

Sünnieelne mitteinvasiivne geneetiline sõeluuring – võidukäik ja puudujäägid

Anne Mari Roost^{1, 2}, Tiia Reimand^{3, 4, 5}, Kaarel Krjutškov^{2, 6}

Eesti Arst 2016;
95(9):582–589

Saabunud toimetusse:
04.05.2016
Avaldamiseks vastu võetud:
17.07.2016
Avaldatud internetis:
27.10.2016

¹ Tartu Ülikooli kliinilise meditsiini instituudi naistekliinik,

² Tervisetehnoloogiate Arenduskeskus,

³ Tartu Ülikooli Kliinikumi geneetikakeskus,

⁴ Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditsiini instituudi biomeditsiini osakond,

⁵ Tartu Ülikooli kliinilise meditsiini instituudi lastekliinik,

⁶ Karolinska Instituut

Kirjavahetajaautor:
Anne Mari Roost
annemari.roost@gmail.com

Võtmesõnad:
mitteinvasiivne sünnieelne geneetiline testimine, NIPT, sünnieelne diagnostika

Paljudes Euroopa maades on sünnieelne kromosoomhaiguste sõeluuring riiklikult korraldatud: rasedatele pakutakse vereseerumi markerite määramist ning loote ultraheliuuringuid. Uus alternatiivne meetod kromosoomhaigusega loodet kandva rasedate riskirühma selgitamiseks on NIPT ehk loote mitteinvasiivne sünnieelne geneetiline testimine (*Non-Invasive Prenatal genetic Testing*), mille on Ameerika Ämmaemandate ja Naistearstide Kollegium ning mitmed Euroopa riigid heaks kiitnud suure riskiga rasedate sõeltestina. Artiklis on antud ülevaade NIPT olemusest, eelistest, puudustest, eetilistest aspektidest ning erinevatest saadaolevatest testidest.

KROMOSOOMHAIGUSED JA NENDE SÕELUURINGUD PRAEGU

Kromosoomianomaaliate tõttu katkevad eri andmetel ligi pooled I trimestri rasedustest. Enam levinud kromosoomipatoloogiad on aneuploidiad ehk kromosoomide arvu muutused, mis I trimestril diagnoositud kromosoomihäiretest moodustavad ligikaudu 60% (1). Trisoomiate korral esineb loote genoomis üks lisakromosoom, monosoomiate korral on üks homoloogsetest kromosoomidest kaduma läinud. Autosoomsete kromosoomide häiretest jõuavad sünnini kõige sagedamini Downi sündroomi (DS) ehk 21. kromosoomi trisoomia (sagedus 1 : 700 – 1 : 1000 elusalt sündinud lapse kohta), 18. kromosoomi trisoomia ehk Edwardsi sündroomi (~ 1 : 3500 – 1 : 6000) ning 13. kromosoomi trisoomia ehk Patau sündroomiga (~ 1 : 5000 – 1 : 16 000) lapsed. Nende sündroomide korral on peamised meditsiinilised ja sotsiaalsed probleemid erinevad kaasasündinud väärarengud ning arengu mahajäämus. Levinud on ka erinevad sugukromosoomide aneuploidiad nagu karüotüübid 45, X ehk Turneri (1 : 2500) ja 47, XXY ehk Klinefelteri (1 : 700) sündroom, mis põhjustavad peamiselt soolise arengu probleeme.

Üks maailmas enim kasutatud sünnieelne test loote kromosoomipatoloogiate tuvastamiseks on I trimestri kombineeritud sõeluuring. Sellega hinnatakse loote kromosoomihäire riski ultraheli (UH) ja ema vere-

seerumi biokeemiliste markerite (β -hCG – vaba β koorionigonadotropiin ja PAPP-A – rasedusega seotud plasma proteiin A) abil, kaasates riskitegurina ema vanuse ja teised vajalikud parameetrid. Võimalik on teha ka II trimestri sõeluuring, mis hõlmab β -hCG, AFP (*α -fetoproteiin*) ja konjugeerimata E3 määramist ema vereseerumist ning UH-uuringut. Ema vereseerumi biokeemiliste markerite testimine kombineerituna UH-uuringuga on meetod, millega tuvastatakse 78–90% kõikidest aneuploidiatega rasedustest (2), kuid vaatamata sellele sünnib igal aastal Euroopas keskmiselt 11 Downi sündroomiga last 10 000 elussünni kohta (3).

Suurenenud riski korral kromosoomihäirega lapse sünniks pakutakse rasedale naisele võimalust invasiivseks diagnostikaks nagu amniotsentees, koorionibiopsia või kordotsentees, millega kaasneb aga kuni 1% raseduse katkemise risk (4, 5). Seerumianalüüsi ja ultraheli põhjal saadud suure riskihinnangu korral on 5%-l juhtudest tegemist valepositiivse tulemusega (2, 6). Skriiningu tulemuste põhjal invasiivsele protseduurile suunatud naistest 95% kannab loodet, kellel tegelikult puudub kromosoomipatoloogia, tingides tarbetu riski ja stressi rasedale ning kulu meditsiinisüsteemile.

