайн: ретроспективное когортное исследование.

Материалы и методы. В исследование включены 21 042 женщины, которым был проведен НИПС в России в 2013–2018 гг. Основную группу составили согласившиеся на повторный НИПС 1025 из 1044 пациенток с неинформативными данными исследования (низкое содержание фетальной фракции, не дающее возможность определить риск ХА). В контрольную группу вошли 19 998 женщин с информативным НИПС при первичном исследовании. Группу исключения составили женщины с низким уровнем фетальной фракции, отказавшиеся от повторного скрининга. Метод исследования — таргетный НИПС. Проводили забор крови из вены и центрифугирование крови для получения плазмы. Внеклеточную фетальную ДНК анализировали с помощью метода NGS (метода секвенирования однонуклеотидных полиморфизмов, запатентованного компанией Natera).

Результаты. НИПС оказался нерезультативным у 1044 (5%) пациенток, у 821 (80,1%) из 1025 со второго раза был получен результат. Среди участниц, получивших результат при первичном исследовании, частота хромосомных анеуплоидий составила 2,4%. Среди тех пациенток, у которых провели повторное результативное исследование НИПС, ХА у плода в итоге были выявлены у 27 (3,3%). В подгруппе женщин, только с третьего раза получивших результат, распространенность ХА — 9,3% (7 случаев из 75). Показано, что в I триместре средний уровень фетальной фракции у беременных с трисомиями 18, 13 или моносомией X значимо ниже, чем в норме. Во II триместре значимо более низкий уровень фетальной фракции по сравнению с нормой определялся при наличии трисомии 18 или моносомии X. Получены статистически значимые различия между уровнями фетальной фракции у пациенток с массой тела < 50 кг и 80–89 кг и более ($p < 0,05$).

Заключение. Риск выявить ХА у плода при повторном НИПС значимо выше, чем при первичном исследовании. В случае неинформативного теста пациентке целесообразно повторно выполнить скрининг, если он не даст результатов, необходимо решать вопрос о проведении инвазивной пренатальной диагностики. С повышением массы тела пациентки снижается уровень фетальной фракции, в связи с чем женщинам с избыточной массой тела и ожирением следует рекомендовать другие методы пренатальной диагностики.

Ключевые слова: неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг, фетальная фракция, пренатальная диагностика, синдром Дауна.

Вклад авторов: Кудрявцева Е.В. — сбор клинического материала, обзор публикаций по теме статьи, статистическая обработка данных, написание текста рукописи; Ковалёв В.В. — разработка дизайна исследования; Баранов И.И. — проверка критически важного содержания, утверждение рукописи для публикации; Канивец И.В. — сбор клинического материала; Киевская Ю.К. — сбор клинического материала, обзор публикаций по теме статьи; Коростелёв С.А. — сбор клинического материала, проверка критически важного содержания.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

Для цитирования: Кудрявцева Е.В., Ковалёв В.В., Баранов И.И., Канивец И.В., Киевская Ю.К., Коростелёв С.А. Низкая фетальная фракция внеклеточной ДНК при проведении неинвазивного пренатального ДНК-скрининга: возможные причины, клиническое значение и тактические решения. Доктор.Ру. 2020; 19(8): 49–54. DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-8-49-54

Кудрявцева Елена Владимировна (автор для переписки) — к. м. н., доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебно-профилактического факультета ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России. 620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3. eLIBRARY.RU SPIN: 7232-3743. <https://orcid.org/0000-0003-2797-1926>. E-mail: elenavladporova@yandex.ru

Ковалёв Владислав Викторович — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов и педиатрического факультета ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России. 620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3. eLIBRARY.RU SPIN: 2061-0704. E-mail: vkovalev55@gmail.com

Баранов Игорь Иванович — д. м. н., профессор, заведующий отделом научно-образовательных программ ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. 117997, Россия, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. eLIBRARY.RU SPIN: 4224-0437. <https://orcid.org/0000-0002-9813-2823>. E-mail: i_baranov@oraipna4.ru

Канивец Илья Вячеславович — к. м. н., руководитель отдела генетики ООО «Геномед». 115093, Россия, г. Москва, Подольское шоссе, д. 8, корп. 5. eLIBRARY.RU SPIN: 4204-3575. <https://orcid.org/0000-0001-5821-9783>. E-mail: dr.kanivets@genomed.ru
(Окончание на с. 50.)

