

# Молекулярно-генетические исследования при невынашивании беременности

Медико-генетический центр  
Лаборатория молекулярной патологии



# Актуальность. Невынашивание беременности (НБ)

до 55%

частота НБ составляет до 55%, достигая в первом триместре 80% [1]

5-20%

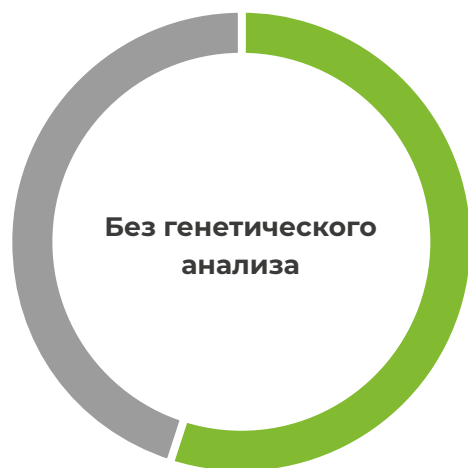
в 5-20% случаев наблюдается привычное НБ [2]

Гистологическое исследование abortивного материала, как правило, неинформативно и не дает возможности установить причину потери беременности и сделать прогноз для следующих беременностей, так как оно не позволяет детектировать генетические причины, в частности, хромосомные аномалии, которые являются причиной НБ в 7-50% случаев. [3]

Генетические исследования abortивного материала не проводятся из-за технической сложности и неосведомленности специалистов. Это часто ведет к неоправданному назначению лекарственных препаратов и, в целом, неправильному ведению таких пациентов.



# Генетическое исследование абортивного материала – это очень важно!



● 55%

Родительские факторы

● 45%

Необъяснимая причина



● 41%

Хромосомная аномалия эмбриона

● 34%

Родительские факторы

● 25%

Необъяснимая причина

С помощью генетического анализа выявлена причина 41% выкидышей, которая в противном случае осталась бы невыясненной

**Выяснение этиологии самопроизвольного аборта дает прогноз для следующей беременности, позволяет избежать других неинформативных методов обследования или неоправданного применения лекарственных препаратов.**

**В ряде случаев это помогает избежать рождения ребенка с тяжелой генетической патологией.**

**Генетическое  
исследование ворсин  
хориона является  
стандартом оказания  
медицинской помощи  
и должно проводиться  
во всех случаях  
невынашивания  
беременности!**

## **Регламентирующие документы:**

- › Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 7 ноября 2012 г. № 590н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при самопроизвольном прерывании беременности».  
(2.2. Лабораторные методы исследования, А09.30.003. Исследование ворсин хориона генетическое).
- › Committee Opinion No. 682 Summary: Microarrays and Next-Generation Sequencing Technology The Use of Advanced Genetic Diagnostic Tools in Obstetrics and Gynecology  
Obstetrics & Gynecology: December 2016.  
(«Хромосомный микроматричный анализ abortивного материала рекомендуется для поиска причин внутриутробной гибели плода или мертворождения, поскольку повышает вероятность выявления патогенных аномалий, по сравнению со стандартным анализом кариотипа»).

# Спонтанный аборт...

*Почему это произошло?*

*Повторится ли это?*

*Что делать, чтобы это не произошло вновь?*

В недавно проведенном исследовании отмечалось, что 95% пациентов, которые прошли процедуру анализа хромосом для установления причины выкидыша были довольны тем, что сделали его; а две трети пациентов, которые не сделали его, сказали, что сожалеют об этом

*Готовы ли мы дать ответы?*

**- Да! -**

Ответы на эти вопросы дает молекулярно-генетическое исследование abortивного материала



# Недостатки существующих методов

Обычное кариотипирование и другие методы часто не дают результата или он оказывается ложным. Почему?

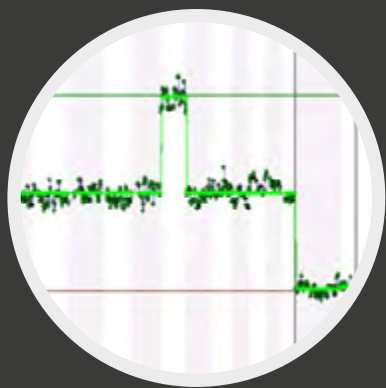
Ограничением традиционного кариотипирования является клеточная культура, которую нужно выращивать в лабораторных условиях в течение 2-4 недель.

Дегенерирующие, умирающие или уже мертвые клетки для проведения традиционного кариотипирования не подходят, так как их рост в лабораторных условиях зачастую невозможен. Именно это влечет за собой в 10-40% случаев риск ложного результата или его отсутствие.