NIPT

NIPT on molekulaartehnoloogiline meetod, mille põhimõte seisneb ema veres ringleva loote rakuvaba DNA ehk cfDNA (*cell-free*

fetal DNA) kindlakstegemisel ja kvantifitseerimisel. Peamiselt vabaneb cffDNA raseda vereringesse platsenta trofoblasti rakkude apoptoosi käigus (7). Raseda rakuvaba DNA koos cffDNA-ga eraldatakse veeniverest ja sealsest vereplasmast. Raseda vereplasmas leiduva cffDNA fraktsioon jääb sõeluuringute seisukohast olulisel 10.–21. gestatsiooninädalal 3–13% piiresse (8), kuid võib ulatuda kuni 30% ja üle selle (9). Alates cffDNA esmakirjeldamisest 1997. aastal (10) on cffDNA-d rakendatud nii loote soo, reesus D staatuse kui ka isapoolsete dominantsete kromosoomhaiguste tuvastamiseks. Tänapäeval saab aga enim tähelepanu NIPT, mis pakub mitteinvasiivset ja senisest täpsemat aneuploidiate sõeluuringu võimalust.

NIPT abil on võimalik loote 13., 18. ja 21. kromosoomi arvu hinnata alates 9. rasedusnädalast. CffDNA-põhist testimist on lisaks tavapärastele aneuploidiate määramisele üksikraseduse korral hakatud aina enam kasutama ka mitmikraseduste (kaksikud) puhul ning teatud kliinilise olulisusega mikrodeletsioonide ja -duplikatsioonide tuvastamiseks (11, 12). Mitmed erialaorganistatsioonid nagu Ameerika Ämmaemandate ja Naistearstide Kolleegium (*American College of Obstetricians and Gynecologists*) ning Rahvusvaheline Prenataalse Diagnostika Selts (*The International Society for Prenatal Diagnosis*) on rõhutanud seisukohta, et NIPT on paljulubav meetod skriininguks, kuid mitte diagnostilise usaldusväärsusega aneuploidiate tuvastamiseks. Eelneva alusel sobib NIPT loote kromosoomianeuploidia riskiga rasedate sõeltestimiseks ning positiivne NIPT tulemus vajab kinnitust invasiivsel uuringul (13, 14).

NIPT rakendamisel rasedate üldpopulatsioonis tuleb arvesse võtta, et eeldatavasti on testi positiivne ennustusväärtus (*positive predictive value*, PPV) väiksem kui rasedate grupis, kelle risk kromosoomihäirega lapse sünniks on suurem (12). Nimelt sõltub testi ennustusväärtus otseselt haiguse esinemissagedusest (15). Siiski on viimastel aastatel tehtud uuringud loote kromosoomihaiguse väikese riskiga rasedatel näidanud, et NIPT tundlikkus (kliinilise testi võime õigesti ära tunda haigus kandjad) ja spetsiifilisus (kliinilise testi võime korrektselt ära tunda terved) on võrreldavad suure riskiga rühma tulemustega. Samuti on leitud, et NIPT PPV ületab tunduvalt seerumskriiningu tulemusi DSi tuvastamisel (12, 16, 17).

NIPT TEHNOLOOGIA

Rakuvaba DNA põhiseks testimiseks on kasutusel kolm kliiniliselt valideeritud lahendust: 1) kogu genoomi analüüs, 2) peamistele riskikromosoomidele suunatud lähenemine ja 3) ühenukleotiidsete polümorfismide (SNP) tuvastamisest lähtuv analüüs (18).

Kõik kolm tehnoloogiat põhinevad mass-sekveneerimisel (*massively parallel sequencing*), erinedes selle poolest, kas analüüsitakse kogu genoomi või ainult kliinilise tähtsusega kromosoomide ja piirkondi. Riskikromosoomidele suunatud meetodid võimaldavad kogu genoomi sekveneerimisega võrreldes odavamalt, lihtsamalt ja kiiremat testimist. Vaatamata tehnoloogilistele erinevustele on testidel cffDNA eripärast tulenevad ühisjooned. Loote ja platsenta kasvades suureneb ka cffDNA fraktsioon raseduse kulgedes, seades enamiku NIPT platvormide kasutamise kriteeriumiks raseduse kestuse minimaalselt 9–10 nädalat (14). Lisaks sellele nõuab täpne aneuploidiate avastamine üldjuhul minimaalset cffDNA taset 4%, millest väiksemaid tulemusi üldjuhul vastusena ei esitata (19). Mitmikute testimist NIPTga võimaldab siiani vaid osa teenusepakkujaid, kuna üksiku loote cffDNA fraktsiooni määramine on ebatäpsem kui üksikraseduse puhul ning samuti ei võimalda NIPT anda infot, milline loode mitmest on aneuploidne (12, 13).

Olemasolevad NIPT platvormid võib jagada tinglikult kaheks, võttes aluseks, millist hulka erinevaid kromosoomihaigusi test tuvastada võimaldab.

Esimesed platvormid tuvastavad sagedasi autosoomsete 13., 18. ja 21. ja sugukromosoomide aneuploidiaid, kuna kokku moodustavad need kõigist amniotsenteesil avastatud karüotüübi häiretest kuni 82% (20). Nende riskikromosoomide arvu muutuse fenotüübilised tulemid on võrdlemisi hästi kirjeldatud ning see võimaldab raseda paremat nõustamist ja informeerimist võimalike valikute suhtes. Näitena võib tuua firma Sequenom Laboratories pakutavatest NIPT platvormidest testi VisibiliT, millega tuvastatakse vaid kromosoomide 18 ja 21 trisoomiaid ning mis võimaldab määrata loote sugu (vt tabel 1).