Low Fetal Fraction of Cell-free DNA Identified by Non-invasive Prenatal DNA Testing: Possible Causes, Clinical Significance, and Tactics

E.V. Kudryavtseva¹, V.V. Kovalev¹, I.I. Baranov², I.V. Kanivets³, Yu.K. Kievskaya³, S.A. Korostelev⁴

¹ Ural State Medical University (a Federal Government-funded Educational Institution of Higher Education), Russian Federation Ministry of Health; 3 Repin Str., Ekaterinburg, Russian Federation 620028

² V.I. Kulakov National Medical Scientific Centre of Obstetrics, Gynecology and Perinatal Medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation; 4 Academician Oparin Str., Moscow, Russian Federation 117997

³ 000 Genomed; 8 Podolskoye Shosse, Bldg. 5, Moscow, Russian Federation 115093

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (a Federal Government Autonomous Educational Institution of Higher Education), Russian Federation Ministry of Health; 8 Trubetskaya St., Bldg. 2, Moscow, Russian Federation 119991

ABSTRACT

Study Objective: To compare the rates of fetal chromosomal abnormalities (CA) detected during initial non-invasive prenatal DNA testing (NIPT) with the rates of CA found through repeat NIPT in patients with low fetal fraction or low quality of cell-free embryonic DNA.

Study Design: This was a retrospective cohort study.

Materials and Methods: Twenty-one thousand forty-two women who underwent NIPT in Russia between 2013 and 2018 were included in the study. The main group comprised 1,025 of the 1,044 patients with uninformative results (low fetal fraction result, making it impossible to assess the risk of CA), who consented to repeat NIPT. The control group was made up of 19,998 women who had informative results of initial NIPT. The exclusion group comprised women with low fetal fraction who declined repeat screening. The study method was targeted NIPT. Blood samples were taken from a vein and centrifuged to obtain plasma. Fetal cell-free DNA was analyzed by next-generation sequencing (NGS), a method patented by Natera for sequencing single nucleotide polymorphisms.

Study Results: Initial NIPT was uninformative in 1,044 (5%) of the patients and repeat procedure yielded informative results in 821 (80.1%) out of 1,025 patients. Among the patients with informative results from the initial study, the rate of chromosomal aneuploidies was 2.4%. In the group of women with informative results from the repeat procedure, fetal CA were detected in 27 (3.3%) cases. In the subgroup of women with informative results only after a third NIPT, the prevalence of CA was 9.3% (seven out of 75 cases). The study showed that in women carrying fetuses with trisomy 18 or 13 or monosomy X, mean fetal fraction in the first trimester was significantly lower than normal. In the second trimester, significantly lower than normal fetal fraction was observed in women carrying fetuses with trisomy 18 or monosomy X. There was a statistically significant difference in fetal fraction levels between patients with body weight <50 kg and those with body weight 80–89 kg or above ($p < 0.05$).

Conclusion: The probability of detecting CA by repeat NIPT is significantly higher than in an initial procedure. If initial testing is not informative, it should be repeated. If the second procedure also fails to yield informative results, invasive prenatal diagnosis should be considered. Fetal fraction levels are lower in heavier women. Thus, other methods of prenatal diagnosis should be recommended for overweight and obese women.

Keywords: non-invasive prenatal DNA testing, fetal fraction, prenatal diagnosis, Down syndrome.

Contributions: Dr. E.V. Kudryavtseva collected clinical material, reviewed relevant publications, did statistical analysis of the study data, and wrote the manuscript. Dr. V.V. Kovalev developed the design of the study. Dr. I.I. Baranov checked critically important content and approved the final version of the manuscript submitted for publication. Dr. I.V. Kanivets collected clinical material. Dr. Yu.K. Kievskaya collected clinical material and reviewed relevant publications. Dr. S.A. Korostelev collected clinical material and checked critically important content.

Conflict of interest: The authors declare that they do not have any conflict of interests.

For citation: Kudryavtseva E.V., Kovalev V.V., Baranov I.I., Kanivets I.V., Kievskaya Yu.K., Korostelev S.A. Low Fetal Fraction of Cell-free DNA Identified by Non-invasive Prenatal DNA Testing: Possible Causes, Clinical Significance, and Tactics. *Doctor.Ru.* 2020; 19(8): 49–54. (in Russian). DOI: 10.31550/1727-2378-2020-19-8-49-54

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы ряд профессиональных сообществ (American College of Medical Genetics (ACMG), American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) и др.) опубликовали свои рекомендации по использованию неинвазивного пренатального скрининга (НИПС) с целью детекции основных хромосомных анеуплоидий (ХА) у плода. Подобные рекомендации в 2016 году были разработаны и в России под руководством Сухих Г.Т., Трофимова Д.Ю., Баркова И.Ю. и соавт., они одобрены Российским обществом акушеров-гинекологов [1]. Ряд исследований демонстрирует высокую чувствительность и специфичность НИПС в отношении основных трисомий у плода (трисомии 13, 18 и 21 хромосом) и его большую

эффективность по сравнению со стандартным комбинированным скринингом I триместра [1–4].