Особенно это касается абортивного материала, когда клетки плода погибают при заборе, транспортировке и хранении.

**Риск получения  
ложного результата  
исследования обусловлен  
контаминацией  
материнскими клетками  
при процедуре забора  
абортивного материала  
и полиплоидизацией при  
выращивании клеточной  
культуры**

# Что предлагает лаборатория «Геномед»?



**Молекулярное  
кариотипирование  
абортивного  
материала «Фертус»**



**Молекулярное  
кариотипирование  
абортивного  
материала «Оптима»**



**Полное  
секвенирование  
генома abortивного  
материала «Фертус»**

# Молекулярное кариотипирование абортивного материала «Фертус»

## - Метод -

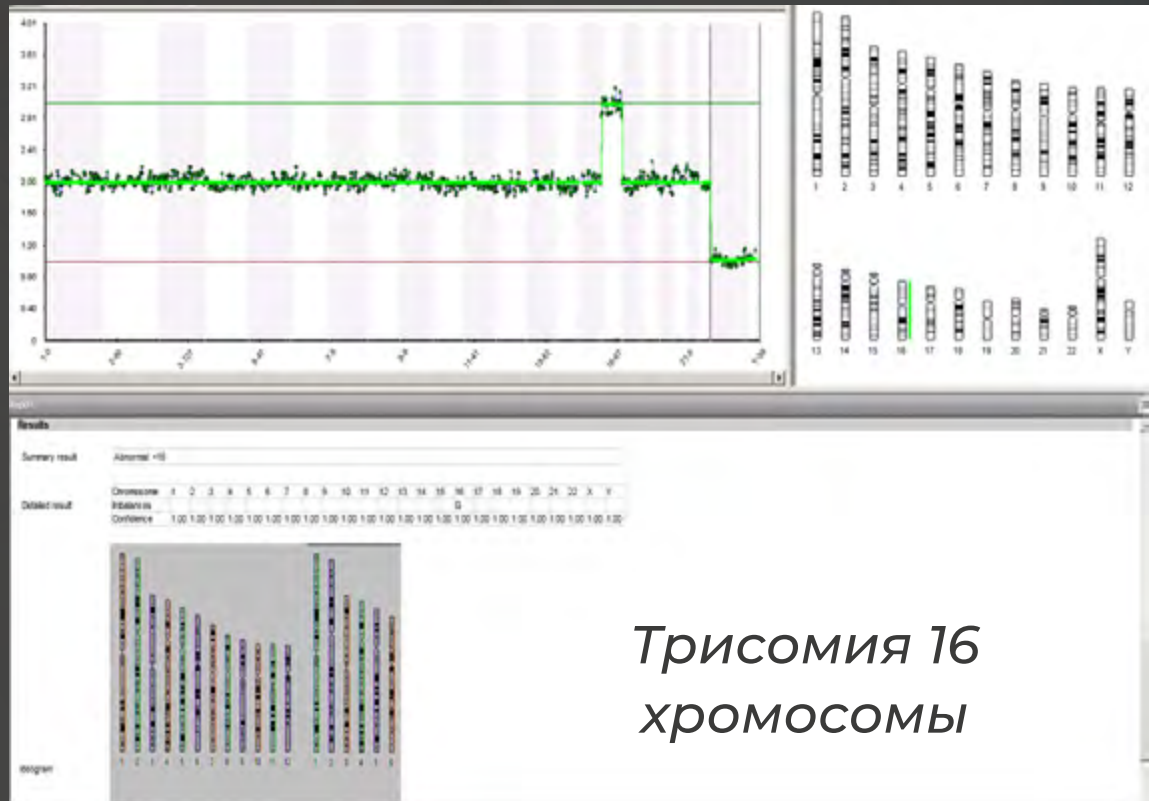
Секвенирование нового поколения (NGS)

## - Возможности метода -

Определение числа копий хромосом, в том числе мозаичных форм

## - Преимущества метода -

Быстрый и доступный тест



Трисомия 16  
хромосомы



# Структура выявляемости хромосомной патологии при молекулярном кариотипировании абортивного материала «Фертус»



5%	●	Моносомия X (Синдром Тернера)	1%	●	Трисомия 14
4%	●	Трисомия 16	1%	●	Трисомия 9
3%	●	Трисомия 22	1%	●	Трисомия 13
3%	●	Трисомия 15	1%	●	Трисомия 18 (Синдром Эдварса)
3%	●	Трисомия 16, мозаицизм	1%	●	Трисомия 13 (Синдром Патау)
3%	●	Трисомия 21 (Синдром Дауна)	13%	●	Другие анеуплоидии
2%	●	Трисомия 22, мозаицизм	56%	●	Норма (без анеуплоидий)
1%	●	Трисомия 4			
1%	●	Трисомия 20			

