

ОСОБЕННОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО СКРИНИНГА ПЕРВОГО ТРИМЕСТРА БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ПРОГРАММ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ



Приведены результаты сравнения фетометрического показателя (толщина воротникового пространства) и параметров биохимического анализа сыворотки крови беременных в первом триместре после применения вспомогательных репродуктивных технологий (неинвазивная методика экстракорпорального оплодотворения и внутрицитоплазматического введения сперматозоида (ICSI)). Как было показано, фетометрический показатель такой же, как у женщин со спонтанной беременностью, а параметры биохимических маркеров имеют лишь тенденцию к изменению, причем при применении ICSI достоверно возрастает концентрация свободной бета-субъединицы хориогонического гонадотропина (бета-ХГ).

© В.Л. БУТЕНКО, И.Р. БАРИЛЯК, А.В. СТЕФАНОВИЧ, 2005

ISSN 0564-3783. Цитология и генетика. 2005. № 1

Введение. В последние годы большое значение приобретает профилактика врожденных пороков развития и наследственной патологии [1, 2]. Среди мероприятий вторичной профилактики особую роль играет пренатальная диагностика патологии плода, в первую очередь, нарушений хромосомного аппарата и ряда врожденных пороков. Эта работа стала важным направлением в деятельности медико-генетической службы Украины [3–5]. По мнению Арбузовой и др. [5], эффективность пренатального выявления хромосомных синдромов полностью зависит от массового обследования беременных женщин и разработки четких критериев формирования групп высокого риска.

В этой связи во всем мире широкое применение приобрел биохимический скрининг в первом и втором триместрах беременности и ультразвукографическое исследование плода [5–10].

Вместе с тем в последнем десятилетии все шире используются вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) для лечения бесплодия, и в настоящее время уже не возникает опасений в отношении постнатального развития детей после их применения. Как показали популяционные исследования [11, 12], экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) никак не влияет на состояние генома зародыша, начиная с раннего его развития (раннего эмбриогенеза). При этом не изменяется структура перинатальных потерь и частота хромосомных синдромов.

Однако остается еще неясным вопрос о безопасности технологии внутрицитоплазматического введения сперматозоида (ICSI), связи последнего с возможной анеуплоидией, о предполагаемом повреждении внутриклеточных структур, ответственных за расхождение хромосом в мейозе, которое может иметь место при ICSI.

Прямое цитогенетическое исследование клеток зародышей человека невозможно в силу ряда причин.

В связи с этим генетическое консультирование таких беременных проводится по установленным методикам, основанным на пренатальном комбинированном генетическом скрининге в первом триместре беременности.

Такая программа охватывает следующие биохимические маркеры: плацентарный белок РАРР-А и свободную β-субъединицу хориогонического гонадотропина (бета-ХГ), а также ультразвуковые маркеры хромосомных аномалий плода (размеры воротниковой зоны и наличие кости носа

плода) с последующей компьютерной обработкой этих данных.

Следует отметить, что при использовании обычной технологии ЭКО (неинвазивная), равно как и ICSI, имеет место достоверное повышение ложноположительных показателей как при раннем скрининге, так и при проведении его во втором триместре (бета-ХГ, альфа-фетопротеин — АФП, неконъюгированный эстриол — не-КЭС) [11–15]. Изменения показателей плацентарных гормонов в разных центрах в первом триместре могут быть различными, однако общим является статистически достоверное повышение уровня бета-ХГ и снижение PAPP-A у женщин после ВРТ.

После применения ICSI не происходило ожидаемое повышение уровня плацентарных гормонов, в то время как при рутинной методике ЭКО наблюдалось повышение ложноположительных результатов [13]: при ICSI было лишь относительное снижение уровня PAPP-A, которое не сказывалось на итоговых оценках риска. Отсутствие корреляции между ультразвукографическим маркером и изменениями биохимических параметров отмечали Ghisonia et al. [16], причем снижение уровня PAPP-A и повышение уровня бета-ХГ было характерным при применении обеих методик ВРТ.

Следовательно, вопрос о взаимосвязи между биохимическими маркерами и показателями ультразвукографии остается невыясненным, тем более при применении различных методик ВРТ, что в значительной степени затрудняет проведение генетического консультирования женщин группы риска по хромосомным синдромам и определение необходимости применения инвазивных методик.