Свободная, или внеклеточная, эмбриональная ДНК (сэ-ДНК), на выделении которой основана методика НИПС, появляется в крови матери уже с 4 недель беременности, надежно определяется с 7–8 недель, а в 9–10 недель ее уровень достаточен для точной детекции ХА у плода. При этом, согласно литературным данным, в 3–6% случаев не удается получить результат при первичном исследовании, так как уровень фетальной фракции сэ-ДНК, определяемой при помощи НИПС, оказывается слишком низким (ниже 4–5%) либо выделенная сэ-ДНК не соответствует критериям качества [5].

Киевская Юлия Кирилловна — врач-генетик 000 «Геномед». 115093, Россия, г. Москва, Подольское шоссе, д. 8, кор. 5. E-mail: jk@genomed.ru
Коростелёв Сергей Анатольевич — д. м. н., профессор кафедры организации и управления в сфере обращения лекарственных средств ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4. eLIBRARY.RU SPIN: 7252-1508. <https://orcid.org/0000-0002-3816-8031>. E-mail: korostelevsa@sesana.ru
(Окончание. Начало см. на с. 49.)

Международные эксперты не пришли к единому мнению, какой тактики следует придерживаться и какие рекомендации следует давать пациенткам при низкой фетальной фракции. В рекомендациях ACOG сказано, что в этом случае возможно рекомендовать повторное исследование, однако при повторном анализе удается получить результат лишь в 50–60% случаев, а низкая доля плодовой ДНК может свидетельствовать о наличии анеуплоидий [5]. Но нужно учитывать, что при повторном заборе материала увеличивается время до получения результата, а это может быть принципиально важным, особенно во II триместре беременности при решении вопроса о целесообразности ее вынашивания [1].

ACMG советует при определении низкой фетальной фракции рекомендовать экспертное УЗИ и решать вопрос о направлении пациентки на диагностическое тестирование (инвазивную диагностику) [6–8].

Отечественные рекомендации не дают однозначного ответа на вопрос, стоит ли предлагать пациентке в этом случае провести НИПС повторно. В них указывается: «...практика показывает, что повторный забор крови на более поздних сроках позволяет получить результат только в 50–60% случаев». Причем приводится ссылка на иностранные источники — данные о количестве повторных результативных исследований именно в российской популяции не представлены. Далее подчеркивается, что «...тактика дальнейшего обследования пациентки в этом случае должна быть согласована с врачом-генетиком и врачом акушером-гинекологом для принятия решения о проведении инвазивной пренатальной диагностики, так как низкая доля внеклеточной плодовой ДНК может быть связана с повышенным риском анеуплоидий» [1].

Здесь стоит отметить, что многие женщины решают пройти НИПС именно из-за нежелания подвергаться инвазивной диагностике. Не имея четкой уверенности в том, что риск ХА у плода достаточно высок или по крайней мере выше, чем риск осложнений самой процедуры инвазивной диагностики, эти пациентки с высокой долей вероятности вообще откажутся от дальнейшего исследования [9].

Кроме того, данные о частоте ХА у плода при выявлении низкой фетальной фракции противоречивы. В одних статьях утверждается, что при синдроме Дауна у плода уровень фетальной фракции такой же, как при эуплоидном хромосомном наборе [10–12]. В других исследованиях, напротив, продемонстрировано, что в значительной части случаев низкий уровень фетальной ДНК ассоциирован с ХА у плода [6, 13, 14].

Известно, что низкое содержание сэ-ДНК чаще наблюдается у женщин с избыточной массой тела и ожирением [9, 10, 15]. По данным ACOG, если масса тела пациентки выше 250 фунтов (113 кг), то в 10% случаев тест будет нерезультативным по причине низкой фетальной фракции. По рекомендациям ACMG, пациенткам с ожирением вместо НИПС следует предлагать другие варианты пренатальной диагностики [9]. Согласно российским рекомендациям, применение НИПС ограничено у женщин с ИМТ более 30 кг/м² [1].

На уровень фетальной фракции, помимо массы тела беременной женщины, могут влиять и другие факторы. Например, есть исследования, в которых установлено, что уровень фетальной фракции ниже при применении низкомолекулярных гепаринов (хотя можно предположить, что низкий уровень фетальной фракции связан не с самими низкомолекулярными гепаринами, а с теми показателями, в связи с кото-

рыми они были назначены) [16–18]. Ряд исследователей отметили, что более низкое содержание фетальной фракции имеет место у женщин монголоидной расы [19].