# Молекулярное кариотипирование абортивного материала «Оптима»

## **- Метод -**

SNP-хромосомный микроматричный анализ

## **- Метод позволяет детектировать: -**

- › Анеуплоидии и крупные делеции/дупликации
- › Микроделеции/микродупликации от 200 Kb
- › Несбалансированные транслокации
- › Участки отсутствия гетерозиготности и однородительских дисомий

## **- Преимущества метода -**

Лучшее решение для диагностики хромосомных нарушений при потере беременности / самопроизвольном выкидыше и мертворождении, заменяющее кариотипирование, CGH, FISH



# Молекулярное кариотипирование абортивного материала «Оптима»

Позволяет детектировать как численные изменения хромосом,  
так и субмикроскопические вариации числа копий генов (CNV)



**Трисомия 16 хромосомы. Риск повторного  
возникновения - низкий.**



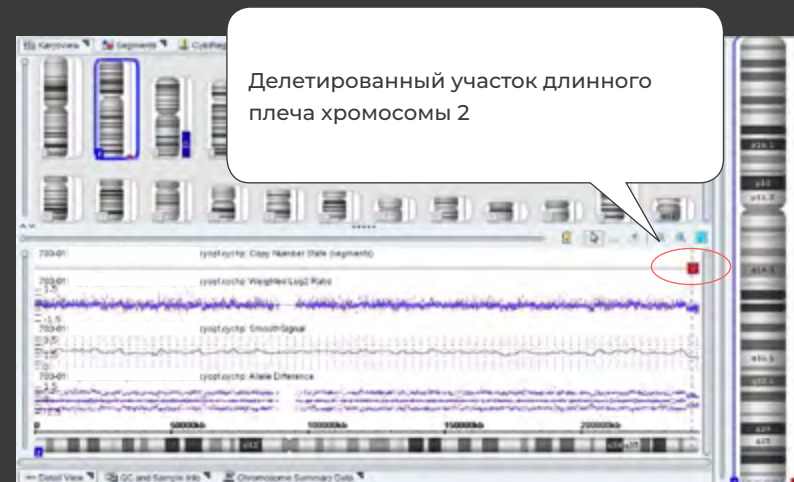
**Делеция участка длинного плеча 22  
хромосомы. Риск повторного возникновения  
данной аномалии низкий**

# Молекулярное кариотипирование abortивного материала «Оптима»

Позволяет заподозрить сбалансированные транслокации у родителей

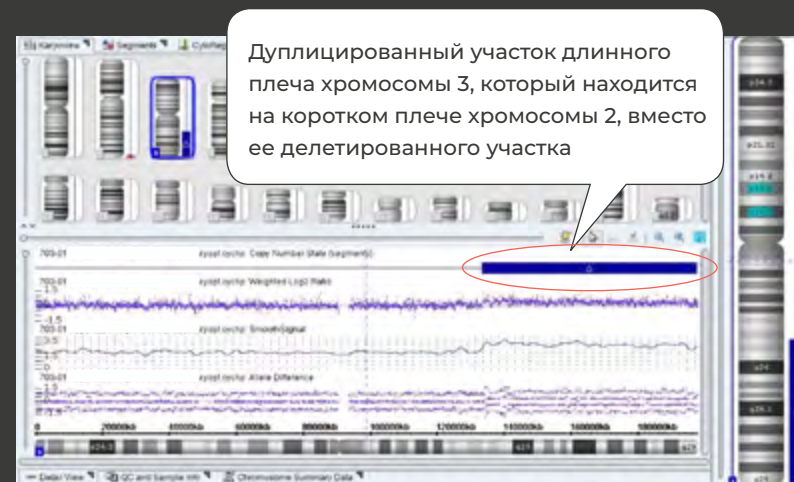


В некоторых случаях, выявление носительства сбалансированных хромосомных аномалий у родителей возможно только после проведения теста «Оптима» при использовании abortивного материала



**Несбалансированная транслокация между короткими плечами 2 и 3 хромосомы.**

Риск повторного возникновения данной аномалии 50%

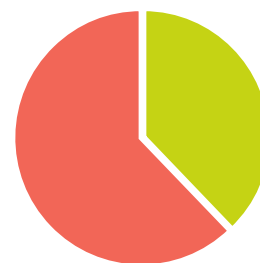


# Молекулярное кариотипирование «Оптима» позволяет определить полную или частичную молярную беременность

Пузырный занос (наиболее частый тип гестационной трофобластической болезни) с полной отцовской однородительской дисомией в 20% и частичный диандрический пузырный занос в 5% случаев может принимать злокачественное течение, поэтому важно вовремя установить его происхождение.