Teise suuna alla kuuluvad laiendatud platvormid, millega lisaks eelloetletud sündroomidele saab kindlaks teha ka 16. ja 22. kromosoomi aneuploidiaid ning

teatud mikrodeletsioone ja -duplikatsioone. Viimaste individuaalsed esinemissagedused on võrreldes levinud autosoomide ja sugukromosoomide aneuploidiatega populatsioonis harvad (21). Wapneri 2012. aasta tööst selgus, et loote kliiniliselt olulised subkromosomaalsed muutused esinevad 1,7%-l rasedatest, kes on suunatud diagnostikasse loote aneuploidia riski või ema kõrge vanuse tõttu (22). Kogu genoomi tehnoloogiad võimaldavad juhuleiuna tuvastada ka subkromosomaalseid muutusi, mille selgitamisele ei ole test suunatud (23). Selliste ümberkorralduste kliiniliste tagajärgede hindamine võib osutada keeruliseks, näiteks subkromosomaalsete koopiaarvu muutuste (CNV – *copy number variation*) testimist raskendab fenotüübi varieeruvus (24). Samuti on risk leida ema geenidefekte, mis võivad mõjutada NIPTga saadud tulemusi (23). Arvestades cffDNA suures osas platsenta päritolu ning 2015. aasta uuringu avastust, et platsenta on somaatiliste CNVde poolt rikastatud (25), tuleb leitud CNVdesse suhtuda erilise ettevaatusega, et vältida valepositiivseid tulemusi.

NIPT testide kiire levik on kasvatanud testieelse nõustamise vajadust ning põhjustanud arutelusid, kuidas kombineerida rakuvaba DNA põhiste testimist olemasoleva sünnieelse testimise programmiga rasedate parimates huvides (26). Seetõttu on ka käesolevas artiklis keskendutud ennekõike tervete kromosoomide koopiaarvu muutuste testimisele ning jäetud puudutamata mikrodeletsioonid ja -duplikatsioonid kui omaette uudne valdkond.

KOMMERTSPLATVORMID

Saadaolevad testid, mida praeguseks on juba üle kümne, määravad 13., 18., ja 21. kromosoomi trisoomiaid ning mõne testi puhul on võimalik teada saada ka loote sugu ja X-kromosoomi arvu muutused kas põhipaneeli koosseisus või eraldi paketina (27). NIPT testide näitajad nagu tundlikkus ja spetsiifilisus sõltuvad sellest, millise kromosoomi aneuploidiaga on tegemist, seejuures on enim analüüsitud kromosoomide 13, 18 ja 21 näitajaid. Koondanalüüsis, mis avaldati 2014. aastal, leiti NIPT üleüldiseks avastusmääraks ja valepositiivsete

Tabel 1. Eestis pakutavad loote mitteinvasiivse sünnieelse geneetilise testimise (NIPT) platvormid (39-41)

Testi pakkuja	Sequenom Laboratories		Roche (Ariosa Diagnostics)	Natera Inc.	Verinata Health, Inc./ Illumina Inc.
Tehnoloogia	Suunatud sekveneerimine	Suunatud sekveneerimine	DANSR (suunatud sekveneerimine) ja FORTE algoritm	Sekveneerimis-põhine SNP-analüüs ja NATUSi algoritm	Kogu genoomi sekveneerimine
Testitavad sündroomid	Downi sündroom, Edwardsi sündroom, Patau sündroom, trisoomia 16, trisoomia 22, Turneri sündroom, Klinefelteri sündroom, triplo-X-sündroom, XYY-sündroom, DiGeorge'i sündroom, <i>Cri-du-chat</i> -sündroom, 1p36 deletsiooni sündroom, Angelmani sündroom, Praderi-Willi sündroom, Jacobseni sündroom, Langeri-Giedioni sündroom, Wolfi-Hirschhorni sündroom	Downi sündroom, Edwardsi sündroom	Downi sündroom, Edwardsi sündroom, Patau sündroom, Turneri sündroom, Klinefelteri, triplo-X-sündroom, XYY-sündroom	Downi sündroom, Edwardsi sündroom, triploidia, Klinefelteri sündroom, triplo-X-sündroom, XYY-sündroom, Turneri sündroom, üsasiseselt hukkunud kaksik. Lisapaneelis: DiGeorge'i sündroom, <i>Cri-du-chat</i> -sündroom, 1p36 deletsiooni sündroom, Angelmani sündroom, Praderi-Willi sündroom	Downi sündroom, Edwardsi sündroom, Patau sündroom, Turneri sündroom, Klinefelteri sündroom. Lisapaneelis: trisoomia 9, trisoomia 16, <i>Cri-du-chat</i> -sündroom, Angelmani sündroom, Praderi-Willi sündroom
Gestatsiooni minimaalne kestus testimiseks	10 nädalat	10 nädalat	10 nädalat	9 nädalat	10 nädalat
Lisavõimalused	Loote soo määramine, kaksikute testimine	Loote soo määramine	Loote soo määramine, kaksikute testimine, IVF-rasedused	Loote soo määramine	Loote soo määramine, kaksikute testimine, IVF-rasedused, munarakudoonoriga rasedused

IVF – kehaväliline viljastamine

tulemuste määraks 21. kromsoomi suhtes vastavalt 99,2% ja 0,09%, 18. kromsoomi jaoks vastavalt 96,3% ja 0,13% ning 13. kromsoomi suhtes 91,0% ning 0,13% (28).