Кроме того, уровень фетальной фракции ниже, если беременность наступила в результате ЭКО. Предполагается, что какой-то неопределенный элемент данного процесса влияет на показатель фетальной ДНК. Эту особенность необходимо учитывать при интерпретации результата исследования, так как более низкое содержание фетальной фракции ассоциировано с уменьшением положительной и отрицательной предсказательной ценности метода [19].

Изучалась также ассоциация уровня фетальной ДНК с возрастом матери и толщиной воротникового пространства, однако связь с этими показателями не установлена [20].

Цель исследования: провести сравнение частоты выявления ХА у плодов при первичном и повторном выполнении НИПС в связи с низким уровнем фетальной фракции или низким качеством сэ-ДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное когортное исследование. Работа выполнялась на базе медицинского центра «Геномед» и кафедры акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Уральского государственного медицинского университета. В исследование включены 21 042 женщины, прошедшие НИПС в России в 2013–2018 гг., из них отобраны пациентки, у которых результат теста не был получен с первого раза из-за низкой фетальной фракции или низкого качества сэ-ДНК. НИПС оказался нерезультативным у 1044 (5%) женщин, на повторную сдачу анализа согласились 1025 пациенток — они составили основную группу (группа 1). В зависимости от того, удалось ли получить результат при повторном исследовании или с третьего раза, из основной группы были выделены подгруппы 1а и 1б.

В контрольную группу (группа 2) вошли 19 998 пациенток с результативным НИПС при первичном исследовании. Женщины с низким уровнем фетальной фракции, отказавшиеся от повторных анализов, были исключены из исследования.

Положительные результаты НИПС во всех случаях подтверждены с помощью кариотипирования биологического материала, полученного в результате инвазивных процедур или клинически и цитогенетически после рождения ребенка.

Все участницы нашего исследования проживали на территории России.

Мы использовали таргетный НИПС. Проводился забор крови из вены, далее — центрифугирование крови для получения плазмы. Внеклеточная фетальная ДНК выделялась с помощью метода секвенирования однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) и запатентованного алгоритма компании Natera (США). Уровень сэ-ДНК измерялся в процентах от уровня общей внеклеточной ДНК.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере с использованием пакета электронных таблиц Microsoft Excel 7.0 и программы Jamovi. Соответствие распределения совокупности количественных признаков закону нормального распределения проверяли с использованием критерия Шапиро — Уилкса. Для оценки уровня фетальной фракции были рассчитаны медиана (Me) и интерквартильный размах (Q1; Q3). Степень значимости выявленных различий оценивалась в соответствии с непараметрическим критерием Краскела — Уоллиса

и критерием χ^2 . Статистически значимыми различия между исследуемыми группами считали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 1025 пациенток основной группы у 821 (80,1%) удалось со второго раза получить результат (они составили подгруппу 1а), и у 794 (96,7%) из них был определен низкий риск ХА у плода. У 204 (19,9%) из 1025 участниц НИПС вновь оказался нерезультативным. На повторное выполнение анализа согласились 109 пациенток из этой группы: при повторном исследовании результат получен у 75 из них (68,8%) — они составили подгруппу 1б; у 34 (31,2%) результат вновь не был получен.

Среди участниц, получивших результат при первичном исследовании, распространенность ХА плода составила 2,4% (489 случая из 19 998). В основной группе итоговая частота ХА — 3,3% (34 пациентки из 1025) ($\chi^2 = 3,08, p = 0,081$). Различия между группами статистически незначимы, но ряд пациенток из группы 1 отказался от дальнейшего исследования, и мы не знаем их результаты — вероятно, среди них также были те, кто имел ХА у плода.

Различия по частоте встречаемости ХА между контрольной группой и подгруппой 1а, где ХА выявлены у 3,3% (27 из 821) пациенток среди тех, кто согласился на повторное исследование, также незначительны ($\chi^2 = 2,32, p = 0,128$).

В подгруппе 1б ХА определили у 7 (9,3%), отличие от группы 2 статистически значимо ($\chi^2 = 7,13, p = 0,008$).

Структура выявленных ХА представлена в *таблице 1*.

Далее мы сравнили средний уровень фетальной фракции в разные сроки беременности в норме и при наличии ХА у плода. Результаты представлены на *рисунке* и в *таблице 2*.