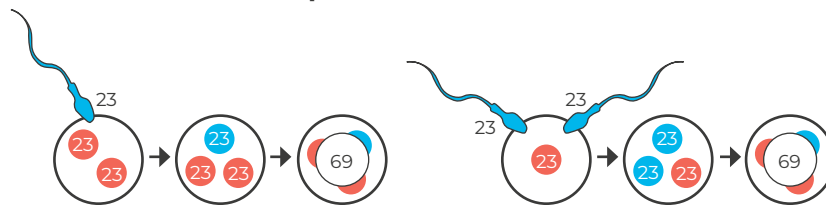
**Полногеномная ОРД отцовского происхождения (полный пузырный занос) – полное отсутствие гетерозиготных вариантов во всех хромосомах**



39% ● 159 отцовского происхождения

61% ● 253 материнского происхождения

**Молекулярное кариотипирование «Оптима» так же позволяет установить происхождение триплоидии и оценить риски возможных осложнений**



Дигиническая триплоидия

Диандрический частичный пузырный занос

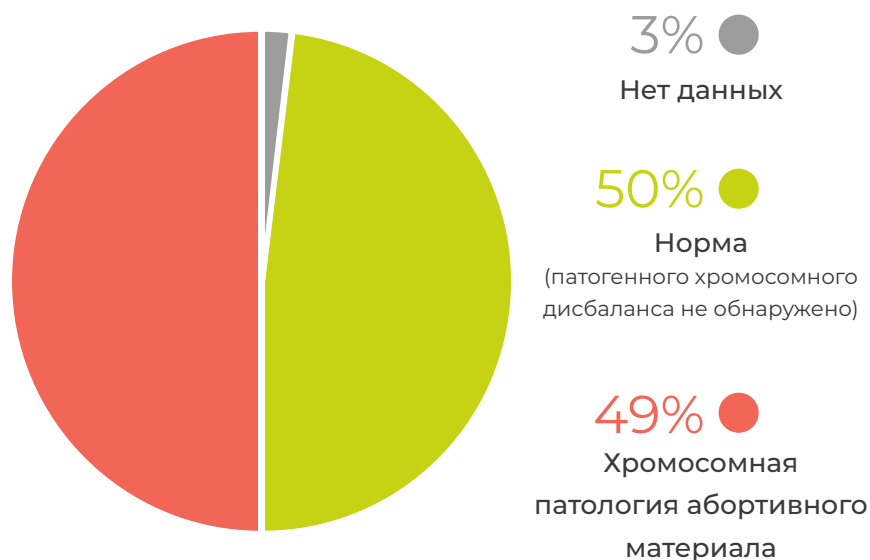
# Структура выявляемости хромосомной патологии при молекулярном кариотипировании абортивного материала «Оптима»



- |    |  |     |                                  |
|----|--|-----|----------------------------------|
| 5% | Триплоидия   | 1%  | Трисомия 20                      |
| 5% | Моносомия X<br>(Синдром Тернера)                         | 1%  | Трисомия 14                      |
| 4% | Трисомия 16  | 1%  | Трисомия 9                       |
| 3% | Трисомия 22  | 1%  | Трисомия 13                      |
| 3% | Трисомия 15  | 1%  | Трисомия 22,<br>мозаицизм        |
| 3% | Трисомия 16,<br>мозаицизм                                | 1%  | Трисомия 18<br>(Синдром Эдварса) |
| 3% | Трисомия 21<br>(Синдром Дауна)                           | 1%  | Трисомия 13<br>(Синдром Патау)   |
| 1% | Синдромы,<br>обусловленные<br>делециями/<br>дупликациями | 16% | Другие<br>анеуплоидии            |
| 1% | Трисомия 4   | 50% | Норма (без<br>анеуплоидий)       |

# Полное секвенирование генома абортивного материала «Фертус»

Несмотря на результативность молекулярного кариотипирования, 50% причин невынашивания беременности не детектируются, так как не связаны со структурными и количественными изменениями хромосом, и, в некоторых случаях, имеют моногенную природу



## Основные моногенные заболевания, как причина спонтанных абортов

- > Ахондроплазия (OMIM # 100800)
- > Синдром Ретта у плодов мужского пола (OMIM # 312750)
- > Синдром Нунан (OMIM # 163950)
- > Синдром множественных птериgiumов, летальный тип (OMIM # 253290)
- > Смита-Лемли-Опица синдром (SLOS) (OMIM # 270400)
- > Пероксисомные болезни (PEX genes)
- > Синдром удлинения QT (OMIM #192500)