Vaatamata testi tundlikkuse ja spetsiifilisuse ideaalilähedastele tulemustele on NIPT hea kvaliteet teeninud ka kriitikat. Seda eelkõige platvormide vähese testituse tõttu igapäevases kliinilises praktikas ja väikse riskiga rasedate hulgas, kuna üleminek tavapopulatsiooni skriinimisele mõjutab haiguse esinemissagedusega seotud tulemusnäitajaid nagu PPVd (29, 30). Wang ja kolleegid avaldasid 2015. aastal töö, kus võrdlesid mitme NIPT platvormi ja tsütogeneetika meetoditega invasiivselt protseduurilt või postnataalselt saadud tulemuste kokkulangevust ning leidsid, et tsütogeneetilise analüüsi kinnitatud ehk NIPT tõeste positiivsete juhtude määr oli kromosoomidel 21, 18 ja 13 ning sugukromosoomidel vastavalt 93%, 64%, 44% ja 38%. Saadud tulemused toetavad asjaolu, et PPV sõltub lisaks tundlikkusele ja spetsiifilisusele ka sündroomi esinemissagedusest testitava gestatsiooniajal (29). Nende tegurite tähtsus saab ilmnedagi kliinilises praktikas, kus valepositiivsete ja -negatiivsete juhtude määr võib osutuda suuremaks kui senistes väiksemahulistest kliinilistest uuringutes.

Küsimuse all on ka NIPT tulemuste ja näitajate õige tõlgendamine. NIPT testidest 3–7% osutuvad eri põhjustel mitteinformatiivseks (väike cffDNA fraktsioon, tehnilised või protseduurist tingitud vead) (30) ning vajavad kordustesti või I trimestri kombineeritud sõeltesti riskihinnangut. Mitmetel juhtudel on tulemuste avaldamisel mitteinformatiivsed juhud testi tundlikkuse ja spetsiifilisuse arvutamisel välja jäetud (31, 32). Samas on korduvalt leitud nende proovide hulgas, mis ei saa tulemust cffDNA väikse fraktsiooni tõttu, suuremat aneuploidiate esinemissagedust ning samuti on aneuploidiaga proovil suurem risk osutuda mitteinformatiivseks (33, 34). Abi võib olla teiste sõelumismeetodite kasutamisest koos NIPTga, et minimeerida valepositiivsete ning -negatiivsete juhtude tekkevõimalust.

EEUTILISED ASPEKTID JA NÕUSTAMINE

Maaailma Terviseorganisatsioon on oma 2008. aasta infolehes koondanud üldised sõeltestimise kriteeriumid 40 aasta jooksul avaldatud publikatsioonide põhjal ühtseks

tervikuks. Sellest lähtudes on sõeltestimise puhul oluline aspekt isiku informeeritud ja teadlik nõusolek (35). Arvestades sünnitaja keskmise vanuse tõusu ning sellest tulenevat trisoomiate esinemissageduse ja sünnieelsete testimiste arvu suurenemist (3), aga ka tänapäeva ühiskonnas väärtustatavat isikuautonoomiat, on Maaailma Terviseorganisatsiooni kriteeriumid sünnieelisel testimisel oluliseks lähtepunktiks.

Süvenev mure, et NIPT juurutamine kliinilisse praktikasse on toimunud liiga kiiresti ning avalikkus võib alahinnata NIPT puudusi ja keerukust, paneb järjest enam rõhku pöörama testimiseelsele ja -järgsele nõustamisele (26, 30).

Erapooletu nõustamise eesmärk on

- 1) pakkuda rasedale selge ülevaade saadaolevatest võimalustest,
- 2) tagada raseda autonoomia otsustamisel,
- 3) tuua selgelt välja erinevused NIPT kui sõeluuringu ning diagnostiliste protseduuride vahel ning
- 4) rõhutada viimase tähtsust sõeluuringu positiivse tulemuse kinnitamisel.

NIPT pakkumine ainult kvalifitseeritud meditsiinipersonali poolt võimaldab käsitleda nii testi positiivseid külgi, piiranguid kui ka kombineerimist traditsioonilise seerumiskriiningu, ultraheliuuringu ja invasiivsete protseduuridega, samuti võimalikke tulemusi ja edasisi tegutsemisvõimalusi. Igale rasedale peab olema tagatud I trimestri UH-uuring, mis võimaldab hinnata loote anatoomilisi struktuure ja tuvastada arengurikkeid, mille leidmiseks pole NIPT ette nähtud (36). Ühtlasi peab igale naisele võimaldama geneetiku konsultatsiooni ja diagnostilise protseduuri aneuploidia suhtes positiivse NIPT vastuse korral. Teised nõustamisega seotud probleemid on kogu genoomi sekveneerimise meetodil esineda võivad juhuleiud, millest teadaandmine pole tulemustes ette nähtud ning mille tagajärjed loote tervisele ei ole alati teada. Rasedate teavitamine juhuleidudest, aga ka muutustest, mille kliiniline efekt ei ole teada, haigustest, mis avalduvad alles lapse täiskasvanueas, või olukorrast, kus loode on haigusalleeli kandja, võib raskendada rasedatel teadlike otsuste tegemist (26). Lisaks eelnevale on arutatud ka selle üle, et kui raseduse ajal tuvastatakse rohkem DSiga looteid ning aneuploidiaga rasedused katkestatakse, siis kuidas DSiga isikute vähenev hulk ühiskonnas mõjutab nende

hoolekannet (26, 27). NIPTga väheneb eeldatavasti ka invasiivsetele protseduuridele saadetud naiste arv, mis tähendab väiksemat hulka diagnostilisi protseduure ning tingib vajaduse üle vaadata protseduure tegevate arstide ja keskuste kvalifikatsiooninõuded (27, 37).