В I триместре беременности средний уровень фетальной фракции при нормальном хромосомном наборе у плода статистически значимо выше, чем при наличии трисомии 18, 13 или моносомии X. Однако между нормой и наличием трисомии 21 различия незначительны.

Во II триместре значимо более низкий уровень фетальной фракции по сравнению с нормой определялся при наличии трисомии 18 или моносомии X. При трисомии 13 различия по доле фетальной фракции статистически незначимы (возможно, из-за небольшого размера выборки — пациенток, у которых выявлен высокий риск трисомии 13 у плода, в нашем исследовании было меньше всего).

Поскольку в научной литературе в качестве возможной причины низкого содержания фетальной фракции указывается избыточная масса тела пациентки, мы решили сравнить этот показатель у женщин с различной массой тела. Результаты представлены в *таблице 3*. Получены статистически значимые различия между уровнем фетальной фракции у пациенток с массой тела < 50 кг, 80–89 кг и более ($p < 0,05$).

Таблица 1 / Table 1

Частота встречаемости различных хромосомных аномалий в исследуемых группах, n (%)
Frequency of various chromosomal abnormalities in the groups studied, n (%)

Хромосомные аномалии / Chromosomal abnormalities	Подгруппа 1а / Subgroup 1a (n = 821)	Подгруппа 1б / Subgroup 1b (n = 75)	Группа 2 / Group 2 (n = 19 998)	P; отношение шансов (95%-ный доверительный интервал) / P; odds ratios (95% confidence interval)
Трисомия 21 / Trisomy 21	18 (2,2)	5 (6,65)	379 (1,9)	$p_{1a-2 / 1a-2} = 0,537; 1,16 (0,71-1,87)$ $p_{1b-2 / 1b-2} < 0,001; 4,31 (1,72-10,8)$
Трисомия 18 / Trisomy 18	8 (1,0)	2 (2,65)	44 (0,22)	$p_{1a-2 / 1a-2} < 0,001; 4,46 (2,09-9,51)$ $p_{1b-2 / 1b-2} < 0,001; 8,47 (2,96-52,2)$
Трисомия 13 / Trisomy 13	0	0	30 (0,1)	$p_{1a-2 / 1a-2} = 0,267$ $p_{1b-2 / 1b-2} = 0,686$
Моносомия X / Monosomy X	1 (0,1)	0	36 (0,18)	$p_{1a-2 / 1a-2} = 0,7; 0,68 (0,09-4,94)$ $p_{1b-2 / 1b-2} = 0,658$
Всего / Total	27 (3,3)	7 (9,3)	489 (2,4)	$p_{1a-2 / 1a-2} = 0,128$ $p_{1b-2 / 1b-2} < 0,001; 4,1 (1,87-8,99)$

Рис. Средний уровень фетальной фракции: А — в I триместре, Б — во II триместре беременности
Fig. Mean fetal fraction level: in the first (A) and second (B) trimesters fetal fraction, %

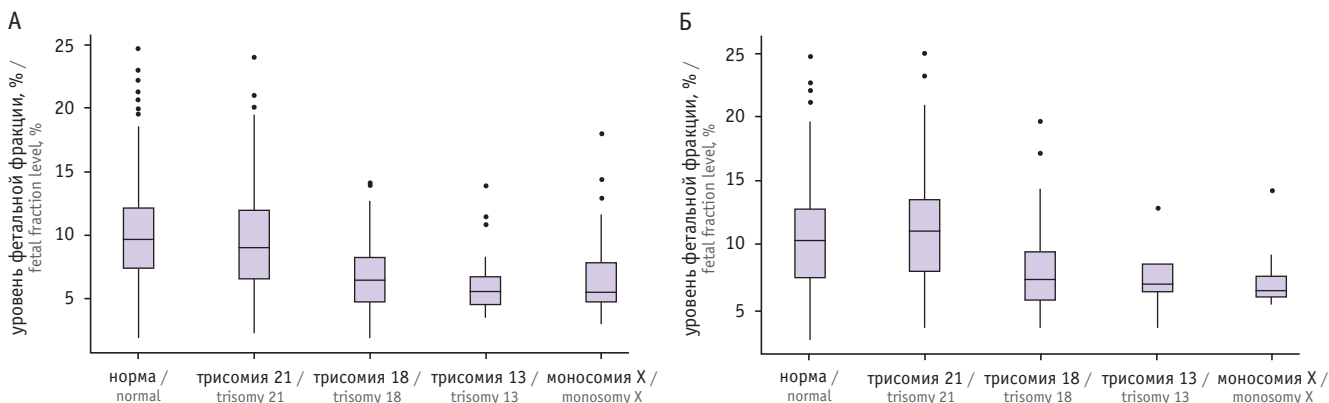


Таблица 2 / Table 2

Средний уровень фетальной фракции в разные сроки беременности, %, Ме (Q1; Q3)
Mean fetal fraction level at different stages of pregnancy, %, Me (Q1; Q3)