**Для детекции всех возможных генетических причин спонтанных абортов лаборатория «Геномед» предлагает исследование «Полное секвенирование генома abortifacient материала «Фертус»**

# Полное секвенирование генома абортивного материала «Фертус»

Технология **NGS** (Next Generation Sequencing), лежащая в основе **WGS** (Whole Genome Sequencing), обладает диагностическим преимуществом, так как позволяет детектировать:



По литературным данным, секвенирование является эффективным методом для диагностики причин невынашивания беременности и применяется все чаще [9,10]



# Клинический пример

## Пациентка К.Н., 31 год

I беременность – самопроизвольный аборт на 8-9 неделе беременности (не обследована);

II беременность – МВПР по УЗИ, проведена биопсия ворсин хориона с дальнейшим цитогенетическим исследованием: кариотип плода – 46,XX.

В 15-16 недель беременность прервана по причине МВПР (ВПС, деформации костно-суставной системы, аплазия почек и мочевого пузыря).

По абортивному материалу проведено исследование Молекулярное кариотипирование абортивного материала «Оптим», по результату которого: Молекулярный кариотип – arr(1-22,X)x2 (норма).

**По абортивному материалу проведено Полное секвенирование генома, по результату которого была выявлена мутация, происхождение которой удалось установить посредством секвенирования по Сэнгеру у трио**

## - Мать - Результаты исследования

Методом прямого автоматического секвенирования был исследован ген DHCR7. Обнаружена нуклеотидная замена chr11:71152447C>T в гетерозиготном состоянии.

### **Дополнительная информация:**

референсная последовательность NM\_001360.2.

## - Отец - Результаты исследования

Методом прямого автоматического секвенирования был исследован ген DHCR7. Обнаружена нуклеотидная замена chr11:71152447C>T в гетерозиготном состоянии

### **Дополнительная информация:**

референсная последовательность NM\_001360.2.

**Данная мутация явилась причиной синдрома Смита-Лемли-Опица у плода**

chr11:71152447C>T

Гомозиготный

DHCR7

NM\_001360.2

c.452G>A

p.Trp151\*

231

Риск повтора синдрома  
Смита-Лемли-Опица  
у этой пары 25% для  
каждой последующей  
беременности



# Синдром Смита — Лемли — Опица (# 270400) AR

Наиболее часто  
встречающиеся симптомы:

- › Микроцефалия
- › Умственная отсталость
- › Аутизм
- › Нарушения поведения и способности к обучению
- › Пороки сердца, легких, почек, пищеварительного тракта, половых органов
- › Гипохолестеролемия
- › Бледность
- › Пониженный мышечный тонус
- › Нарушение питания
- › Птоз верхнего века
- › Катаракта
- › Болезнь Гиршпрунга
- › Нарушение слуха
- › Иммунологические нарушения
- › Сколиоз
- › Остеопороз
- › Полидактилия

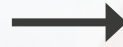
# Показания к выполнению исследований при потере беременности

**Замершая беременность  
на ранних сроках / спонтанный  
аборт**



Молекулярное кариотипирование  
абортивного материала «Фертус»

**Прерывание беременности  
по медицинским показаниям /  
внутриутробная гибель плода  
на поздних сроках беременности**



Молекулярное кариотипирование  
абортивного материала «Оптим»  
или Полное секвенирование генома  
абортивного материала «Фертус»