Целью настоящего исследования было провести анализ результатов генетического скрининга хромосомных синдромов в первом триместре беременности при применении различных методик ВРТ.

Материалы и методы. Проведено проспективное исследование прогностической ценности результатов комбинированного скрининга патологии плода в первом триместре беременности в Институте генетики репродукции с октября 2001 г. по февраль 2003 г.

Изучены 133 одноплодные беременные после ВРТ (65 — после рутинной ЭКО программы и

68 — после ICSI). В контрольной группе было 410 женщин со спонтанно наступившей беременностью, которые проходили комплексное генетическое обследование. Образцы крови исследовали иммунофлюоресцентным методом на аппарате «Victor» (Финляндия). Ультрасонографические исследования проведены на сканере VERSA-Pro («Siemens»).

Плодам с копчиково-теменным размером (КТР) от 32 до 76 мм измеряли толщину воротникового пространства (ТВП). Исследования и измерения проводили в строго сагиттальной плоскости. Рабочими датчиками были вагинальный 7,5 МГц и абдоминальные — 3,5 и 5,0 МГц; учитывался, по крайней мере, трехкратный усредненный параметр.

Показатели биохимических маркеров конвертированы в МоМ по генерированным медианам после изучения этих маркеров у 1200 беременных женщин аналогичного с основной группой возраста, у которых не выявлены хромосомные нарушения плода. Фиксированное когортное исследование выполняли на фоне проводимого популяционного анализа. Выявленная правосторонняя скошенность выборки преобразована логарифмически по основанию 10 (\log_{10}).

Средний возраст беременных в исследованных группах составлял $32,2 \pm 4,1$ года. Для отнесения в группу риска относительно хромосомных синдромов была выбрана граница 1 : 300, которая общепринята в популяции.

За период исследования было обследовано 1920 женщин в первом триместре беременности. Частоту положительных результатов, которые определяли отнесение плода в группу риска, вычисляли отдельно для женщин, у которых применяли различные ВРТ (неинвазивная ЭКО и ICSI), контрольной группы и остальных беременных.

Результаты подвергали вариационно-статистической обработке с помощью компьютерных программ. Фетометрические показатели и уровни биохимических маркеров проанализированы с помощью метода линейной регрессии.

Результаты исследований и их обсуждение. В табл. 1 приведено сравнение результатов генетического скрининга плода у женщин контрольной (в том числе и по данным популяционного исследования) и основной (беременных женщин после применения различных методик

Таблица 1

Маркеры		Популяционные данные	P	Контрольная группа (n = 410)	P	Беременные после ВРТ (n = 133)
ультразвуковые и биохимические	статистические					
КТР	m	58,2	0,5	58,0	0,44	57,9
	co	6,3				
ТВП	m	1,7	0,3	1,3	0,3	1,2
	co	0,8				
Free beta HCG (MoM)	m	1,01	0,5	1,11	0,04	1,41
	co	0,44				
PAPP-A (MoM)	m	1,2	0,5	1,01	0,88	0,88
	co	0,59				

Примечание. Здесь и в табл. 2 n — количество женщин; m — среднее; co — стандартное отклонение; P — уровень значимости.

ВРТ) групп. Они свидетельствуют об отсутствии различий фетометрических параметров и уровней биохимических показателей у беременных женщин контрольной группы по сравнению с популяционными данными.

Следует отметить, что также не установлены различия всех исследованных фетометрических показателей между женщинами контрольной группы и женщинами, у которых применяли ВРТ. При этом обращает на себя внимание тенденция к снижению у последних уровня PAPP-A, однако оно статистически недостоверно (P = 0,88). Что касается уровня бета-ХГ, то у женщин после применения ВРТ его концентрация была достоверно выше (P = 0,04).

При сравнении показателей генетического мониторинга у двух групп женщин, у которых применяли различные вспомогательные технологии (табл. 2), не выявлено каких-либо различий фетометрических параметров. В группе после ICSI наблюдалась тенденция к снижению концентрации PAPP-A, однако она статистически недостоверна.

Риск по поводу хромосомного синдрома в контрольной группе составил 4,1 %, а в основной (после ВРТ) — 6,1 % (P > 0,05).