Кариотип плода / Fetal karyotype	9–14 недель беременности / weeks 9–14 of pregnancy	P*	15–20 недель беременности / weeks 15–20 of pregnancy	P*
Трисомия 21 / Trisomy 21	9,10 (6,60; 11,93)	0,432	10,90 (8,03; 13,48)	0,85
Трисомия 18 / Trisomy 18	6,50 (4,82; 8,28)	< 0,001	7,30 (5,75; 9,48)	0,012
Трисомия 13 / Trisomy 13	5,60 (4,60; 6,78)	< 0,001	6,90 (6,40; 8,40)	0,471
Моносомия X / Monosomy X	5,60 (4,85; 7,85)	< 0,001	6,45 (6,00; 7,37)	0,014
Норма / Normal	9,65 (7,47; 12,10)	–	10,25 (7,50; 12,80)	–

* Для отличия от случаев нормального кариотипа у плода.

* For differences from normal fetal karyotype.

Таблица 3 / Table 3

Средний уровень фетальной фракции у женщин с различной массой тела
Mean fetal fraction level in women with different body weights

Масса тела, кг / Body weight, kg	< 50	50–59	60–69	70–79	80–89	90–99	> 99
Фетальная фракция, % / Fetal fraction, %	10,2 (6,8–12,9)	10,6 (7,23–12,5)	9,1 (6,3–11,9)	8,39 (6,85–12,8)	6,99 (5,9–9,3)*	6,4 (5,17–8,7)*	5,44 (4,7–7,2)*

* Отличия от показателя у женщин с массой тела < 50 кг статистически значимы (p < 0,05).

* These differences from the values recorded in women with body weight < 50 kg were statistically significant (p < 0.05).

Очевидно, что с повышением массы тела пациентки снижается уровень фетальной фракции и, следовательно, возрастает вероятность нерезультативного теста при первичном исследовании (табл. 4). Средняя масса тела у женщин группы 1 была значимо выше (p = 0,03), при этом в группе 1 отмечалась большая доля пациенток с массой тела 80 кг и более, а в группе 2 — с массой тела до 60 кг. Количество участниц с массой 60–79,9 кг было примерно одинаково в обеих группах.

ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении НИПС у некоторых пациенток (в нашем исследовании у 5%) не удается получить результат. Из наших результатов следует, что, если при первичном исследовании НИПС нерезультативен, общий риск ХА у плода повышается незначительно. Но если анализировать риск различных ХА по отдельности, уже при первом нерезультативном НИПС повышается риск синдрома Эдвардса (трисомии 18) у плода. Если же при повторном исследовании результат не получен, существенно увеличивается риск общий риск ХА и в особенности риск синдрома Дауна и синдрома Эдвардса.

Мы считаем, что, если при первом проведении НИПС у пациентки тест нерезультативен, ей следует предложить пройти НИПС повторно, так как относительный риск ХА у нее повышен незначительно. Вероятность того, что при повторном исследовании удастся получить искомый результат достаточно высока — 80,1%. Если же исследование снова является нерезультативным, нужно рекомендовать проведение инвазивной пренатальной диагностики.

В случае если после двух нерезультативных анализов пациентка настаивает на повторном проведении НИПС, она должна быть предупреждена о высокой вероятности того, что результат вновь не будет получен (31,2%) либо будет выявлен высокий риск ХА. Определение высокого риска ХА по результатам НИПС требует инвазивной пренатальной диагностики, а подтверждение аномального кариотипа у плода является медицинским показанием для прерывания беременности, поэтому при направлении пациентки на повтор-

Таблица 4 / Table 4

Масса тела у пациенток исследуемых групп, n (%)
Body weight of patients in the groups studied, n (%)

Масса тела, кг / Body weight, kg	Группа 1 / Group 1 (n = 1025)	Группа 2 / Group 2 (n = 19 998)	P (χ ²)
40–49,9	24 (2,3)	1320 (6,6)	< 0,001 (29,56)
50–59,9	205 (20,0)	5439 (27,2)	< 0,001 (25,72)
60–69,9	298 (29,1)	6279 (31,4)	0,11 (2,45)
70–79,9	197 (19,2)	3539 (17,7)	0,21 (1,55)
80–89,9	133 (13,0)	2002 (10,0)	< 0,01 (9,39)
90–99,9	93 (9,1)	682 (3,4)	< 0,001 (88,06)
Более 100 / > 100	75 (7,3)	737 (3,7)	< 0,001 (34,6)
Средняя масса тела / Mean body weight	71,9 (53,5–82,8)	65,1 (51,9–79,2)	0,03

ные неинвазивные исследования нужно обращать внимание на срок беременности.