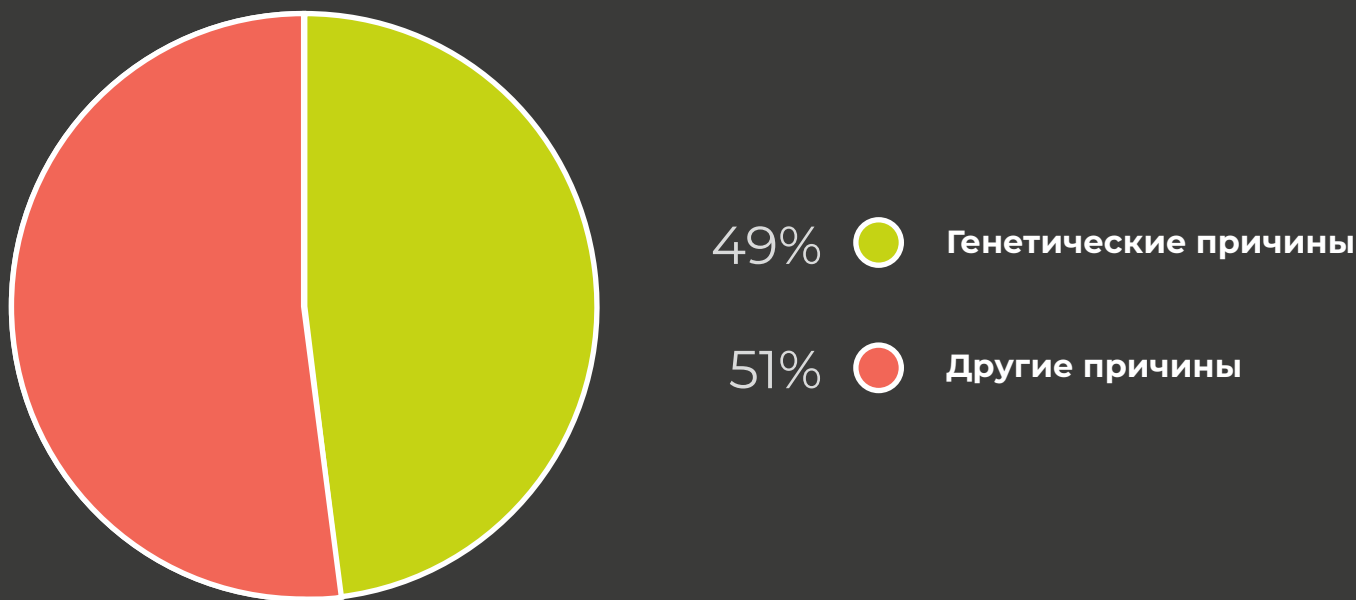
# Преимущества использования молекулярно-генетической диагностики при потерях беременности

Ситуация	Без генетической диагностики	С генетической диагностикой
Потеря беременности малого срока. Молекулярное кариотипирование abortивного материала не проводилось. Гистологическое исследование не выявило признаков патологии	Назначение дорогостоящих тестов на инфекции, полиморфизмы гемостаза, фолатов и HLA типирование, по результатам которых есть опасность назначения дорогостоящего и безрезультатного лечения	При выявлении анеуплоидий (детекцию которых можно доступно провести с помощью исследования Молекулярное кариотипирование abortивного материала «Фертус») в abortивном материале лечение супругов не требуется!
Потеря беременности малого срока. Молекулярное кариотипирование abortивного материала не проводилось, результат гистологического исследования не получен, либо сомнительный		Такая патология, как, например, пузырный занос не всегда однозначно трактуется при гистологическом исследовании. Молекулярное кариотипирование abortивного материала «Оптима» позволяет точно детектировать наличие пузырного заноса, определить его происхождение и взять под контроль риски гестационной трофобластической болезни, связанной с триплоидией отцовского происхождения
Привычное невынашивание беременности малого срока (2 или более замерших беременности). Кариотипы родителей не исследовались		Молекулярное кариотипирование abortивного материала «Оптима» и Полное секвенирование генома abortивного материала «Фертус» позволяют определять хромосомную патологию, указывающую на носительство сбалансированных хромосомных аномалий одним из родителей, что предупреждает о риске потерь беременности или рождения ребенка с ВГР
Привычное невынашивание беременности малого срока. Кариотипы родителей в норме		Молекулярное кариотипирование abortивного материала «Оптима» и Полное секвенирование генома abortивного материала «Фертус» позволяют определять хромосомную патологию, указывающую на носительство сбалансированных хромосомных аномалий одним из родителей (при условии ограничения к определению сбалансированных перестроек при кариотипировании), что предупреждает о риске потерь беременности или рождения ребенка с ВГР. Полное секвенирование генома abortивного материала «Фертус» позволяет детектировать нехромосомные причины спонтанных abortов – патологию генов, возникших de novo или сегрегированных (унаследованных) от родителей-носителей мутантных аллелей, что позволяет рассчитать риск рождения больного ребенка и провести пренатальную диагностику
Внутриутробная гибель плода на поздних сроках. Прерывание беременности в сроке 20 недель и более по причине МВГР плода		Причинами МВГР плода могут быть не только хромосомная патология, но и точечные мутации, как возникшие de novo, так и унаследованные от родителей. Полное секвенирование генома abortивного материала «Фертус» позволяет выявлять такие мутации, что позволяет определить точный прогноз и риск повторной беременности больным ребенком