NIPT rakendamine ennekoike kromosoomide 21, 18 ja 13 ning sugukromosoomide aneuploidiate tuvastamiseks üksikraseduste korral võib olla õigustatud seni, kuni on kogunenud rohkem andmeid NIPT jõudluse kohta mikrodeletsioonide tuvastamisel ning rasedatel, kes kannavad mitmikuid.

SEERUMISKRIINING JA NIPT EESTIS

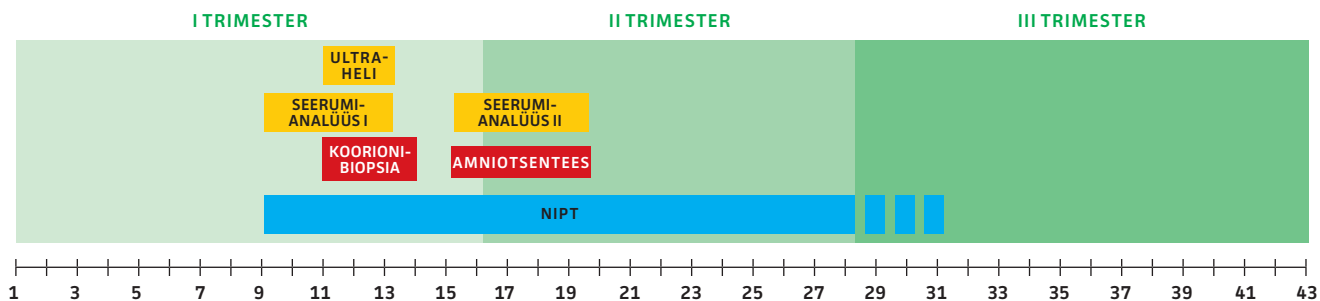
Eestis alustati sõeluuringute vormis loote kromosoomihaiguste analüüsi tegemist üle 35aastastele vanuseriskiga rasedatele 1995. aastal, sellele järgnes II trimestri vere-seerumi sõeluuring. 2005. aastal lisandus I trimestri kombineeritud sõeltestimine Tallinnas ja Tartus, hiljem Viljandis ja Pärnus. Praegu on kõikidele rasedatele sõltumata vanusest kättesaadav üks või teine seerumianalüüsi sõeltest.

Joonise 1 ajateljel on näidatud Eestis loote kromosoomihaiguste tuvastamiseks kasutatavad senised I ja II trimestri rutiinsed sõeltestid ning alternatiivne NIPT. Loote kromosoomihäire suurenenud riski korral ($DSi \text{ risk} \geq 1 : 100$ I trimestri ja $\geq 1 : 270$ II trimestri sõeluuringu põhjal) pakutakse Eestis lapseootel naisele võimalust invasiivseks diagnostikaks (1). Eestis tehakse aastas üle 800 invasiivse geneetilise looteuuringu, mille käigus diagnoositakse umbes 30 DSiga rasedust. Siiski sünnib igal aastal mitu DSiga last, see on osalt tingitud

I ja II trimestri sõeluuringute valenegatiivsetest tulemustest ning rasedusega liiga hilja arvele võtmisest.

NIPT testidest on Eestis võimalik tellida Harmony ja Panorama ning ka MaterniT21, VisibiliT ja Verifi platvorme, mille korral raseda vereproov saadetakse Eestist välja vastavasse teenust pakkuvasse laborisse. Tabelis 1 on toodud Eestis pakutavate NIPT platvormide võrdlus. NIPT testide laiemal kasutamise suurim takistus on tingitud nende kõrgest hinnast. Odavamad testid algavad küll 450 eurost, kuid ühtki NIPT lahendust Eesti Haigekassa praegu ei kompenseeri.

Tervisetehnoloogiate Arenduskeskuse (Tervise-TAK) ja Tartu Ülikooli teadlased arendavad välja NIPT platvormi, mille korral toimuks kogu protsess rasedalt vere võtmisest kuni andmeanalüüsi ja tulemuste väljastamiseni kohapealses loodavas geenitestikeskuses. Praegu tehakse Eestis pakutavad NIPT analüüsid välismaal, peamiselt Ameerika Ühendriikides, tasuta raha läheb välismaale ega toeta Eesti teaduse arengut. Eesti-sisese kvaliteetse teenuse pakkumiseks juurutatakse siinses laboris Belgia Leuveni ülikoolis väljatöötatud kogu genoomi NIPT tehnoloogiat (38). Leuveni ülikooli vastavas laboris analüüsitakse aastas 10 000 raseda vereproovi ning kogu testimine on koondunud ülikooli, kus tehakse ka erialast teadus- ja arendustööd. Tulevikku silmas pidades arendatakse Tervise-TAKis välja uudne SNP-põhine NIPT, mis oleks oluliselt kulutõhusam ning võimaldaks cffDNA põhjal sõeluurida oluliselt enam Eesti rasedaid, vähendada riskantseid invasiivseid protseduure ning tuvastada rohkem aneuploidia looteid.



Joonis 1. Loote kromosoomihaiguste sõeltestimiseks ja diagnostikaks kasutatavate meetodite võrdlus raseduse ajateljel. Alates 9. rasedusnädalast on võimalik loodet kromosoomianomaaliate suhtes uurida seerumianalüüsi, ultraheli (kollased kastid) või NIPT (sinine kast) abil. Punastes kastides on diagnostilised uuringud, mida kasutatakse vajaduse korral sõeluuringu riskihinnangu kinnitamiseks ehk diagnoosimiseks.