Особенно важно это учитывать во II триместре, поскольку вопрос о наличии медицинских показаний со стороны плода для прерывания беременности необходимо решить до наступления срока жизнеспособности плода, то есть до 22 недель беременности (согласно Приказу Минздрава России № 736 от 3 декабря 2007 г. с изменениями, внесенными Приказом Минздравсоцразвития России от 27 декабря 2011 г. № 1661н, «Об утверждении перечня медицинских показаний для искусственного прерывания беременности»).

Средний уровень фетальной фракции в I триместре существенно ниже в случае наличия у плода трисомии 13 или 18 хромосомы, а также моносомии X. Во II триместре статистически значимые различия по содержанию фетальной фракции отмечены только для трисомии 18 и моносомии X. При этом в случае наличия у плода трисомии 21 уровень фетальной фракции не имеет существенных различий по сравнению с нормой.

Несмотря на нормальный уровень фетальной фракции, количество нерезультативных тестов при трисомии 21 несколько больше, чем при нормальном кариотипе у плода, так как в этом случае сэ-ДНК чаще не соответствует критериям качества, и лаборатория не выдает результат.

Пациентки, у которых масса тела больше 80 кг, имеют наиболее высокий риск отсутствия результата при проведении НИПС, даже при зуплоидном хромосомном наборе у плода, поскольку содержание фетальной фракции у них ниже. Однако мы не считаем, что пациенткам с избыточной массой тела не следует выполнять НИПС, так как вероятность получить искомый результат все же намного больше, чем не получить его. Но такие пациентки обязательно при дотестовом консультировании должны быть информированы о возможной необходимости проведения повторно исследования.

Мы полагаем, что этим женщинам следует использовать НИПС в качестве теста второй линии в сроке беременности

15–20 недель, когда уровень фетальной фракции несколько выше, чем в I триместре.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При определении в ходе неинвазивного пренатального скрининга (НИПС) низкого уровня фетальной фракции или низкого качества внеклеточной эмбриональной ДНК в 80,1% случаев удается получить результат при повторном выполнении анализа. Если же и при повторном исследовании анализ вновь нерезультативен, вероятность успеха при последующем исследовании биоматериала составляется лишь 68,8%.

Отсутствие результата при проведении НИПС по причине низкого содержания фетальной фракции ассоциировано с повышенным риском хромосомных анеуплоидий, в особенности синдрома Эдвардса, у плода.

В случае неинформативного НИПС допустимо однократно предложить пациентке повторно выполнить анализ, если же и при повторном анализе уровень фетальной фракции низкий, необходимо решать вопрос о проведении инвазивной пренатальной диагностики.