# Сравнение возможностей предлагаемых методов

	Кариотипирование	Молекулярное кариотипирование абортного материала «Фертус»	Молекулярное кариотипирование абортного материала «Оптима»	Полное секвенирование генома абортного материала «Фертус»
Выявление точечных мутаций (SNP/SNV)	-	-	-	+
Сбалансированные хромосомные аномалии	+(более 5 Mb)	-	-	+
Варианты в митохондриальном геноме	-	-	-	+
Контаминация материнскими клетками	-	+	+	+
Анеуплоидии	+	+	+	+
Триплоидия	+	-	+(позволяет определить происхождение триплоидии и диагностировать пузырный занос)	+
Участки «потери» гетерозиготности и однородительские дисомии	-	-	+	+
Микроделеции/микродупликации	-	-	от 200kb	менее 200kb
Экспансия тринуклеотидных повторов	-	-	-	+
Возможность проведения анализа при гибели клеток	-	+	+	+

Если Вы не назначили генетический анализ абортивного материала, то **в 50% случаев** риск для следующей беременности будет рассчитан неправильно, другие исследования будут интерпретированы неверно, а лечение будет назначено необоснованно



**Генетическое исследование абортивного материала - это очень важно!**

# Забор материала:

1. Удалите из образца крупные сгустки крови.
2. Промойте ткань стерильным физиологическим раствором для удаления остатков крови.

Это поможет снизить уровень контаминации материнскими клетками и обеспечит лучшую идентификацию ткани эмбриона.

3. Отделите ворсины от децидуальной оболочки.

Децидуальная оболочка розового цвета, плотная и выглядит как лист. При обильном промывании ворсины всплывают, выглядят как перья и имеют более белый цвет, чем децидуальная оболочка.

4. Положите ворсины в контейнер с 0,9% физиологическим раствором для отбора пробы.

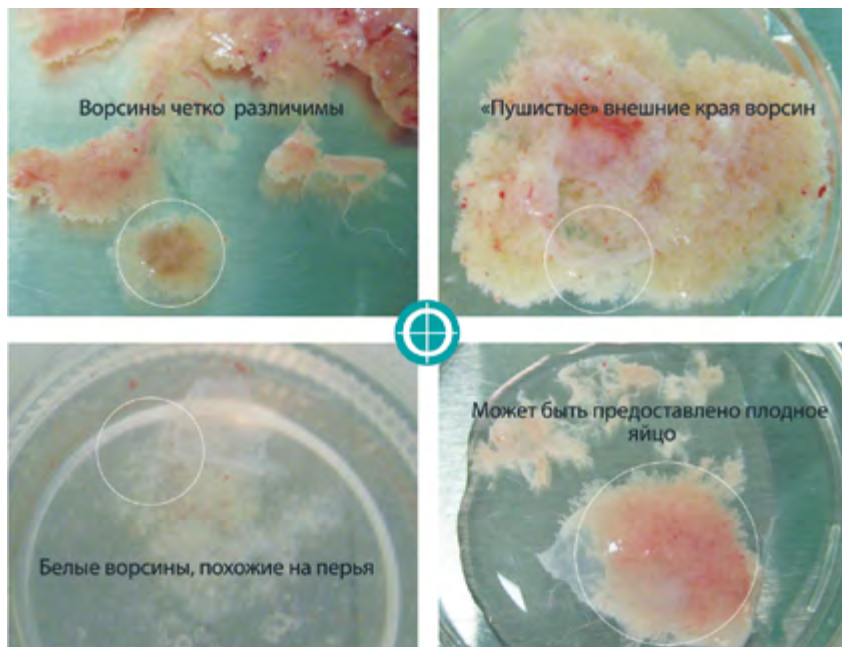
**Внимание!** Запрещено добавлять в контейнер любые другие жидкости (в т.ч. формалин).

5. После забора материал необходимо хранить в холодильнике при температуре от +4 до +8 °С.

МАТЕРИАЛ НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ!

- > **Если** для удаления плодного яйца используется вакуумный аспиратор, вышлите емкость со всем содержимым, так как там могут содержаться ворсины хориона.
- > **Если** отбор ворсин хориона у Вас вызвал затруднение, положите в контейнер весь плодный материал.
- > **Если** прерывание беременности произошло на сроке после 13-ой недели беременности – в контейнер помещается только кусочек паренхиматозных органов плода либо пуповины.