TULEVIKUVISIOON

NIPT tehnoloogiat kasutatakse arenenud riikides rasedate sõeluuringuna järjest enam. Vaatamata edasisele vajadusele uurida NIPT rakendamist rasedate üldpopulatsioonis, pakub praegune rakuvaba DNA põhine tehnoloogia ohutut ja täpset alternatiivi seerumiskriiningule, kui seda rakendada objektiivse ja põhjaliku nõustamisega enne testi tegemist ja hiljem tulemuste tõlgendamisel. Rahvusvaheline Prenataalse Diagnostika Selts soovib NIPT kasutamist kaaluda teise astme testina pärast seerumianalüüsi või ultraheliuuringu põhjal suurenenud riskiskoori saamist või neil rasedatel, kes võtavad end arvele liiga hilises rasedusjärgus, et teha läbi seerumiskriining ja I trimestri ultraheli (30). Teise astme testina võib NIPT tuua lisakindlustunnet I trimestri kombineeritud sõeluuringul vahepealsesse riskirühma kuuluvatele naistele (36). Sarnane potentsiaalne eelis on NIPT testimisel ka kunstliku viljastamisega rasedunud naiste populatsioonis, kus iga rasedus on raskesti saavutatud ning igasugune katkemise oht invasiivse protseduuri näol võib olla rasedale vastuvõetamatu. Üldpopulatsiooni sõeluuringuteks on tõenäoliselt sobivaim NIPT, millega testitakse sagedasi või fataalsete tagajärgedega trisoomiate nagu Downi, Edwardsi ja Patau sündroomi suhtes. Ainult piiratud hulga anomaaliat kindlakstegemine on kiirem ja odavam kui kogu genoomi sekveneerimine ja analüüsimine. Viies laboratoorse testimise omahinna piisavalt madalale, on tulevikus lootust saada populatsioonipõhisele NIPT-sõeluuringule haigekassa rahastus, mis võimaldaks Downi sündroomi tuvastamiseks kasutada senistest meetoditest tõhusamat lahendust ning pakkuda seda rohkematele rasedatele.

KOKKUVÕTE

Nii Eestis kui ka mujal Euroopas kasutatakse sünnieelseks loote kromosoomhaiguste sõeluurimiseks ema seerumimarkerite analüüsi ja ultraheliuuringut. Vaatamata sellele, et I trimestri sõeluuring võimaldab tuvastada kuni 90% Downi sündroomiga (DS) loodetest, esineb rutiinsel sõeluuringul valenegatiivseid tulemusi. Alternatiivina kasutatakse üha rohkem loote kromosoomhaiguse riskiga rasedate väljasõelumiseks NIPTd ehk loote mitteinvasiivset sünnieelset geneetilist testimist, mis on senistest sõeluuringutest täpsem meetod. Maailmas on

praegu võimalik valida üle kümne NIPT kommertsplatvormi vahel, millest viis on saadaval ka Eestis. Testi tegemise hind algab 450 eurost ning raseda vereproov saadetakse analüüsimiseks välismaale teenust pakkuvasse laborisse. NIPT teenuse paremaks pakkumiseks juurutab Tervisetehnoloogiate Arenduskeskus koostöös Tartu Ülikooli teadlastega Belgias väljatöötatud NIPT meetodit. Paralleelselt Belgia meetodi ülevõtmisega luuakse Eestisse geenitestikeskus, milles alustatakse arendustööd ühenukleotiidsete polümorfismide analüüsil põhineva NIPT testi loomiseks.

VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autoritel puudub huvide konflikt.

SUMMARY

Non-invasive prenatal genetic testing – triumph and shortcomings

Anne Mari Roost^{1,2}, Tiia Reimand^{3,4,5}, Kaarel Krjutškov^{2,6}

Estonia as well as many other European countries provide nationally organized routine prenatal screening for fetal chromosomal abnormalities. Commonly these tests include maternal blood screening in the first and second trimesters along with ultrasound. Despite the 85–90% detection rate for Down syndrome (DS) at the first-trimester screening, about eleven DS children per 10,000 live births are born in Europe each year. These cases are mainly caused by non-participation in screening programmes or by false negative results. Additionally, a large number of women carrying a healthy baby are invited to invasive diagnostic procedures due to false positive results. The American College of Obstetricians and Gynecologists has approved a new method for prenatal chromosomal aneuploidy screening, which has higher accuracy compared to conventional serum screening. Non-invasive prenatal genetic testing, or NIPT, is based on the analysis of cell-free fetal DNA (cffDNA). The CffDNA originates mainly from apoptotic cells in the placenta and is released into maternal blood.