Вероятность нерезультативного НИПС находится в прямой зависимости от массы тела женщины, она существенно повышается при массе тела больше 80 кг. Пациенткам с избыточной массой тела и ожирением следует рекомендовать другие методы пренатальной диагностики.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Сухих Г.Т., Трофимов Д.Ю., Барков И.Ю. и др. Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования. Клинические рекомендации. *Акушерство и гинекология*. 2016; 6. [Sukhih G.T., Trofimov D.Yu., Barkov I.Yu. et al. Non-invasive prenatal DNA-screening of fetal aneuploidy by maternal blood using high throughput sequencing. *Clinical guidelines. Obstetrics and Gynecology*. 2016; 6 (in Russian)]
2. Alldred S.K., Takwoingi Y., Guo B. et al. First trimester serum tests for Down's syndrome screening. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015; 11: CD 011975. DOI: 10.1002/14651858.CD011975
3. Кудрявцева Е.В., Ковалев В.В., Николаева Е.Б. и др. Неинвазивный пренатальный скрининг: первый опыт Свердловской области. *Уральский мед. журн.* 2019; 183(15): 78–81. [Kudryavtseva E.V., Kovalev V.V., Nikolaeva E.B. et al. Non-invasive prenatal screening: first experience of Sverdlovsk region. *Ural Med. J.* 2019; 183(15): 78–81. (in Russian)]. DOI: 10.25694/URMJ.2019.15.16
4. Суркова Е.И., Никитин А.Г., Торопоский А.Н. Неинвазивная пренатальная детекция трисомий: обзор методов и сравнение подходов. *Мед. генетика*. 2019; 18(3): 39–46. [Surkova E.I., Nikitin A.G., Toroposkiy A.N. Non-invasive prenatal trisomy detection: a review of methods and comparison of approaches. *Med. Genetics*. 2019; 18(3): 39–46. (in Russian)]. DOI: 10.25557/2073-7998.2019.03.39-46
5. Committee Opinion No. 640: Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. *Obstet. Gynecol.* 2015; 126(3): e31–7. DOI: 10.1097/AOG.0000000000001051
6. Norton M.E., Jacobsson B., Swamy G.K. et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372(17): 1589–97. DOI: 10.1056/NEJMoa1407349
7. Nikolaidis K.N., Syngelaki A., Gil M. et al. 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: 575–9. DOI: 10.1002/pd.4103
8. Verma I.C., Dua-Puri R., Bijnaria-Mahay S. ACMG 2016 Update on noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy: implications for India. *J. Fetal. Med.* 2017; 4(1): 1–6. DOI: 10.1007/s40556-017-0116-4
9. Кашеева Т.К., Кузнецова Т.В., Баранов В.С. Новые технологии и тенденции развития пренатальной диагностики. *Журн. акушерства и женских болезней*. 2017; 66(2): 33–9. [Kachsheeva T.K., Kuznetsova T.V., Baranov V.S. New technologies and development trends of prenatal diagnosis. *J. Obstetrics and Female Diseases*. 2017; 66(2): 33–9. (in Russian)]. DOI: 10.17816/JOWD66233-39
10. Кудрявцева Е.В., Ковалев В.В., Канивец И.В. и др. Free-DNA плода: опыт популяционного скрининга хромосомной патологии в России. *Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2019; 18(30): 46–51. [Kudryavtseva E.V., Kovalev V.V., Kanivets I.V. et al. Free-DNA of the fetus: the experience of population screening of chromosomal pathology in Russia. *Gynecology, Obstetrics and Perinatology Issues*. 2019; 18(30): 46–51. (in Russian)]. DOI: 10.20953/1726-1678-2019-3-46-51
11. Krishna I., Badell M., Loucks T.L. et al. Adverse perinatal outcomes are more frequent in pregnancies with a low fetal fraction result on noninvasive prenatal testing. *Prenat. Diagn.* 2016; 36(3): 210–5. DOI: 10.1002/pd.4779
12. Rava R.P., Srinivasan A., Sehnert A.J. et al. Circulating fetal cell-free DNA fractions differ in autosomal aneuploidies and monosomy X. *Clin. Chem.* 2014; 60: 243–50. DOI: 10.1373/clinchem.2013.207951
13. Kinnings S.L., Geis J.A., Almasri E. et al. Factors affecting levels of circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma and their implications for noninvasive prenatal testing. *Prenat. Diagn.* 2015; 35(8): 816–22. DOI: 10.1002/pd.4625
14. Zhang H., Gao Y., Jiang F. et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2015; 45(5): 530–8. DOI: 10.1002/uog.14792
15. Qiao L., Zhang Q., Liang Y. et al. Sequencing of short cfDNA fragments in NIPT improves fetal fraction with higher maternal BMI and early gestational age. *Am. J. Transl. Res.* 2019; 11(7): 4450–9.
16. Burn W., Koelper N., Barberio A. et al. The association between anticoagulation therapy, maternal characteristics, and a failed cfDNA test due to a low fetal fraction. *Prenat. Diagn.* 2017; 37(11): 1125–9. DOI: 10.1002/pd.5152
17. Ma G.C., Wu W.J., Lee M.H. et al. Low-molecular-weight heparin associated with reduced fetal fraction and subsequent false-negative cell-free DNA test result for trisomy 21. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2018; 51(2): 278. DOI: 10.1002/uog.17473
18. Dabi Y., Costa J.M., Benachi A. Low-molecular-weight heparin associated with reduced fetal fraction and subsequent false-negative cell-free DNA test result for trisomy 21. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2018; 51(2): 278. DOI: 10.1002/uog.18984
19. Lee T.J., Rolnik D.L., Menezes M.A. et al. Cell-free fetal DNA testing in singleton IVF conceptions. *Hum. Reprod.* 2018; 33(4): 372–578. DOI: 10.1093/humrep/dey033
20. Scott F.P., Menezes M.A., Palma-Dias R. et al. Factors affecting cell-free DNA fetal fraction and the consequences for test accuracy. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2018; 31(14): 1865–72. DOI: 10.1080/14767058.2017.1330881

Поступила / Received: 19.06.2020

Принята к публикации / Accepted: 16.08.2020