## Приемлемые образцы



- > Ворсины хориона, плодное яйцо, кожа/ткань эмбриона, ткань пупочного канатика, пуповинная кровь;
- > Многоплодная беременность (если возможно, материал каждого эмбриона необходимо предоставлять в отдельном контейнере)

## Неприемлемые образцы



- > Образцы, которые более суток хранятся в растворе формалина или были помещены в любой другой консервант;
- > Образцы, которые хранятся и направляются не в соответствии с протоколом (в замороженном виде, подвергшиеся воздействию высоких температур, не в физиологическом растворе);
- > Образцы, хранящиеся вне контейнера для сбора биоматериала при получении. Если образец слишком велик для контейнера, можно использовать запечатанный контейнер с физиологическим раствором;
- > Плацента, состоящая из материнской ткани;
- > Образцы, полученные позже, чем через 48 часов после взятия



# Доставка материала:

Доставка материала в лабораторию

- осуществляется в течение 48 часов после забора образца.

Заполните и приложите к контейнеру

- с материалом направление на проведение исследования.

Бланк направления вы можете скачать на сайте [www.genomed.ru](http://www.genomed.ru)

Прием биоматериала осуществляется

- в медицинских офисах Геномед и в лаборатории Геномед, расположенной по адресу:

**115093, г. Москва, Подольское шоссе, дом 8, корп. 5.**

Тест доступен во всех регионах России через сеть партнерских клиник. Если у Вас возникнут

- дополнительные вопросы или затруднения  
Узнать о ближайшей клинике или медицинском офисе Геномед, задать вопрос, Вы можете:
  - > посетив наш сайт **[www.genomed.ru](http://www.genomed.ru)**
  - > позвонив по телефону **8-800-333-45-38**

## ***! Важно***

*При невозможности обеспечить доставку биоматериала в течение 48 часов после забора образца, рекомендуется однократно заморозить абортивный материал.*

*Доставлять замороженный биоматериал рекомендуется при стабильной температуре. Подвергать биоматериал многократной заморозке и разморозке запрещено.*

# Стоимость и сроки предлагаемых исследований

Кариотипирование	Молекулярное кариотипирование абортного материала «Фертус»	Молекулярное кариотипирование абортного материала «Оптима»	Полное секвенирование генома абортного материала «Фертус»
5 400 – 10 000 руб	9 000 руб	15 000 руб	80 000 руб
21 рабочий день	10 рабочих дней	10 рабочих дней	90 рабочих дней

# Список литературы:

1. «Синдром потери плода» Ю. И. Тирская, Е. Б. Рудакова, И. А. Шакина, М. А. Пилипенко, Е. А. Полторака, А. Е. Любавина, 2009 г, Журнал «Лечащий врач».
2. «Оксидативный статус плазмы крови при привычном невынашивании беременности» Покаленьева М.Ш., Нестерова А.М., Соснова Е.А., Болевич С.Б., Проскурнина Е.В., 2017 г.
3. «Генетика невынашивания беременности» О.Н. Беспалова, 2007 г.
4. «Early Pregnancy Loss» November 2018 , Practice Bulletin Number 200, November 2018, (Replaces Practice Bulletin Number 150, May 2015), ACOG.
5. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 7 ноября 2012 г.№ 590н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при самопроизвольном прерывании беременности».
6. Committee Opinion No. 682 Summary: Microarrays and Next-Generation Sequencing Technology The Use of Advanced Genetic Diagnostic Tools in Obstetrics and Gynecology Obstetrics & Gynecology: December 2016.
7. «The chromosomal microarray analysis (CMA) used for examination of products of conception» , V. Gnetetskaya, I.Kanivets, S.Korostelev, D.Pyankov, Gynecological Endocrinology , October 2015.
8. «Finding Answers: Comprehensive Fetal and Neonatal Loss Panel», PCNewsroom, Published on November 1, 2016.
9. «Whole exome sequencing in recurrent early pregnancy loss» Ying Qiao , Jiadi Wen, Flamingo Tang, Sally Martell, Naomi Shomer, Peter C.K. Leung, Mary D. Stephenson, and Evica Rajcan-Separovic, published online Jan 28, 2016.
10. «Advanced whole genome sequencing and analysis of fetal genomes from amniotic fluid» Qing Mao, Robert Chin, Weiwei Xie, Yuqing Deng, Huixin Xu, Rebecca Yu Zhang, Quan Shi, Erin E. Peters, Natali Gulbahce, Zhenyu Li, Fang Chen, Radoje Drmanac, Brock A.Peters, published Aug. 8, 2017.
11. «Recurrent Pregnancy Loss: Evidence-Based Evaluation, Diagnosis and Treatment 1st ed. 11. Contemporary Prevention and Treatment of Recurrent Pregnancy Loss» Mayumi Sugiura-Ogasawara, Yasuhiko Ozaki, Kinue Katano and Tamao Kitaori. Department of Obstetrics and Gynecology, 2015 г.