Over 10 NIPT platforms are commercially available worldwide and they all detect the

¹ Department of Gynaecology and Obstetrics, University of Tartu, Estonia, ² Competence Centre on Health Technologies, Tartu, Estonia,

³ Centre of Genetics, Tartu University Hospital, Estonia,

⁴ Department of Biomedicine, University of Tartu, Estonia,

⁵ Department of Paediatrics, University of Tartu, Estonia,

⁶ Department of Biosciences and Nutrition, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

Correspondence to: Anne Mari Roost annemari.roost@gmail.com

Keywords: non-invasive prenatal genetic testing, NIPT, prenatal diagnostics

copy number of common aneuploidy-related chromosomes 13, 18 and 21; however, many tests now also test sex chromosomes and some disease-related microdeletions and microduplications. All tests are based either on whole-genome, targeted, or single nucleotide polymorphism (SNP) based analysis. A recent meta-analysis of the performance of cfDNA testing in screening for aneuploidies included data from 37 studies. Weighted pooled detection rates and false-positive rates in singleton pregnancies were 99.2% and 0.09%, respectively, for trisomy 21, 96.3% and 0.13% for trisomy 18, and 91.0% and 0.13% for trisomy 13. Despite the high detection rates, NIPT has been criticized primarily for lack of knowledge and data about testing among general population of pregnant women without a high risk for fetal chromosomal aberrations. Some concern has also been expressed about inadequate counselling before and after women undergo NIPT. Possible solutions to these limitations are combining NIPT with conventional screening methods, but also emphasizing the importance of counselling and the non-diagnostic nature of NIPT.

In Estonia, screening for fetal chromosomal aberrations in women over 35 years of age started in 1995. This was followed by second-trimester serum screening, and in 2005, by combined first-trimester screening in larger hospitals. Currently first- or second-trimester screening is offered to all pregnant women despite their age. The NIPT tests *Verifi*, *Harmony*, *Panorama*, *MaterniT21* and *VisibiliT* can be ordered, in which case the sample is sent abroad to a service-providing laboratory. A wider use of NIPT is mainly impeded by its high cost, as the test prices start from 450€. No NIPT solution is currently covered by the Estonian Health Insurance Fund.

Scientists from the Competence Centre on Health Technologies (CCHT), in cooperation with the University of Tartu, are developing a NIPT platform, which will allow the whole process from blood sample collection to data analysis to be carried out at the newly founded Genetic Testing Competence Centre in Estonia. As a first step, a whole-genome technology based Belgian Leuven University NIPT pipeline will be introduced to start providing high-quality NIPT in Estonia.

KIRJANDUS / REFERENCES

1. Ustav E-L, Asser K, Haldre K, et al. Sünnieelse diagnostika juhend: loote kromosoomhaiguste sõeluuring ja diagnoosimine. Loote ultraheliuuringud. 2016.
2. Russo ML, Blakemore KJ. A historical and practical review of first trimester aneuploidy screening. *Semin Fetal Neonatal Med* 2014;19:183-7.
3. Loane M, Morris JK, Addor MC, et al. Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening. *Eur J Hum Genet* 2013;21:27-33.
4. Alfirevic Z, Sundberg K, Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;CD003252.
5. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:16-26.
6. Nicolaides KH, Syngelaki A, Poon LC, Gil MM, Wright D. First-trimester contingent screening for trisomies 21, 18 and 13 by biomarkers and maternal blood cell-free DNA testing. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:185-92.
7. Taglauer ES, Wilkins-Haug L, Bianchi DW. Review: cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease. *Placenta* 2014;35 Suppl:S64-8.
8. 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. *Prenat Diagn* 2013;33:662-6.
9. Kinnings SL, Geis JA, 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;35:816-22.
10. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485-7.
11. Curnow KJ, Wilkins-Haug L, et al. Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test. *Am J Obstet Gynecol* 2015;212:79 e1-9.
12. Brady P, Brison N, Van Den Bogaert K, et al. Clinical implementation of NIPT - technical and biological challenges. *Clin Genet* 2015. DOI: 10.1111/cge.12598
13. Committee Opinion No. 640: Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2015;126:e31-7.
14. Benn P, Borrell A, Chiu RW, et al. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn* 2015;35:725-34.
15. Morain S, Greene MF, Mello MM. A new era in noninvasive prenatal testing. *N Engl J Med* 2013;369:499-501.
16. Fairbrother G, Johnson S, Musci TJ, Song K. Clinical experience of noninvasive prenatal testing with cell-free DNA for fetal trisomies 21, 18, and 13, in a general screening population. *Prenat Diagn* 2013;33:580-3.
17. NSGC Prenatal Special Interest Group. Abnormal prenatal cell-free DNA screening results. <http://nsgc.org/page/abnormal-non-invasive-prenatal-testing-results> 2015.
18. Bianchi DW, Wilkins-Haug L. Integration of noninvasive DNA testing for aneuploidy into prenatal care: what has happened since the rubber met the road? *Clin Chem* 2014;60:78-87.
19. Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F, et al. The importance of determining the limit of detection of non-invasive prenatal testing methods. *Prenat Diagn* 2016;36:304-11.
20. Ferguson-Smith MA, Yates JR. Maternal age specific rates for chromosome aberrations and factors influencing them: report of a collaborative european study on 52 965 amniocenteses. *Prenat Diagn* 1984;4 Spec No:5-44.
21. Helgeson J, Wardrop J, Boomer T, et al. Clinical outcome of subchromosomal events detected by whole-genome noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn* 2015;35:999-1004.
22. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012;367:2175-84.
23. Zhao C, Tynan J, Ehrich M, et al. Detection of fetal subchromosomal abnormalities by sequencing circulating cell-free DNA from maternal plasma. *Clin Chem* 2015;61:608-16.
24. Rose NC, Benn P, Milunsky A. Current controversies in prenatal diagnosis 1: should NIPT routinely include microdeletions/microduplications? *Prenat Diagn* 2016;36:10-4.
25. Kasak L, Rull K, Vaas P, Teesalu P, Laan M. Extensive load of somatic CNVs in the human placenta. *Sci Rep* 2015;5:8342.
26. Gekas J, Langlois S, Ravitsky V, et al. Non-invasive prenatal testing for fetal chromosome abnormalities: review of clinical and ethical issues. *Appl Clin Genet* 2016;9:15-26.
27. Allyse M, Minear MA, Berson E, et al. Non-invasive prenatal testing: a review of international implementation and challenges. *Int J Womens Health* 2015;7:113-26.
28. Gil MM, Akolekar R, Quezada MS, Bregant B, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: meta-analysis. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:156-73.