Кариотипирование клеток хориона было проведено у всех обследованных женщин (за исключением одной из контрольной группы ввиду отказа супружеской пары), лишь в одном случае была определена анеуплоидия по 21-й паре хромосом (в контрольной группе).

Таблица 2

Сравнение результатов генетического скрининга у женщин после разных методик ВРТ

Маркеры		ICSI (n = 65)	ЭКО (n = 68)	P
ультразвуковые и биохимические	статистические			
КТР	m	57,4	60,2	0,3
	co	5,5	5,2	
ТВП	m	1,22	1,12	0,05
	co	0,5	0,78	
Free beta HCG (MoM)	m	1,45	1,34	0,04
	co	0,54	0,55	
PAPP-A (MoM)	m	0,89	0,91	
	co	0,47	0,56	

Таким образом, проведенные исследования подтверждают имеющиеся в литературе сведения о возможных различиях в уровнях гормонов плаценты у беременных после успешно проведенных методик ВРТ и при естественных (спонтанных) беременностях.

Эти данные могут иметь важное значение при разработке и внедрении эффективного медико-генетического консультирования супружеских пар, у которых лечение бесплодия проводилось с использованием одной из методик ВРТ. Отсутствие ультразвуковых различий, показанное в данном и аналогичных исследованиях [16—18], видимо, подтверждает мысль о том, что при использовании вспомогательных репродуктивных технологий не возникают структурные изменения плода. Наблюдающиеся некоторые разли-

чия в уровнях маркеров указывают лишь на определенную тенденцию, если пользоваться критериями доказательной медицины.

Ожидаемой и эмпирически предсказуемой все же остается ситуация с беременностями после применения ICSI, в которой ряд авторов пытаются увидеть связь между различиями концентраций плацентарных гормонов [13, 15] и состоянием хромосомного аппарата плода (после верификации предположения и постановки диагноза).

Генетическое консультирование во всех приведенных данных литературы рассматривается как основная проблема существующего комбинированного подхода к формированию групп риска относительно хромосомных синдромов плода. При пересекающемся результате нашего исследования действительно наблюдается смещение доли ложноположительных результатов. Прогностическая ценность положительного результата при обычном подходе к формированию групп риска снизилась с 26 до 21 %, но вместе с тем отмечается увеличение прогностической ценности отрицательного результата (с 78 до 81 %). Естественно, что при этом не снизилась чувствительность методики, на что указывают и другие авторы [13—15]. А если учесть, что имеет место достоверное увеличение концентрации бета-ХГ, то это дополняет данные [13, 14].

Следовательно, в ближайшее время можно ожидать разработку специальных адаптированных скрининговых программ для беременных после ВРТ.

Выводы. На основании результатов комбинированного генетического скрининга беременных в первом триместре по поводу хромосомных аномалий плода было установлено, что при отсутствии хромосомных синдромов фетометрические показатели (толщина воротникового пространства) и параметры биохимических маркеров в сыворотке крови беременной женщины практически не изменяются в результате применения вспомогательных репродуктивных технологий (неинвазивная методика экстракорпорального оплодотворения и внутрицитоплазматическое введение сперматозоида — ICSI). Исключение составляет только концентрация свободной бета-субъединицы хориогонического гонадотропина, которая достоверно возрастает после применения ICSI.

SUMMARY. Results of comparison of nuchal translucency measurements (NT) and parameters of the biochemical analysis of blood serum of pregnant women in the first trimester and after use of assisted reproductive technologies (in vitro fertilization and cytoplasmic sperm injection (ICSI)) are submitted. It was shown that NT does not differ from those of women with spontaneous pregnancy, and parameters of biochemical markers tend only to change. After ICSI use concentration of free beta-HCG authentically increases.