29. Wang JC, Sahoo T, Schonberg S, et al. Discordant noninvasive prenatal testing and cytogenetic results: a study of 109 consecutive cases. *Genet Med* 2015;17:234–6.
30. Lutgendorf MA, Stoll KA, Knutzen DM, Foglia LM. Noninvasive prenatal testing: limitations and unanswered questions. *Genet Med* 2014;16:281–5.
31. Norton ME, Brar H, Weiss J, et al. 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.
32. Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. *Genet Med* 2012;14:296–305.
33. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med* 2011;13:913–20.
34. Pergament E, Cuckle H, Zimmermann B, et al. Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort. *Obstet Gynecol* 2014;124:210–8.
35. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, Dery V. Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years. *Bull World Health Organ* 2008;86:317–9.
36. Salomon LJ, Alfirevic Z, Audibert F, et al. ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:122–3.
37. Warsof SL, Larion S, Abuhamad AZ. Overview of the impact of noninvasive prenatal testing on diagnostic procedures. *Prenat Diagn* 2015;35:972–9.
38. Bayindir B, Dehaspe L, Brison N, et al. Noninvasive prenatal testing using a novel analysis pipeline to screen for all autosomal fetal aneuploidies improves pregnancy management. *Eur J Hum Genet* 2015;23:1286–93.
39. Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, et al. Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J Obstet Gynecol* 2014;211:527 e1–e17.
40. Norton ME, Wapner RJ. Cell-free DNA Analysis for noninvasive examination of trisomy. *N Engl J Med* 2015;373:2582.
41. <https://laboratories.sequenom.com/providers/maternit21-plus/>.

Kardiovaskulaarsete häirete ennetuses pole obstruktiivse uneapnoe ravi püsiva positiivrõhu aparaadiga efektiivne

Obstruktiivne uneapnoe põhjustab episoodilist hüpokseemiat ja öist sümpaatilise närvisüsteemi aktiivset, tõstab vererõhku ning suurendab oksüdatiivset stressi, põletiku- ja hüperkoagulatsiooninäitajaid. Suured negatiivse intratorakaalrõhu kõikumised avaldavad mehaanilist survet südamele ja suurtele veresoontele. Juhuslikustatud uuringud on näidanud, et ravi püsiva positiivrõhu aparaadiga (*continuous positive airway pressure*, CPAP) alandab süstoolset rõhku 2–3 mm Hg normotensioonil ja 6–7 mm Hg hüpertensioonil obstruktiivse uneapnoega patsientidel, parandab endoteeli funktsiooni ja suurendab insulinitundlikkust. CPAP kasutamine on seotud kardiovaskulaarsüsteemi haiguste ja surmajuhtumite väiksema esinemissagedusega. Obstruktiivset uneapnoed esineb

40–60%-l südame-veresoonkonna haigustega inimestest.

Uuringu eesmärk oli hinnata CPAP tõhusust südame ja veresoonkonna seisundi parandamisel obstruktiivse uneapnoe korral. Patsiente vanuses 45–75 eluaastat osales 7 riigist ja neil oli diagnoositud südame pärgarteri haigus või ajuveresoonkonna haigus ning keskmine või raske obstruktiivne uneapnoe. Keskmine kuni raske uneapnoe diagnoositi, kui hapniku desaturatsiooni indeks (kordade arv tunnis, mil hapniku saturatsioon veres väheneb üle 4% võrreldes algnäitajaga) oli vähemalt 12. Uuringus osales 2717 inimest, kellest 1359 said lisaks standardravile ka CPAP-ravi 4 tundi igal ööl. Keskmiselt 3,7 aasta möödudes hinnati patsientide seisundit ja paluti neil täita küsimustik obstruktiivse uneapnoe sümptomite hindamiseks. Eesmärk oli võrrelda müokardiinfarkti, insuldi ja südamepuudulikkuse või südame isheemiatõve tõttu hospitaliseerimise esinemissagedust kahes rühmas.

Nimetatud südame-veresoonkonna haiguste tüsistusi esines 229 (17,0%) CPAP-ravi saaval ja 207 (15,4%) standardravi saaval patsiendil. CPAP-ravi rühmas vähenes hapniku desaturatsiooni indeks 29-lt 3,7-ni, täheldati väiksemat insuldiriski võrreldes tavaravi rühmaga (suhteline risk 0,56), esines vähem päevast väsimust, ärevust, norskamist ja depressiooni, kuid muus osas kahel rühmal olulisi erinevusi polnud.

Nii südameveresoonkonna haigustega kui ka keskmise kuni raske astmega obstruktiivse uneapnoega täiskasvanutel ei mõjuta CPAP-ravi oluliselt raskete kardiovaskulaarsüsteemi tüsistuste esinemissagedust, olgugi et vähendab unisust ja teisi obstruktiivse uneapnoe sümptomeid ja parandab elukvaliteeti.

REFEREERITUD

McEvoy R, Antic N, Heeley E, et al. CPAP for prevention of cardiovascular events in obstructive sleep apnea. *New Engl J Med* 2016;375:919–31.