РЕЗЮМЕ. Наведено результати порівняння фетометричного показника (товщина шийної складки) та параметрів біохімічного аналізу сироватки крові вагітних у першому триместрі після застосування допоміжних репродуктивних технологій (неінвазивна методика екстракорпорального запліднення та внутріцитоплазматичне введення сперматозоїда (ICSI)). Як було показано, фетометричний показник не відрізняється від такого у жінок зі спонтанною вагітністю, а параметри біохімічних маркерів мають лише тенденцію до зміни, причому при застосуванні ICSI достовірно зростає концентрація вільної бета-субодиниці хориогонічного гонадотропіну (бета-ХГ).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барияк І.Р. Проблеми профілактики спадкової патології та вроджених вад розвитку // Журн. АМН України. — 2003. — 4, № 4. — С. 656—667.
2. Барияк І.Р. Актуальні проблеми профілактики вроджених вад розвитку // Проблеми спеціалізованої допомоги на сучасному етапі : Матеріали Українсько-польської конф. (Львів, 14—15 травня 2004 р.). — Львів, 2004. — С. 75—78.
3. Арбузова С.Б., Ніколенко М.І., Малеева І.А., Краснов А.В. Комплексна програма пренатальної діагностики в профілактиці вродженої та наследственной патології // Ультразвукова перинатальна діагностика. — 2002. — Вип. 15. — С. 35—39.
4. Веропотвелян П.М., Мазурак О.Є., Веропотвелян М.П., Кліпова Л.В., Кодунов Л.О., Авксентьєв О.М. Диференціація спадкової патології у вагітних і пренатальна діагностика хромосомних хвороб // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. — Київ—Луганськ, 2004. — Вип. 7 (60). — С. 162—171.
5. Арбузова С.Б., Ніколенко М.І., Краснов О.В. Проблемні питання пренатальної діагностики спадкових і вроджених захворювань у 1 та 2 триместрах вагітності // Там же. — С. 155—161.
6. Cuckle H. Biochemical screening for Down syndrome // Eur. J. Gynecol. Reprod. Biol. — 2000. — 92. — P. 97—101.
7. Wald N.J., Hackshaw A.K. Advances in antenatal screening for Down syndrome // Baillieres Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. — 2000. — 14. — P. 563—580.
8. Macri J.N., Orlandi F. First-trimester Down syndrome screening // Amer. J. Obstet. Gynecol. — 2000. — 183. — P. 1591—1594.
9. Nicolaidis K.N., Brisot M.L., Snijders R.J.M. Fetal nuchal

- translucency thickness: ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy // *Brit. J. Obstet. Gynaecol.* — 1994. — **101**. — P. 782–786.
10. Бутенко В.Л., Бариляк И.Р. Результаты комплексного пренатального скрининга хромосомной патологии плода в первом триместре беременности // *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології.* — Київ—Луганськ, 2004. — Вип. 1 (54). — С. 18–30.
 11. Heinonen E., Ruynanen M., Hippelainen M., Saarikoski S. Effect of in vitro fertilization on human chorionic gonadotropin serum concentrations and Down's syndrome screening // *Fertil. Steril.* — 1996. — **66**. — P. 398–403.
 12. Ribbert L.S.M., Kornmann L.H., Wolf B.T.H.M. de, Simons A.H.M. et al. Maternal serum screening for fetal Down syndrome in IVF pregnancies // *Prenat. Diagnosis.* — 1996. — **16**. — P. 35–38.
 13. Liao A.W., Heath V., Kametas N., Nicolaides K.H. First-trimester screening for trisomy 21 in singleton pregnancies achieved by assisted reproduction // *Hum. Reprod.* — 2001. — **16**. — P. 1501–1504.
 14. Maymon R., Shulman A. Serial first- and second-trimester Down's syndrome screening tests among IVF-versus naturally-conceived singletons // *Hum. Reprod.* — 2002. — P. 1081–1085.
 15. Orlandi F., Rossi C., Allegra A. et al. First trimester screening with free beta-HCG, PAPP-A and nuchal translucency in pregnancies conceived with assisted reproduction // *Prenat. Diagnosis.* — 2002. — **22**. — P. 718–721.
 16. Ghisonia L., Ferrazzia C.E., Castagna C. et al. Prenatal diagnosis after ART success: the role of early combined screening in counselling pregnant patients // *Placenta.* — 2003. — **24**. — P. 99–103.
 17. Spencer K., Souter V., Tul N. et al. A rapid screening program for trisomy 21 at 10–14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-HCG and PAPP-A // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* — 1999. — **13**. — P. 231–237.
 18. Krantz D.A., Hallahan T.W., Orlandi F. et al. First trimester Down syndrome screening using dried blood biochemistry and nuchal translucency // *Obstet. Gynecol.* — 2000. — **96**. — P. 207–213.

Поступила 29.07.04